



UNIVERSITÉ MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI  
BORDJ BOU ARRERIDJ

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi - B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologique.



UNIVERSITÉ MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI  
BORDJ BOU ARRERIDJ

# Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Science biologique

Spécialité : Microbiologie Appliquée

## Intitulé

**La bioremédiation des déchets électroniques par les moisissures isolées à partir du sol de la région de Bordj Bou Arreridj « Boumergued ».**

Présenté par: BARKATI Abir  
BOURAS Samah

Soutenu le :15 septembre 2021.

Devant le jury :

<b>Président :</b>	Mme: ABED Hanene.	MCB.	Université BBA.
<b>Encadrant:</b>	Mme: IRATNI Nadjat.	MAA.	Université BBA.
<b>Examineur :</b>	Mme : ZERROUG Amina.	MCB.	Université BBA.

Année universitaire : 2020/2021

## *Remerciement:*

*On remercie Dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé, la volonté, la patience et le courage durant ces longues années d'études.*

*Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de Mme IRATNI Nadjat, on le remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnelle, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.*

*Nous remercions Mme ABED Hanane et Mme ZERROUG Amína d'avoir accepté d'être membre de ce jury et pour l'intérêt porté à ce travail. Veuillez trouver l'assurance de notre profond respect.*

*Nos remerciements s'adressent à Mme GAHFIF Wahiba et Mme DHAMNA Wassima et Mr Khalil pour son aide pratique et son soutien moral et ses encouragements.*

*On n'oublie pas nos parents pour leur contribution, leur soutien et leur patience.*

*En fin, nous adressons nos plus sincères remerciements à tous nos proches et amis, qui nous ont toujours encouragés au cours de la réalisation de ce mémoire.*

*Merci à tous et à toutes.*

## *Dédicace :*

*Je dédie ce modeste travail à :*

*Mes très chers parents, source de vie, d'amour et d'affection.*

*Mes chers frères Mourad, Hani, Yacine et leur enfants Enfel  
et Noufel Ahmed.*

*Mes sœurs, Houda, Dalal et mon bras droite Leyla.*

*Ma chers binôme, Samah pour sa entent et sa sympathie.*

*Mes chères amies, pour leur aide et support dans les  
moments difficiles.*

*Abir.*

## *Dédicace*

*Je dédie mon travail*

*En premier lieu à mes chers parents **NADIR** et **DALILA** qui  
j'aime beaucoup et je leur souhaite lange et*

*heureuse vie et bon santé*

*à mon frère **MOHAMED** et mes sœurs **IKRAM** et  
**KAWTAR***

*À mon fiancé **DJAMEL***

*qui m'ont soutenu et encouragé pendant mon chemin  
et à ma binôme **ABIR** que je remercie pour sa gentillesse et  
sa compréhension*

***SAMAH***

## ***Table des matières:***

Résumé.	
Liste d'abréviation.	
Liste des figures.	
Liste des tableaux.	
<b>Introduction .....</b>	<b>01</b>
<b><i>Partie bibliographique :</i></b>	
<b>Chapitre I: Les moisissures.....</b>	<b>02</b>
I.1. Définition.....	02
I.2. Classification.....	02
I.3. Structure.....	02
I.4. Distribution.....	03
I.5. Importance .....	03
<b>Chapitre II: La bioremédiation.....</b>	<b>04</b>
II.1. Définition.....	04
II.2. Technique de la bioremédiation.....	04
II.2.1. Biodégradation.....	04
II.2.2. Bioimmobilisation.....	05
II.2.3. Biolixiviation.....	05
II.2.4. Biorestauration.....	05
II.2.5. Bioaugmentation.....	05
II.3. Points forts .....	05
II.3.1. Intérêt économique .....	05
II.3.2. Intérêt technique.....	05
II.4. Les points faibles.....	05
<b>Chapitre III: Les déchets d'équipements électriques et électroniques (DEEE) .....</b>	<b>06</b>
III.1. Définition.....	06

III.2. Utilisation des DEEE .....	06
III.3. Types des DEEE .....	07
III.3.1. Cartes de circuits imprimés.....	07
III.3.2. Piles.....	07
III.3.2.1 Les piles primaires ou non rechargeables .....	07
III.3.2.2. Les piles secondaires ou rechargeables (à partir d'une source d'électricité).....	08

***Partie expérimentale :***

<b>I. Méthodologie .....</b>	<b>09</b>
I.1. Matériels et milieu d'étude .....	09
I.2. Echantillonnage.....	09
I.3. Préparation de DEEE .....	09
I.5. Isolements des moisissures du sol.....	10
I.6. Purification et conservation des souches.....	11
I.7. Identification des souches.....	12
* Observation macroscopique.....	12
* Observation microscopique.....	12
I.8. Test de biorémediation .....	12
* Dans le milieu liquide.....	12
* Sur le milieu solide.....	13
<b>II. Résultats et discussion.....</b>	<b>14</b>
II.1. Isolement des souches .....	14
II.2. Identification des souches.....	14
II.3. Test de biorémediation .....	17
* Dans le milieu liquide.....	17
* Sur le milieu solide.....	20
<b>IV. Conclusion.....</b>	<b>22</b>

**Référence bibliographiques.**

**Annexes.**

## Résumé:

Les déchets électroniques et électriques (**DEEE**) ont augmenté de façon exponentielle ces dernières années. En raison des progrès technologiques. L'incinération incontrôlée de ces déchets provoque une pollution de l'air, du sol et de l'eau qui a des effets dangereux sur la santé des êtres humains et des autres organismes vivants. Notre travail visé à isoler des champignons capables de dégrader certains déchets électroniques (carte de circuit imprimé et pile rechargeable). Dans cette étude, les champignons isolés du sol pollué par **DEEE** ont été cultivés sur milieu gélosé (**PDA**). L'estimation de la biodégradation a été réalisée par l'inoculation de ces **DEEE** sur un milieu minimum solide et liquide avec des souches fongiques sélectionnées. Les souches fongiques obtenues appartiennent à *l'Aspergillus* sp. Ils sont capables de biorémediation les déchets électroniques, où ils dégradent respectivement 1,07% et 11,5 % du poids de ces déchets après **20 jours** d'incubation. Donc il est possible d'utiliser ces souches pour éliminer les déchets d'équipements électriques et électroniques.

**Mots clés:** Bioremédiation, souches fongique, déchets d'équipements électriques et électroniques, **DEEE**, sol, milieu minimum.

## **Abstract:**

Electronic and electrical waste (**WEEE**) has increased exponentially these last years. Due to technological advancements. The uncontrolled incineration of these .waste causes air, soil and water pollution which has dangerous health effects humans and other living organisms. Our work aimed at isolating .fungi capable of degrading certain electronic waste (printed circuit board and rechargeable battery). In this study, the fungi isolated from the soil polluted by **WEEE** were grown on agar medium (**PDA**). .the estimation of biodegradation was carried out by the inoculation of these WEEE on a minimum solid and liquid medium with strains selected fungi. The fungal strains obtained belong to *Aspergillus* sp. They .are capable of bioremediation of electronic waste, where they respectively degrade [1.07%](#) and [11.5%](#) by weight of this waste after **20 days** of incubation. So it is possible .to use these strains to dispose of waste electrical and electronic equipment. **Keywords:** Bioremediation, fungal straine, waste electrical and electronic equipment, **WEEE**, soil, minimum medium.

## الملخص:

زادت نفايات المعدات الكهربائية والإلكترونية بشكل كبير في السنوات الأخيرة بسبب التقدم التكنولوجي. الحرق الغير منضبط لهذه النفايات يسبب تلوث الهواء والتربة والماء و تأثيرات على صحة البشر والكائنات الحية الأخرى. عملنا يهدف الى عزل الفطريات القادرة على تحطيم بعض النفايات الالكترونية (لوحات الدوائر المطبوعة و بطاريات قابلة لإعادة الشحن) . في هذه الدراسة تم عزل الفطريات من التربة الملوثة بواسطة نفايات المعدات الكهربائية و الالكترونية الالكترونية نمت على وسط اجار. تم اجراء تقدير التحلل البيولوجي بواسطة تلقیح نفايات المعدات الكهربائية و الالكترونية في وسط ادنى الصلب و السائل مع سلالات الفطريات المختارة. تنتمي السلالات الفطرية التي تم الحصول عليها الى

*Aspergillus sp.* التي هي قادرة على المعالجة الحيوية، حيث تحلل على التوالي 1,07 % و 11,5% من وزن هذه

النفايات بعد 20 يوم من الحضان. لذلك من الممكن استخدام هذه السلالات للتخلص من نفايات المعدات الكهربائية والإلكترونية.

**الكلمات المفتاحية :** التحلل الحيوي ، السلالات الفطرية ، نفايات المعدات الكهربائية والإلكترونية ، تربة ، وسط ادنى.

## Liste d'abréviation:

**ADN:** Acide Désoxyribo Nucléique.

**As:** Arsenic.

**C:** Carbone.

**CaCO<sub>3</sub>:** Carbonate de calcium.

**Cd:** Cadmium.

**CO<sub>2</sub>:** Dioxyde de carbone.

**Cr:** Chrome.

**CuSO<sub>4</sub>:** Sulfate de cuivre.

**DEEE:** Déchets d'équipement électrique et électronique.

**EEE:** Equipements Electriques et Electroniques.

**EPS:** Eau physiologique stérile.

**FeSO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O:** Sulfate de fer.

**HAP:** Hydrocarbure Aromatique Polycyclique.

**HFC:** Hydrofluorocarbure.

**Hg:** Mercure.

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:** Peroxyde d'hydrogène.

**KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>:** Potassium dihydrogène phosphate.

**K<sub>2</sub> HPO<sub>4</sub>:** Dipotassium hydrogène phosphate.

**IoT:** Internet of Things.

**MgSO<sub>4</sub>:** Sulfate de magnésium.

**Na Cl:** Chlorure de sodium.

**(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>:** Sulfate d'ammonium.

**Ni:** Nickel.

**PCB:** Polychlorobiphényle.

**PDA:** Potato- Dextrose –Agar.

**pH:** potentiel d'hydrogène.

**Pb:** Plomb.

**RIS:** Revue Internationale et Stratégique .

**ZnSO<sub>4</sub>:** Sulfate de zinc.

## Liste des figures:

<b>Figure 1:</b> Structure d'une moisissure.....	<b>02</b>
<b>Figure 2:</b> Déchet d'équipement électrique et électronique.....	<b>06</b>
<b>Figure3:</b> Les échantillons du sol prélevé .....	<b>09</b>
<b>Figure 4:</b> préparation des <b>DEEE:</b> (A) carte de circuit imprimé, (B) Pile « SONY ».....	<b>09</b>
<b>Figure 5:</b> Schématisation du protocole de dilution décimale .....	<b>11</b>
<b>Figure 6:</b> Culture de souche 1 sur PDA après 5 jours à 28°C. (A) Aspect macroscopique, (B) Observation microscopique x40.....	<b>14</b>
<b>Figure 7:</b> Culture de souche 2 sur PDA après 5 jours à 28°C. (A) Aspect macroscopique, (B) Observation microscopique x40.....	<b>15</b>
<b>Figure 8:</b> Culture de souche 3 sur PDA après 5 jours à 28°C. (A) Aspect macroscopique, (B) Observation microscopique x40.....	<b>15</b>
<b>Figure 9:</b> Culture de souche 4 sur PDA après 5 jours à 28°C. (A) Aspect macroscopique, (B) Observation microscopique x40.....	<b>16</b>
<b>Figure 10:</b> Histogramme du pourcentage de dégradation des déchets par les moisissures.....	<b>17</b>
<b>Figure 11:</b> Histogramme du pourcentage de dégradation des déchets (Carte) par les moisissures après 20 jours.....	<b>18</b>
<b>Figure 12:</b> variation de poids des déchets après 10 et 20 jours. (A) les cartes de circuits imprimé, (B) les piles.....	<b>19</b>
<b>Figure 13:</b> les DEEE sur le milieu solide. (A) témoin, (B) avec DEEE( carte).....	<b>20</b>

## Liste des tableaux:

<b>Tableau 1:</b> le poids initial du DEEE au 1er jour ( $T_0$ )... ..	<b>10</b>
<b>Tableau 2:</b> Les souches fongiques poussent sur le milieu PDA après 2 à 3 jours à 28°C.....	<b>14</b>
<b>Tableau 3:</b> Dégradation du poids des déchets par les moisissures après 10 jours.....	<b>17</b>
<b>Tableau 4:</b> Dégradation du poids des déchets par les moisissures après 10 jours.....	<b>18</b>

## Introduction:

Les équipements électriques et électroniques (**EEE**) deviennent plus utilisables et en augmentation rapide et dans tous les domaines dernièrement, c'est ce qui provoque l'accumulation de leurs déchets dans l'environnement (Hall et Williams, 2007). Les déchets d'équipement électriques et électroniques **DEEE** sont dangereux puisque ils sont riches en métaux toxiques tels que Cd, Hg, Pb, As, Cr, Cu, Ni, et Zn (Huang et *al.*, 2009 ; Sodhi et Reimer, 2001 ; Somme, 1991). Ces déchets sont toxiques en raison de leur substance primaire complexée, et leur effet sur l'environnement.

Récemment, les microorganismes fournissent de nouvelles voies pour éliminer les déchets électroniques accumulés, certaines recherches ont été réalisées sur les microorganismes, y compris les champignons filamenteux qui jouent un rôle important en tant que dégradants dans l'environnement dans son ensemble, y compris le sol et les habitats aquatiques (Tomer et *al.*, 2020) , pour la biorémediation des **DEEE** et récupérer les métaux de ces déchets par plusieurs méthodes. Certains études se sont concentrées sur la biodégradation des **DEEE** par deux espèces de champignons, *Aspergillus niger* et *Penicillium* sp. et leur capacité à dégrader ces déchets. Ces souches fongiques sont capables d'exécuter plusieurs mécanismes pour se biodégrader et enlever ces déchets électriques et électroniques.

L'objectif de notre étude est d'isoler et identifier les champignons filamenteux des sols, et éliminer en tout sécurité certain type des déchets d'équipement électriques et électroniques (**DEEE**) par ces moisissures.

Notre travail est composé de deux parties essentielles:

-Une première partie sera consacrée à une recherche bibliographique sur les moisissures la bioremédiation et les DEEE.

- Une deuxième partie sera réservée à l'étude expérimentale ,Elle se compose de: Méthodologie, résultats et discussion suivi d'une conclusion .

*Partie*

*Bibliographique:*

# Chapitre I: Les moisissures:

## I.1. Définition:

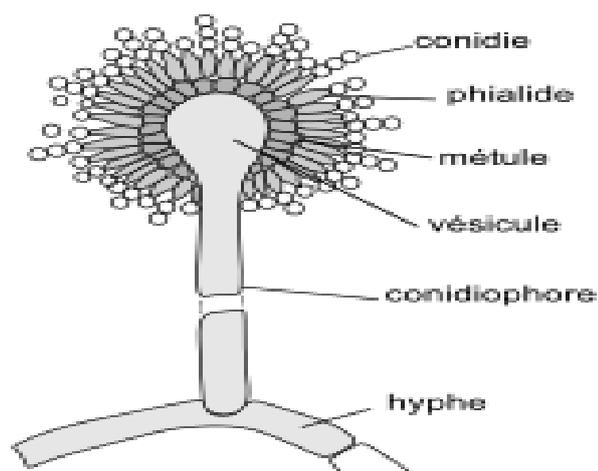
Les moisissures sont des champignons filamenteux, microscopiques, eucaryotes, porteuses de spore dont la nutrition se fait par absorption qui sont dépourvus de chlorophylle, les qualifiant d'organismes hétérotrophes et qui se reproduisent de façon sexuée et asexuée (Prescott et *al.*, 2003).

## I.2. Classification:

Dans la classification actuelle des champignons, les *Eumycota* (règne des eumycètes, fungi ou vrais champignons) sont distingués des organismes fongiformes désormais classés dans d'autres règnes, des *Zygomycota* (zygomycètes), des *Ascomycota* (ascomycètes), des *Basidiomycota* (basidiomycètes) et des *Deuteromycota* (deutéromycètes) (Barr, 1992).

## I.3. Structure:

La structure des champignons repose sur leur appareil végétatif appelé thalle, constitué d'hyphes ou cellules allongées en forme de filaments tubulaires de 2 à 10  $\mu\text{m}$  de diamètre (Bourgeois et *al.*, 1989). Ces hyphes comprennent les organites classiques d'une cellule: noyau, mitochondrie, cytoplasme, vésicules (Nicklin et *al.*, 2000).



**Figure 1:** Structure d'une moisissure ( Raper et Fennell, 1965).

#### **I.4. Distribution:**

Les moisissures sont principalement des organismes terrestres, bien que certains sont marins ou d'eau douce, beaucoup sont pathogènes, ils infectent des plantes et des animaux, ils ont aussi des relations bénéfiques avec d'autres organismes (Prescott et *al.*, 2003).

#### **I.5. L'importance:**

Les moisissures jouent un rôle énorme comme agent de décomposition. Ils dégradent des matières organiques complexes de l'environnement en substrats organiques simples et en molécules inorganiques. De cette façon le carbone, l'azote, le phosphore et d'autres constituants essentiels des organismes vivants, se retrouvent libérés et disponibles pour d'autres organismes. En outre, les moisissures sont des outils de recherche importants dans l'étude des processus biologiques fondamentaux, ils sont couramment utilisés dans les travaux des cytologistes, des généticiens, des biochimistes et des microbiologistes (Prescott et *al.*, 2003).

Les champignons jouent des rôles très importants dans les grands cycles biogéochimiques (Gadd, 2007). Ce règne du vivant renferme ainsi des capacités enzymatiques très diverses dont la possibilité de dégrader les composants de la lignine du bois à la structure polyaromatique complexe (Bennett et *al.*, 2002). La structure mycélienne de ces microorganismes se révèle également être un avantage pour la biorémediation de par son caractère invasif qui permet la prospection d'un grand volume du milieu contaminé avec une très grande surface d'échange (Bennett et *al.*, 2002).

Bien que moins étudiés que les bactéries dans le domaine de la biorémediation, les champignons apparaissent très intéressants pour la dégradation des HAP en particulier de hautes masses molaires (Cerniglia, 1992; Juhasz et Naidu, 2000; Zhang et *al.*, 2006). Cette propriété est à mettre en lien avec les capacités métaboliques du règne fongique qui leur permettent de dégrader des molécules naturelles complexes (Bennett et *al.*, 2002).

## Chapitre II: La biorémediation :

### II.1. Définitions :

La biorémediation est une branche des biotechnologies qui utilise des mécanismes biologiques naturels ou détournés pour traiter des problèmes environnementaux et pour dégrader ou de transformer une grande variété de polluants (Vavasseur, 2014) grâce principalement à des enzymes de métabolisation (détoxification et minéralisation d'un polluant) (Verdin et *al.*, 2004). Les agents biologiques utilisés peuvent être de simples molécules organiques, comme de l'ADN ou des anticorps, ou bien des organismes vivants ou morts (bactéries, micro algues, champignons, algues et plantes supérieur (Verdin et *al.*, 2004).

Deux groupes de polluants sont communément rencontrés dans les matrices contaminées :

#### - Les molécules organiques par exemple:

Les biopolymères et autres produits naturels, les hydrocarbures aliphatiques, les hydrocarbures aromatiques , les organo-halogénés, les organométalliques (Cliquot, 1998).

#### -Les molécules inorganiques par exemple:

Les métaux lourds, Cyanures, nitrates, métalloïdes (As), ... (Cliquot, 1998).

Quelques micro-organismes capables de dépolluer (Muneer, 2005):

- Nitrates: *Comamonas* spp., *Hyphomicrobium* spp.
- Phosphates: *Acinetobacter* spp., *Moraxella* spp.
- Pesticides: *Enterobacter* spp.
- Composés soufrés: *Thiobacillus* spp.
- Hydrocarbures: *Acinetobacter* spp., *Flavobacterium* spp., *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp.

### II.2. Les technique de la biorémediation:

**II.2.1. Biodégradation:** Utilisation de la capacité de certains microorganismes à transformer le polluant en substrat (source de carbone, d'énergie) ; la biodégradation totale d'un composé organique s'appelle la minéralisation (Acharissou et *al.*, 2009).

**II.2.2. Bioimmobilisation:** Utilisation de la capacité de certains microorganismes (essentiellement des bactéries) à immobiliser un / plusieurs composants présents à l'état soluble (Acharissou et *al.*, 2009).

**II.2.3. Biolixiviation:** solubilisation par les microorganismes et entraînement dans la phase aqueuse de polluants fixés ou piégés dans le sol injection d'eau oxygénée (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) et éventuellement de nutriments dans la zone insaturée via des galeries construites, puis récupération de l'eau dans des puits de pompage (Acharissou et *al.*, 2009).

**II.2.4. Biorestauration:** Ajout de nutriments (azote/phosphore) pour stimuler la croissance des microorganismes indigènes et favoriser la dégradation des polluants (Acharissou et *al.*, 2009).

**II.2.5. Bioaugmentation:** Introduction dans le sol contaminé de microorganismes allochtones capables de traiter les polluants présents. Techniques prélevées sur le site, dont la croissance a été stimulée en laboratoire ou dans des bioréacteurs installés sur site (Acharissou et *al.*, 2009).

### **II.3. Points forts de biorémediation:**

- **intérêt économique** : coûts de traitement réduits (Cliquot, 1998).

- **intérêts techniques (Cliquot, 1998):**

\* Possibilité de préparer des microorganismes spécialisés.

\* Capacité des microorganismes à vivre dans des conditions extrêmes (pH, oxygénation, concentrations élevées de polluant, etc.).

\*Nombreux microorganismes identifiés et caractérisés.

\*Test en laboratoire concluant.

### **II.4. Points faibles de biorémediation (Acharissou et al., 2009):**

\* Application sur le terrain plus complexe.

\* Concentrations élevées de polluant peuvent ralentir le processus.

\* Conditions climatiques (les fluctuations saisonnières affectent le métabolisme des microorganismes).

## Chapitre III: Les déchets d'équipement électriques et électroniques

### (DEEE):

#### III.1. Définition:

Les équipements électriques et électroniques sont aujourd'hui des outils de travail indispensables dans plusieurs secteurs d'activités dans le monde. Ces équipements fonctionnent grâce à un courant électrique ou à un champ électromagnétique, et peuvent servir pour la production, le transfert ou la mesure des courants et champs. Ils sont conçus pour être utilisés à une tension ne dépassant pas 1000 Volts en courant alternatif ou 1500 Volts en courant continu (Directives 2002/96/CE, 2003). En fin de vie, ils deviennent des Déchets d'Equipements Electriques et Electroniques (**DEEE**) ou déchets électroniques. Chaque année, 20 à 50 millions de tonnes de **DEEE** sont produites dans le monde (UNEP, 2009) . Selon ces auteurs, ce taux devrait dépasser les 2000 tonnes en 2015.



**Figure 2:** Déchet d'équipement électrique et électronique.

#### III.2.L'utilisation des DEEE:

Outre qu'ils sont couramment utilisés par les ménages et les entreprises, les équipements **EEE** sont de plus en plus utilisés dans les transports, le secteur de la santé, les systèmes de sécurité et les générateurs d'énergie, comme les systèmes photovoltaïques, sont souvent équipés de composants électriques, et contribuent donc de plus en plus à produire des **DEEE** partout dans le monde (Anonyme 1).

### **III.3. Les type des DEEE :**

#### **III.3.1. Les cartes de circuits imprimés:**

Le circuit imprimé est un multicouche, multi-matériaux associant des diélectriques et du cuivre qui assure la connectivité électrique. Pour des applications spatiales ou aéronautique militaire, les circuits imprimés doivent pouvoir subir un certain nombre de cycles thermiques sans apparition de défaillances. Or les matériaux utilisés dans les circuits imprimés ont des comportements thermomécaniques très différents (Sottos et *al.*, 1999).

#### **III.3.2. Les piles:**

Dans les procédés existants, le tri manuel limite considérablement le potentiel de recyclage des déchets de piles en raison des coûts élevés de main d'œuvre et du manque de technologies existantes. Le développement d'une nouvelle filière de traitement des déchets de piles sans tri manuel préalable est fortement dans les déchets de piles sont des éléments inorganiques à haute valeur ajoutée Selon RIS international, une production de 15 327 tonnes (t) de déchets de piles avait été estimée pour le Canada en 2010 (RIS international, 2007). Ces déchets sont composés en moyenne de 50% de fer et d'acier, 21% de plastique, 13% de métaux non ferreux et 16% de divers constituants. Dans ces deux dernières catégories (métaux non ferreux et divers constituants), des composés dangereux pour l'environnement sont présents, tels que l'arsenic (As), le cadmium (Cd), le chrome hexavalent (Cr(VI)), le mercure (Hg), le plomb (Pb) et le sélénium (Se). Une gestion inappropriée de ces déchets de piles peut entraîner une contamination des sols et des ressources en eau, suite à la dispersion de ces contaminants inorganiques dans la nature. Selon l'étude e de l'Uniross, les piles secondaires ont 32 fois moins d'impact sur l'environnement que les piles primaires (Uniross, 2007), donc l'utilisation des piles secondaires doit être privilégiée pour protéger l'environnement.

De nos jours, une grande variété de piles est commercialisée à travers le monde; parmi lesquelles, nous retrouvons (Friedli, 2005).

##### **III.3.2.1. Les piles primaires ou non rechargeables:**

Les piles alcalines (Zn-MnO<sub>2</sub>); les piles Zn-carbone; les piles oxyde de zinc; les piles lithium-dioxyde de manganèse; les piles bouton oxyde de zinc; les piles bouton oxyde d'argent (Friedli, 2005).

### **III.3.2.2. Les piles secondaires ou rechargeables (à partir d'une source d'électricité):**

piles Ni-MH; les piles Li-ion; les piles Ni-Cd; les piles Li-polymère; les petites piles scellées au plomb-acide; les piles plomb-acide (Friedli, 2005).

*Partie*

*Expérimentale:*

# I. METHODOLOGIE:

## I.1. Matériels et milieu d'étude:

Le sol, qu'a servi à réaliser cette étude, est constitué des moisissures. Le site de prélèvement du sol est la région de **Boumergued**, situé à l'Est de la Willaya de **Bordj Bou Arreridj**.

## I.2. Echantillonnage:

Les échantillons du sol sont prélevés à **10cm** sous la surface du centre de collection des déchets. Les échantillons prélevés sont placés dans des flacons plastiques stériles, conditionnées dans une glacière et ramenées au laboratoire.



Figure 3: Les échantillons du sol prélevé.

## I.3. Préparation du déchet électronique DEEE:

Les **DEEE** utilisés dans notre étude sont : des piles rechargeables de la marque « **SONY** » de **1,5V**, et des **cartes de circuits imprimé** obtenu à partir du télécommande de télévision. Les déchets ont été découpés en petites morceaux entre **700 à 1500mg** et peser avant d'être utilisées (**figure 4**).



A



B

Figure 4: préparation des **DEEE**: (A) carte de circuit imprimé, (B) Pile « **SONY** ».

**Tableau 1:** le poids initial du DEEE au 1<sup>er</sup> jour (T<sub>0</sub>).

Souche	DEEE	Poids (mg)
S2	Carte de circuit imprimé	700
	pile	1322,8
S3	Carte de circuit imprimé	1220
	Pile	1162
S4	Carte de circuit imprimé	754
	pile	1403

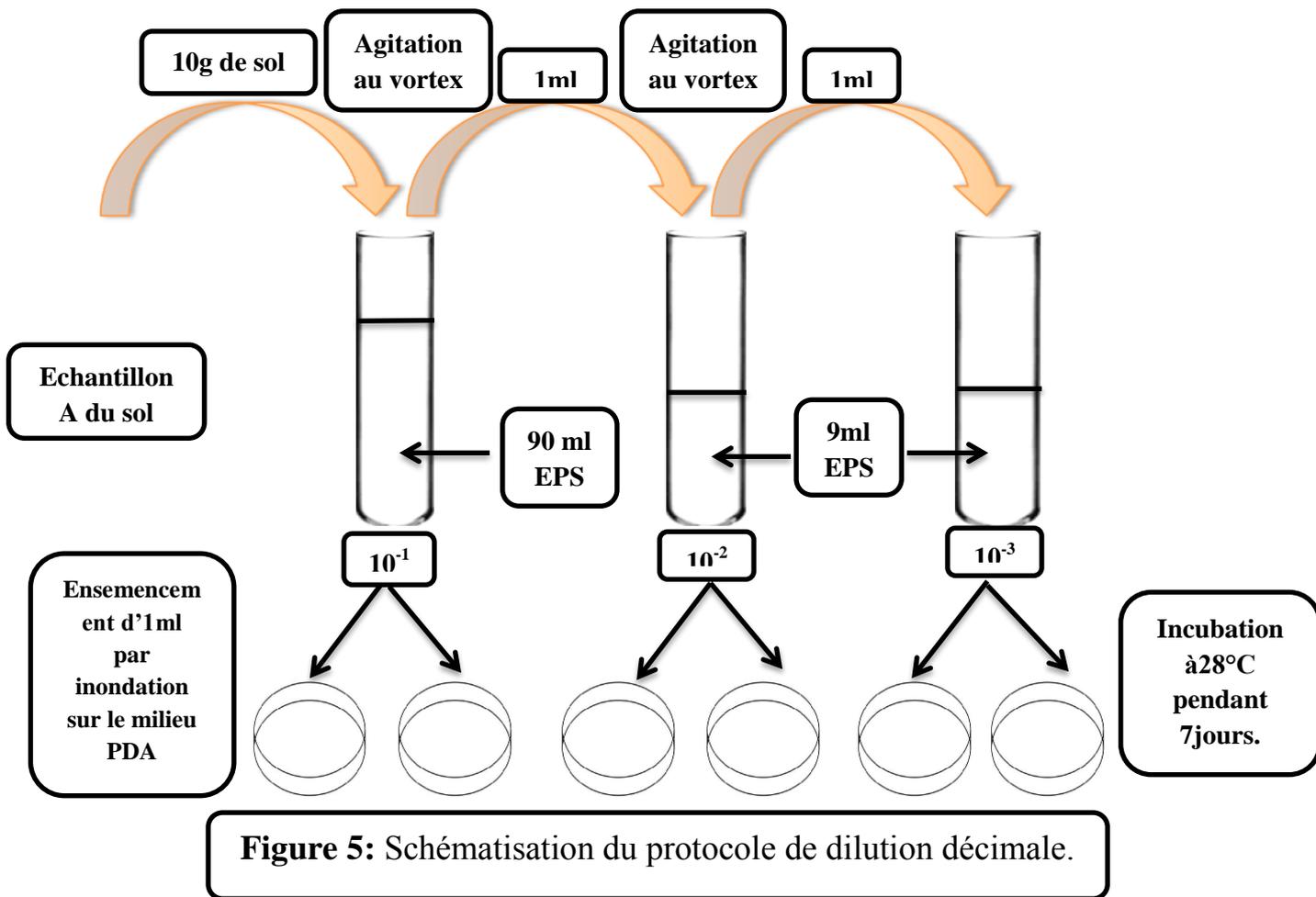
#### I.4. Isolement des moisissures du sol:

Il s'agit de peser **10g** de sol sec de chaque échantillon (A, B, C, D, E) qu'on met dans un flacon contenant **90ml** de l'eau physiologique (**9g** de **NaCl** dans **1L** d'eau distillée). Le mélange est agité afin de mettre en suspension les particules de sol ainsi que les spores et les mycéliums qui y sont attachés.

La suspension obtenue correspond à la solution (**10<sup>-1</sup>**), à partir de laquelle 1ml est prise aseptiquement et mise dans un autre tube contenant **9ml** de l'eau physiologique, ce qui permet d'obtenir la dilution (**10<sup>-2</sup>**). Une autre dilution décimale successive est ainsi réalisé jusqu'à la dilution (**10<sup>-3</sup>**)

Les différentes manipulations sont réalisées le plus près possible d'une flamme à l'abri des courants d'air pour éviter les contaminations.

En suite l'ensemencement se fait en surface, c'est-à-dire **1ml** de chaque suspension est ensemencée sur la surface du milieu **PDA** (Composition et préparation de PDA dans **Annexe 1**) par inondation. Les boîtes ont été ensuite incubées dans une étuve à **28°C** pendant **7 jours** (Barnett et Hunter, 1998 ; Gillman ,1998).



### I.5. Purification et conservation des souches:

Après la fructification des différents champignons (après 5 jours), chaque champignons détecté subit une purification par un repiquage sur un nouveau milieu, en boîte de Pétri pour faciliter l'identification.

Les souches pures ont été ensemencées dans **PDA** gélose inclinée, ces cultures ont été conservées une semaine à **28°C**, puis ils sont conservés à **4°C** pour favoriser leur viabilité et limiter la possibilité de variations (Botton et *al.*, 1990).

## I.6. Identification des souches:

L'identification des espèces fongiques obtenues repose sur l'analyse de critères macroscopiques et microscopiques:

### \*Observation macroscopique:

Repose sur l'observation de l'aspect des colonies (poudreuse, cotonneuse, granuleuse) La couleur des colonies (blanche, Jaune, Noir, crème) et la vitesse de croissance (lente, rapide).

### \* Observation microscopique:

Depuis la croissance des souches fongiques (2 à 3 jours) sur le milieu de culture **PDA**, Les parties du mycélium étaient étalé sur une lame en verre avec l'eau physiologique stérile (**EPS**), et observé au microscope (Cahagnier et Richard-Molard, 1998).

## I.7. Test de biorémediation:

### Dans le milieu liquide:

Les morceaux de **DEEE** ont été ajoutés à des flacons de **250ml** contenant **100ml** de milieu minimum (**Annexe 2**), avec des disques d'agar-agar du mycélium fongiques de **7mm** de diamètre. Les flacons bouchées et incubées à **28 °C** dans un bain marie incubateur pendant **20 jours**. L'expérience a été réalisée en double pour les cartes et une fois pour les piles.

Après l'incubation à **28°C** dans un bain marie incubateur, les flacons doivent être débouchés et les déchets vont prélevés, lavées avec l'eau distillée stérile et séchées pour comparer le poids finale après **10 et 20 jours** avec celle non traité poids initial (**du 1<sup>er</sup> jour**). Notre étude est basé sur la variation des poids et la détermination de pourcentage de dégradation.

La détermination du pourcentage de dégradation des **DEEE** par les moisissures du sol en utilisant la formule suivante (Kathireson, 2003):

$$\% \text{ dégradation} = \frac{\text{Poids initial} - \text{poids final}}{\text{Poids initial}} \times 100$$

**Sur le milieu solide:**

Les morceaux des **DEEE** ont été mis au fond des boites de Pétri avec les disques d'agar puis le milieu solide est ajouté.

Les boites ont été incubées à **28°C** pendant **20 jours** (Brunner et *al.*, 2018).

*Résultats et  
Discussion:*

## II.1. Isolement des souches:

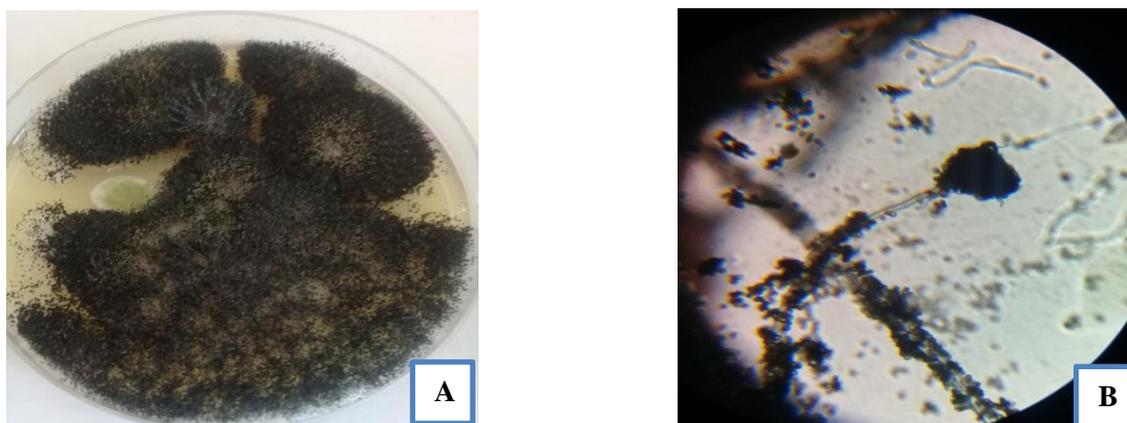
Le tableau ci-dessous représente les souches fongiques poussent sur le milieu PDA pour chaque échantillon du sol:

**Tableau 2:** les souches fongiques poussent sur le milieu PDA après 2 à 3 jours à 28 °C.

Echantillons	souches
Echantillon A	Souche 1, souche 2.
Echantillon B	Souche 1, souche 2, souche 3.
Echantillon C	Souche 1.
Echantillon D	Souche 1, souche 4.
Echantillon E	Souche 1, souche 2, souche 3. souche 4.

## II.2.identification des souches :

Souche 1:

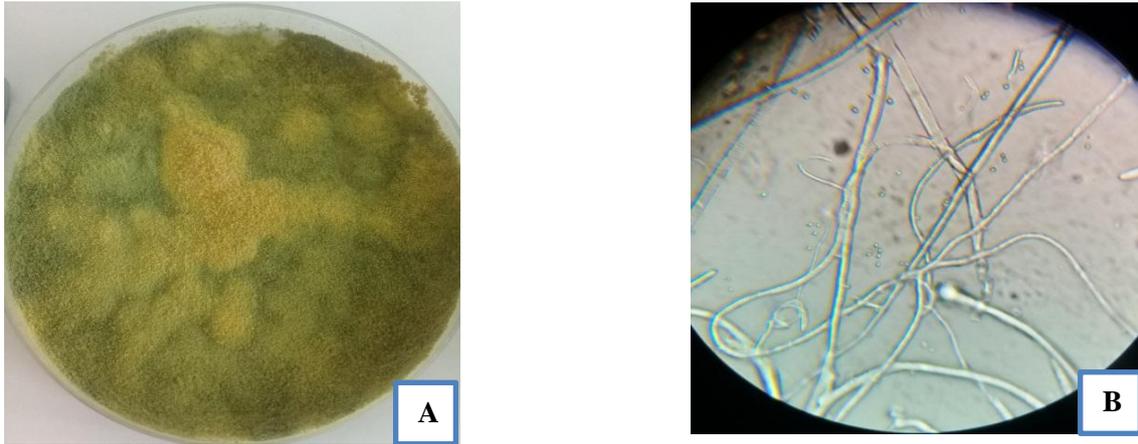


**Figure 6 :** Culture de souche 1 sur PDA après 5 jours à 28°C. (A) Aspect macroscopique, (B) Observation microscopique x40.

Ce champignon pousse rapidement (2 à 3 jours) sur le milieu de culture PDA. La température de croissance généralement 28 °C. Les colonies sont granuleuses, blanche au début, puis à maturité elles deviennent noires. Le revers des colonies est jaune pale.

Tête conidienne, bisériée. Les conidiophores sont longs et lisse, les vésicules sont globuleuses et entièrement fertiles. Il s'agit d'*Aspergillus niger* (Figure 5), ces caractères correspondent parfaitement à ceux décrits par Larone (1995).

**Souche 2:**

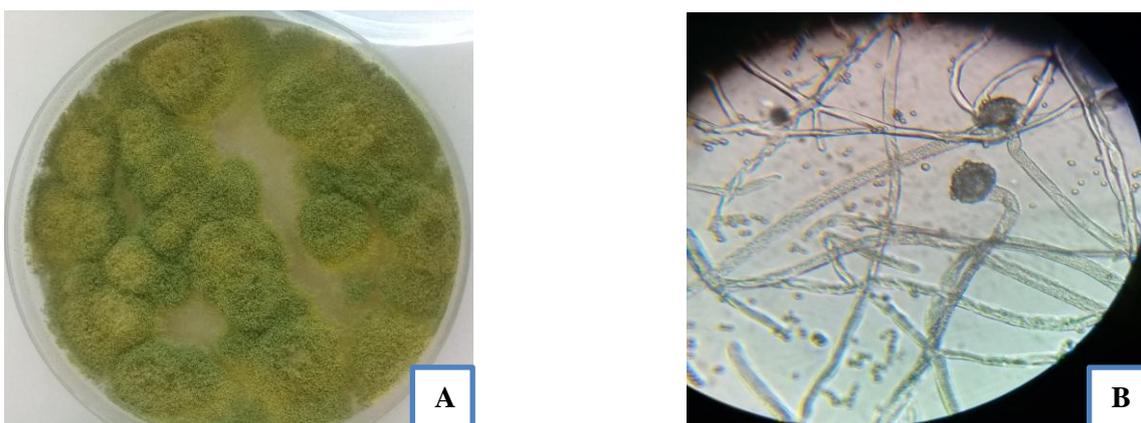


**Figure 7:** Culture de souche 2 sur PDA après 5 jours à 28°C. (A) Aspect macroscopique, (B) Observation microscopique x40.

Champignon pousse rapidement (2 à 3 jours) sur le milieu de culture PDA. La température de croissance généralement 28 °C. Des colonies granuleuses, vert olive au début puis elles deviennent jaunes. Le revers des colonies jaune ou crème.

Tête verruqueuse, conidiophore long. Il s'agit d'Aspergillus sp.I.

**Souche 3:**

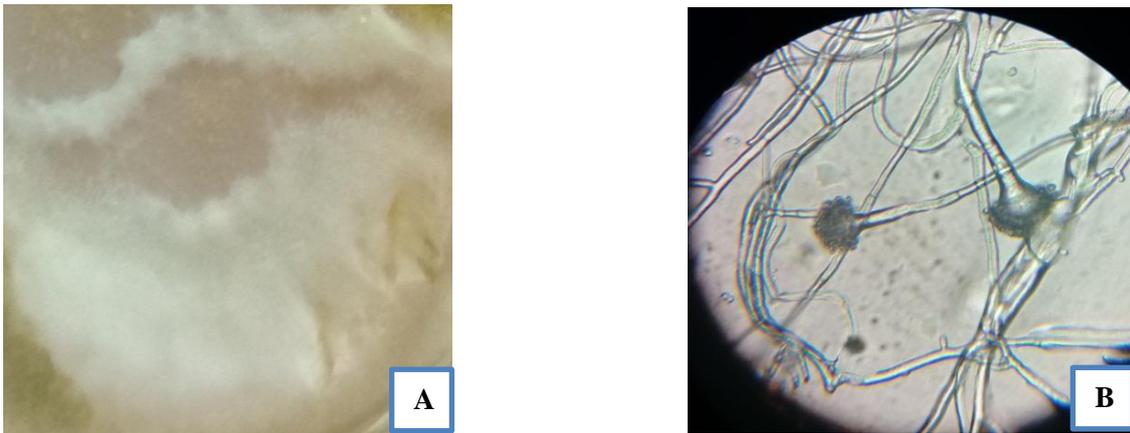


**Figure 8:** Culture de souche 3 sur PDA après 5 jours à 28°C. (A) Aspect macroscopique, (B) Observation microscopique x40.

Champignon pousse après **2 à 3 jours** sur le milieu de culture **PDA**. La température de croissance généralement **28 °C**. Des tons verts. Le revers des colonies crème.

Tête sphérique ou ovoïde, des conidiophores érigés, renflés à leur extrémité et long. Il s'agit d'*Aspergillus flavus* ces caractères correspondent parfaitement à ceux décrits par Tabuc (2007).

#### Souche 4:



**Figure 9:** Culture de **souche 4** sur **PDA** après **5 jours** à **28°C**. **(A)** Aspect macroscopique, **(B)** Observation microscopique **x40**.

Champignon pousse après **2 à 3 jours**) sur le milieu de culture **PDA**. La température de croissance généralement **28 °C**. Des colonies duveteuses, blanches. Le revers des colonies incolore ou blanche.

Tête aspergillaire uni ou biseries, vésicule sphérique, conidiophore long et lisse. Il s'agit d'*Aspergillus* sp.II.

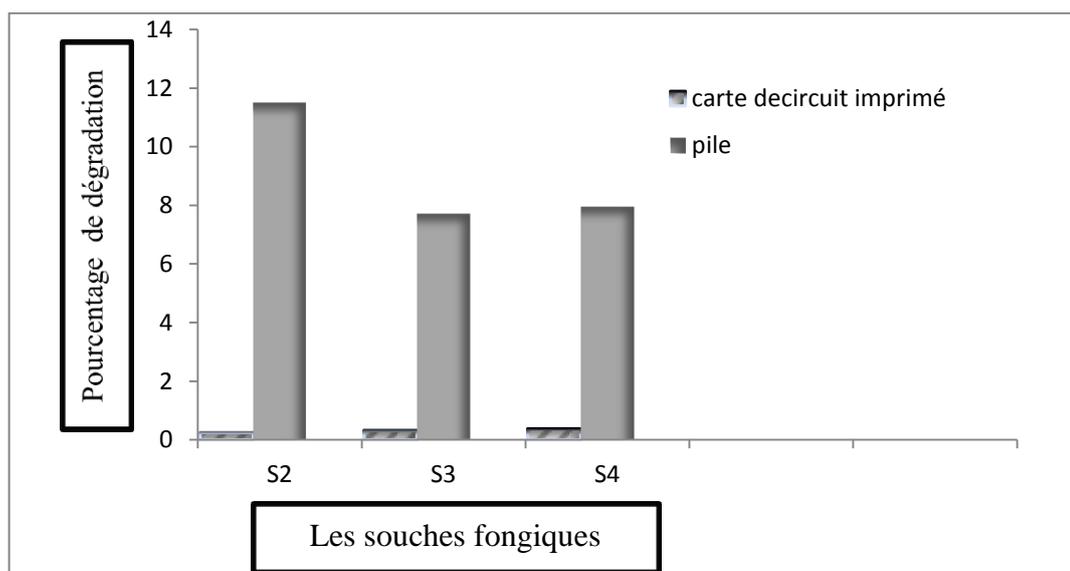
## II.3. Test de biorémediation:

### Dans le milieu liquide:

**Tableau 3** représente la perte de poids et le pourcentage de dégradation des déchets électrique par les moisissures obtenu dans notre étude après **10 jours** d'incubation à **28°C**.

**Tableau 3:** dégradation des déchets électroniques par les moisissures après **10 jours**.

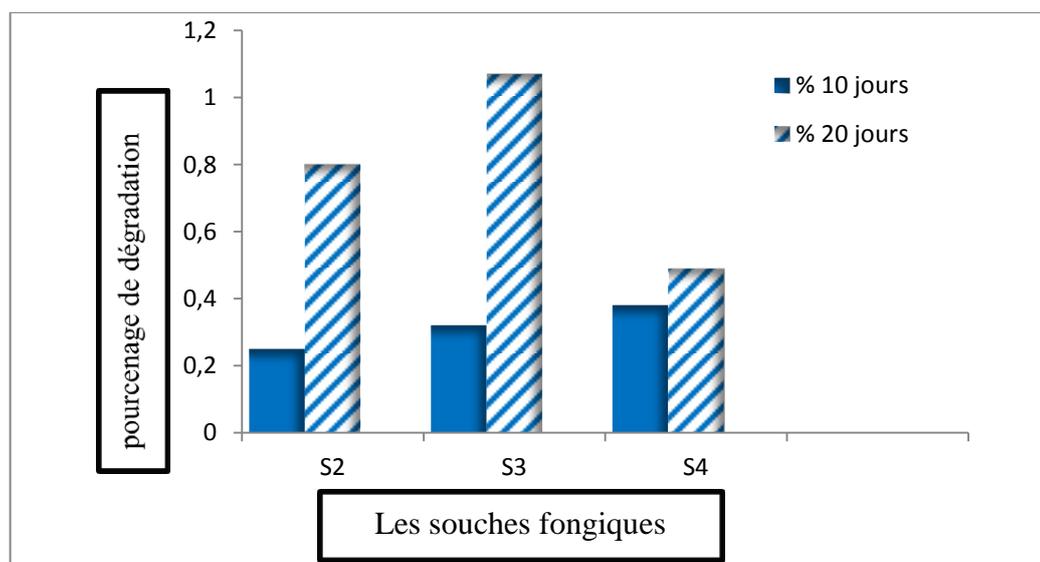
Souche	DEEE	Le poids initial (mg)	Le poids final (mg)	Perte en poids total (mg)	%de dégradation (%)
S2	Carte de circuit imprimé	700	698,2	1,8	0,25
	pile	1322,8	1170,6	152,2	11,5
S3	Carte de circuit imprimé	1220	1216	4	0,32
	pile	1162	1072,3	89,7	7,71
S4	Carte de circuit imprimé	754	751,1	2,9	0,38
	pile	1403	1291,4	111,6	7,95



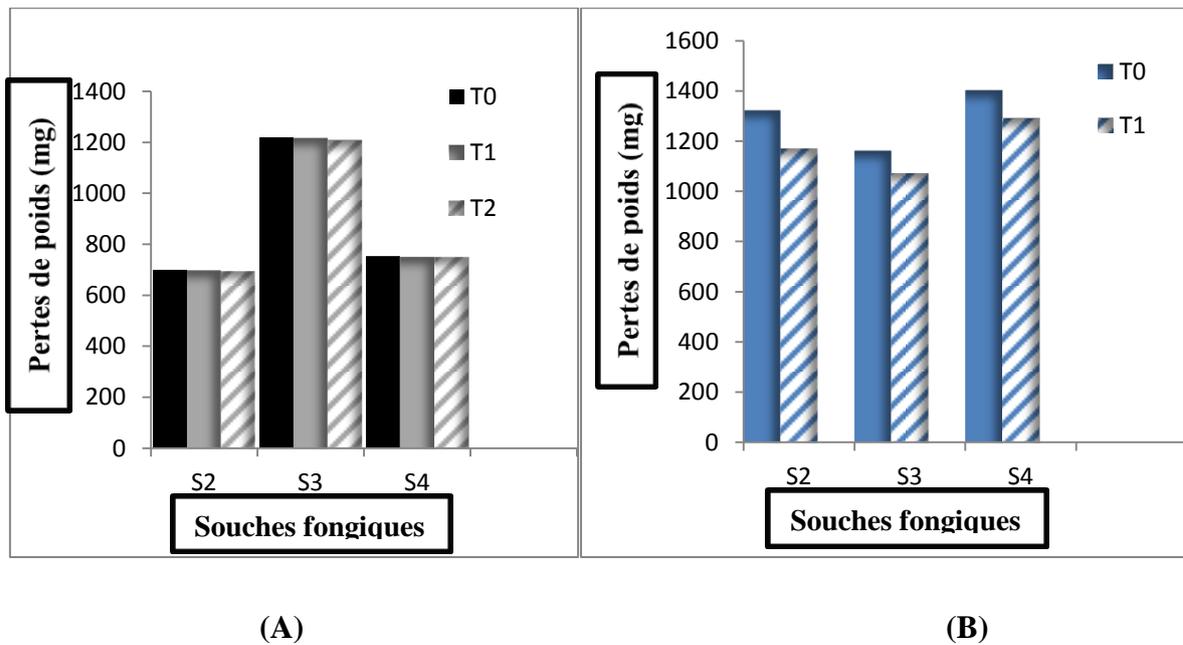
**Figure 10:** Histogramme du pourcentage de dégradation des déchets par les moisissures après **10 jours**.

**Tableau 4:** dégradation des déchets (carte) par les moisissures après 20 jours.

Souche	DEEE	Le poids initial (mg)	Le poids final (mg)	Perte en poids total (mg)	%de dégradation (%)
S2	Carte de circuit imprimé	700	694,4	5,6	0,8
S3	Carte de circuit imprimé	1220	1206,9	13,1	1,073
S4	Carte de circuit imprimé	754	750,3	3,7	0,49



**Figure 11:** Histogramme du pourcentage de dégradation des déchets (carte) par les moisissures après 20 jours.



**Figure 12:** variation de poids des déchets après 10 et 20 jours. **(A)** poids des cartes de circuits imprimés, **(B)** poids des piles des piles.

**T0: Poids initial.**

**T1: Poids après 10 jours.**

**T2: Poids après 20 jours.**

Les **tableaux 3 et 4, figure 10 et 11** résument les résultats du test de biorémediation, il existe une relation inverse entre le poids et la pourcentage de dégradation des déchets électrique, au fur et à mesure que le poids diminue, le pourcentage augmente.

Après les 10 premiers jours, nos souches fongiques causent une diminution de poids des deux déchets (carte et pile) légèrement faible pour les cartes alors qu'un peu élevé pour les piles ceci est dû soit les souches dégradent les piles plus rapides que les cartes, soit la perte de poids à cause des petites parties restant dans le milieu. Où la **souche 2 *Aspergillus* sp.I** dégrade **0,25 %** de carte de circuit imprimé et **11,5%** de pile. En même temps la **souche 3 *Aspergillus flavus*** dégrade **0,32 %** de carte de circuit imprimé et **7,71%** de pile. Pour la quatrième souche *Aspergillus* sp.II, elle /il dégrade **0,38%** de carte de circuit imprimé, alors que dégrade **7,95%** de pile au même période d'incubation (10 jours).

Après **20 jours**, le poids des cartes de circuits imprimé a continué à diminuer et le pourcentage est en augmentation (**tableau 4**), où les trois souches dégradent **0,8%**, **1,07%** et **0,49%** respectivement (**figure 11**).

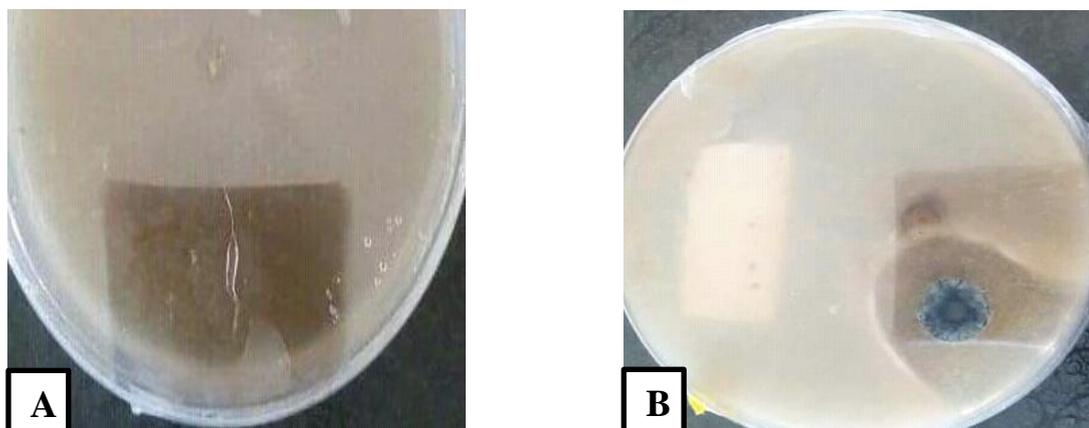
Par rapport aux résultats de Bourzama et *al.*, (2021) qu'a été trouvée que: après **10 premiers jours**, la souche 1, causé une diminution du poids des piles alors que le poids des cartes reste constant. Après **30 jours**, le poids des piles a continué à diminuer et le poids de carte été fortement réduite.

La deuxième souche, a donné une diminution des poids des deux types de **DEEE**. En outre, aux **30 jours** le poids des cartes et des piles diminué à **7%** et **60%** respectivement (Bourzama et *al.*, 2021).

Cette variation de poids est due à l'utilisation des souches les morceaux des **DEEE** comme source de carbone après la dégradation de leurs composants à l'aide des enzymes spécifiques à chaque souche fongique.

C'est ce que des études récentes ont montré que la dégradation des **DEEE** était très rapide, à cause de sécrétion des enzymes par ces champignons qui facilitent l'élimination des composants des **DEEE** par solubilisation (Bourzama et *al.*, 2021).

#### Sur le milieu solide:



**Figure 13:** les **DEEE** sur le milieu solide. (A) témoin, (B) avec **DEEE**( carte)

Les résultats de ce test montrent que les souches fongiques obtenus ont poussées sur le milieu minimum, ce qu'explique la formation d'une zone autour de disque d'agar à la présence des déchets dans le milieu, alors que aucun variation dans les boîtes de témoin qui ne contient pas des déchets. Cela confirme l'utilisation des deux types de déchets par les moisissures comme source de carbone.

Ceci est confirmé par l'étude de Bourzama et *al.*, (2021), elles ont montré que les souches étudiées poussées sur le milieu minimum contenant un morceau de **DEEE** d'un diamètre de **2cm** et **7,1cm** respectivement après **30 jours**.

Cette croissance sur le milieu minimum qui ne contient aucune source de carbone sauf les deux déchets électroniques **DEEE** pourrait s'expliquer par la capacité des souches à dégrader tous les déchets en simples composés de carbone et utiliser leur teneur en carbone pour poursuivre leur développement végétatif (Bourzama et *al.*, 2021).

Donc, une augmentation de la période d'incubation, y a une augmentation de la perte de poids de **DEEE**. Parmi les isolats testés dans notre étude, la **souche 3** qui se ressemble à *Aspergillus flavus* a été trouvée pour être efficace dans la dégradation de déchet à **20 jours**.

Les résultats étaient comparables aux résultats de Kathiresan (2003), Vijaya et Reddy (2008), qui a rapporté que les sols associés aux déchets électriques sont riches aux espèces fongiques fortement impliquées dans le processus de biorémediation.

## IV. Conclusion:

La biodiversité et la présence des microorganismes dégradants les déchets varient selon l'environnement, comme le sol, la mer, les boues actives...etc. Il est nécessaire d'étudier la distribution et la population des microorganismes (bactéries, champignons,... etc.) dégradant les déchets dans divers écosystème.

Généralement l'adhérence des microorganismes à la surface des déchets suivi de la colonisation de la surface exposée et le mécanisme majeur s'impliquée dans le processus de dégradation des déchets.

Les résultats de notre travail sont très encourageant, étant donné que les champignons isolés à partir du sol et identifiés ont été inoculés dans le milieu de culture PDA et montrés une capacité significative à biorémediation des déchets d'équipements électriques et électroniques **DEEE**, ce qui a été déterminé par la perte de poids et le pourcentage de dégradation après une période de **20 jours**. Donc les microorganismes du sol en particulier les champignons jouent un rôle très important dans la biorémediation des déchets électriques et peut être effectuée pour augmenter le niveau de biorémediation du déchet d'équipement électriques et électronique au fil du temps.

## **Perspectives:**

- \* Prolonger la période d'incubation à plus de 20 jours pour obtenir des résultats plus précise.
- \* Des études plus approfondies pour appliquer des souches fongiques dans la bioremédiation des déchets électroniques.
- \* La recherche sur d'autres espèces fongiques qui aident à dégrader ces déchets.
- \* La recherche sur d'autres microorganismes capables de dégrader et récupérer les métaux de déchets électroniques.

## V. Références bibliographiques :

**Acharissou A, Lejeun PH, (2009)** .Etat de l'art sur les potentialité des techniques de bio augmontation dans le traitement des déchets ,sédiments et sols pollues . étude de RECORD N

**Barnett H.L , Hunter B.B, (1998)**. Illustrated genera of imperfect fungi. APS, Prentice-Hall, USA. 218.

**Barr D. J. S, (1992)**. Evolution and kingdoms of organisms from the perspective of a mycologist. *Mycologia* 84: 1-11.7.0417/1A .95.

**Bennett J. W., Wunch. K. G. and Faison. B. D, (2002)**. Use of fungi biodegradation. In: Hurst, C.J. Manual of Environmental Microbiology, Second Edition, ASM Press, Washington, United States of America: P 960-971.

**Bourgeois C.M., Mescle J.F., Zucca J, (1989)**. Microbiologie alimentaire. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Lavoisier. Paris. 216-244p.

**Bourzama G , Iratni N, Ennaghra N, Ouled-Haddar H, (2021)**. In vitro Removal of Electronic and Electical Wastes by fungi isolated from soil at Annaba Area in Northeast of Algeria, *Environnement and Natural Resources journal*, july 2021.

**Brunner I, Fischer M, Ruthi J, Stierli B, Frey B, (2018)**. Ability of fungi isolated from plastic debris floating in the shoreline of a lake to degrade plastics. *PLOS ONE* 2018;13(8).

**Cahagnier et Richard-Molard, (1998)**. Analyse mycologique in Moisissures des aliments peu hydratés, Ed. Tec & Doc, P 140-158

**Cerniglia C. E, (1997)**. Fungal metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons: Past, present and future applications in bioremediation. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 19: P 324-333.

**Cliquot de Mentque C, (1998)** Dossier technique sols. Dépollution: les 12 techniques efficaces. *L'environnement* n°1565, Mars 1998 PP 30-41.

**Cui J et Zhang L, (2008)**. Metallurgical recovery of metals from electronic waste: A review. *Journal of Hazardous Materials* 2008;58: P 228-56.

**Dedi N K.J, (2007)**. Inventaire des champignons d'une litière d'élevage et de substrats d'incubation d'oeufs d'Achatina ful ica Bowdich : influence sur le taux d'éclosion et la durée d'incubation. Diplôme d'Etudes Approfondies. Université d'Abobo-Adjamé P 48.

- Gillman C.J** ,(1998). A manual of soil fungi biotech books. New Delhi. P 235.
- Friedli CKW**, (2005). Chimie générale pour ingénieur. Press polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, Suisse, P 739.
- Gadd G. M**, (2007). Geomycology: biogeochemical transformations of rocks, minerals, metals and radionuclides by fungi, bioweathering and bioremediation. *Mycological Research* 111: 3-49.
- Huang K, Guo J, XuZ**, (2009). Recycling of waste printed circuit boards: A review of current technologies and treatment status in China. *Journal of Hazardous Materials* 2009;164: P 399-408.
- Juhasz A. L., Megharaj M. and Naidu R**, (2000). Bioavailability: The major challenge (constraint) to bioremediation of organically contaminated soils. In: Wise, D. L.; Trantolo, D. L.; Cichon, E. J.; Inyang, H. I. and Stottmeister, U. (eds.). Remediation of hazardous waste contaminated soils (2<sup>nd</sup> edition), Environmental Science and Pollution Control Series 8, Marcel Dekker, New York, United States of America: 217-241.
- Kathirsean K**, (2003). Polythene and Plastics-degrading microbes from the mangrove soil, *Rev. Biol. Trop.*, 51(3),P 629-634.
- Larone D.H**, (1995). Medically Important Fungi –A Guide to Identification, 3<sup>ème</sup> édition. ASM Press, Washington. P 512.
- Mozos. EA, Bilbao. AR, Diaz-Martin. F**, (2020). WEEE Recycling and circular economy assisted by collaborative robots. *Applied Science* 2020;10(14):4800.
- Muneer Bushra**, (2005). Role of microorganisms in remediation of heavy metals in the wastewater of tanneries. PhD thesis, University of the Punjab, Lahore.
- Nakajima-Kambe. T, Shiginop Akutus. Y, and Nomura. N**, (1999). Microbial degradation of polyurethane, polyester polyurethanes and polyether polyurethanes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 51: P 134-140.
- Nicklin J., Graeme-Cook K., Paget T., Killington R**, (2000). L'essentiel en microbiologie. Edition Berti. 210-216p.
- Prescott. M, Harley. P, Kleine.A.et autres**, (2003). Microbiologie.2<sup>ém</sup> édition française, P11-37.

- Raper K.B. & Fennell, (1965).** The genus *Aspergillus*. *Food Microbiol* 5: 163-176.
- RIS International, (2007).** Canadian consumer battery baseline study. RIS International Limited, Toronto, ON, Canada, <http://www.docstoc.com/docs/79783916/Canadian-ConsumerBattery-Baseline-Study-Final-Report> (visité le 5 juin 2016).
- Sodhi MS, Reimer B, (2001).** Models for recycling electronics end-of-life products. *OR Spektrum* 2001;23:97-115.
- Somme E, (1991).** The recovery of metals from electronic scrap. *Journal of Metallurgy* 1991;43:53-61.
- Sottos N.R. ,Ockers J.M. ,Swindeman M, (1999).** Thermoelastic properties of plain weave composites for multilayer circuit board applications, *Journal of Electronic Packaging* 121 37–43
- Tabuc C, (2007).** Floral fongique de differents qubstrats et condition optimales de production des mycotoxines, 2007.
- Tomer A, Singh R, Singh SK, Dwivedi SA, Reddy CU, Keloth MRA, et al., (2020).** Role of Fungi in Bioremediation and Environmental Sustainability. Switzerland: Spr
- Uniross 2007.** Etude UNIROSS sur l'impact environnemental des piles. Uniross, Lognes, France,[http://techno.freou.free.fr/animatech/docs\\_divers/UNIROSS\\_impact\\_piles\\_environnement.pdf](http://techno.freou.free.fr/animatech/docs_divers/UNIROSS_impact_piles_environnement.pdf) (visité le 5 juin 2016) .inger Nature; 2020. p.1-20.
- Vavasseur A, (2014).** Bioremédiation des sols et des eaux :application aux pollution chimique et nucléaire .Pollution atmosphérique .Numéro spécial .85.
- Verdin A, (2004).** Les agents de la bioremédiation des sols pollués par les hydrocarbures polycyclique aromatique .Flancophone d'écologie industrielle .4° .N° 36 .37
- Weidenhamer JD et Clément ML, (2007).** Leaded electronic waste is a possible source material for lead-contaminated jewelry. *Chemosphere* 2007;7:1111-5.
- Zhang X.-X.; Cheng S.-P, Zhu C.-J. and Sun S.-L, (2006).** Microbial PAH-degradation in soil: degradation pathways and contributing factors. *Pedosphere* 16(5): 555-565.mediation. *Mycological Research* 111: 3-49
- Anonyme1:**[https://collections.unu.edu/eserv/UNU:6120/step\\_one\\_global\\_definition\\_amended.pdf](https://collections.unu.edu/eserv/UNU:6120/step_one_global_definition_amended.pdf) 2014.

## **Annexes:**

### **Annexe 1: Potato-Dextrose-Agar (PDA).**

Pomme de terre .....	200g.
Glucose.....	20g.
Agar-agar.....	15g.
Eau distillé stérile.....	compléter jusqu'à 1000ml.

-Découpage de pomme de terre et mis en ébullition dans 500 ml d'eau distillée pendant 30min.

-Retirées les pommes de terre et le bouillon transvasé dans un ballon contenant 20 g de glucose et 15 g d'agar-agar.

-La solution est complétée à 1 L avec de l'eau distillée.

-Autoclavage à 121°C pendant 15 min sous une pression d'un bar.

- La gentamicine 80ml/2ml (antibiotique) est ajouté au milieu avant de sa distribution dans les boîtes de pétri (Dedi, 2007).

### **Annexe 2: milieu minimum.**

#### **\*le milieu liquide:**

Composé en (g/L):

$K_2HPO_4$ .....	8g.
$KH_2PO_4$ .....	1g.
$(NH_4)_2SO_4$ .....	0,5 g.
$MgSO_4$ .....	0,2 g.
Na Cl .....	0,01g.
$FeSO_4, 7H_2O$ .....	0,002g.
$CaCO_3$ .....	0,5 g.

CuSO<sub>4</sub> .....0,005 g.

ZnSO<sub>4</sub>.....0,005 g.

Dans 1000 ml d'eau distillée avec **pH = 7**.

**\*Pour le milieu solide** en ajoute:

-15 g d'agar agar.

-0,6 ml Tween 80 (pour facilite la diffusion des moisissures dans le milieu solide).

-Autoclavage à 121°C pendant 15 min sous une pression d'un bar (Nakajima-Kambe et *al.*, 1999).