

Phytoremédiation des sols

1. Phytoremédiation des sols pollués par les métaux lourds

1-1- Définition

La pollution provenant des activités humaines affecte tous les types d'organismes allant de la bactérie à l'être humain. Même les plus bas niveaux de contaminants dans l'environnement présentent un risque d'accumulation via un processus appelé bioamplification (pollution amplifiée via la chaîne alimentaire, par exemple si des plantes contiennent un contaminant, l'herbivore consommant ces plantes accumulera les contaminants de toutes ces plantes).

Les contaminants peuvent être séparés en deux classes :

- Les contaminants organiques : en majeure partie des xénobiotiques, (molécules étrangères à un organisme vivant) chez les plantes.
- Les contaminants inorganiques, tels que les métaux (par exemple le cadmium, l'arsenic, le cuivre...) sont fréquemment trouvés à faible concentration dans le sol.

Les métaux ont des effets toxiques sur les plantes, même à faible concentration. De plus, ces effets augmentant avec la concentration. L'assimilation des métaux s'effectue dans la plupart des cas grâce à des transporteurs spécifiques (canaux) ou via des protéines de transports couplées à un transport de protons.

La phytoremédiation repose sur le principe de la combinaison de l'utilisation de plantes et de microorganismes pour réduire les niveaux des contaminants dans le sol. C'est une technologie beaucoup moins destructrice pour le sol. Cette utilisation des végétaux et de leurs microorganismes associés pour la dépollution de l'environnement implique la dégradation et la séquestration de polluants organiques et inorganiques.

Certaines plantes sont connues pour être **hyperaccumulatrices** de métaux telles que la moutarde brune (*Brassica juncea*) pour le Cadmium et le plomb, le colza (*Brassica napus*) pour le zinc et la Fabacée (*Astragalus bisulcatus*) pour le sélénium.



Brassica juncea



Brassica napus



Astragalus bisulcatus

Cependant, l'application de cette technique est restreinte à des zones où le niveau de pollution n'est pas toxique pour les plantes.

Ses champs d'application peuvent être d'ordre **préventif** (Végétalisation de décharges et traitement des effluents industriels et de stations d'épuration) ou **Curatif** (accidents industriels, activités minières, pétrochimie, sol agricole).

1.2. Aspects techniques associés à la phytoremédiation

Il existe divers types de phytoremédiation:

- La phytodégradation : la concentration des contaminants est atténuée *in situ* pour des contaminants organiques sans nécessité de récoltes des plantes.
- La phytoextraction : les contaminants de type métaux sont extraits par les plantes qui sont récoltées jusqu'à dépollution du site.
- La phytostabilisation : la concentration des contaminants de types organiques ou métalliques est stabilisée par un couvert végétal maintenu *in situ*.
- La phytovolatilisation : les contaminants de types organiques ou métalliques sont enlevés par un couvert végétal maintenu.

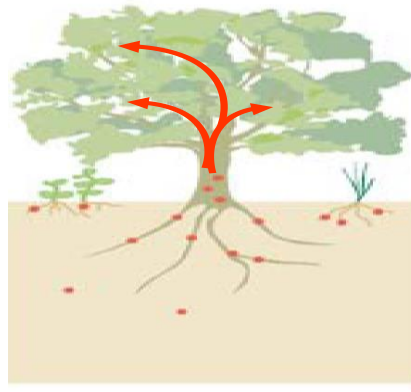
1.2.1. La Phytoextraction

La phytoextraction utilise la capacité des plantes à capter et à accumuler les contaminants au niveau de leurs organes aériens. Les plantes sont ensuite régulièrement récoltées et brûlées, afin de permettre une décontamination en continu du sol. Ce processus s'effectue grâce à l'accumulation graduelle de contaminants, via des plantes hyperaccumulatrices. Ces plantes peuvent accumuler les métaux sans effet toxique.

On dénombre actuellement plus de 400 espèces de plantes pouvant hyperaccumuler plusieurs métaux. La plupart des plantes peuvent hyperaccumuler un métal spécifique. Une plante hyperaccumulatrice peut accumuler plus de 1% d'un métal dans sa masse sèche, par exemple *Berkheya coddii* est capable d'accumuler 3,7% de Nickel dans sa masse sèche.



Les mécanismes d'hyperaccumulation reposent sur la surexpression de gènes régulant les transporteurs membranaires, on peut citer les transporteurs de cuivre COPT1 ou de zinc ZNT1. L'hyperaccumulation est principalement limitée par une faible croissance et production de biomasse.



L'association des plantes à des microorganismes doit également être prise en compte, les mycorhizes à arbuscules (des vésicules intercellulaires : souvent des gouttes d'huile, de stockage de réserve pour le champignon et des structures intracellulaires : rappelant un petit arbre) permettant une croissance accélérée.

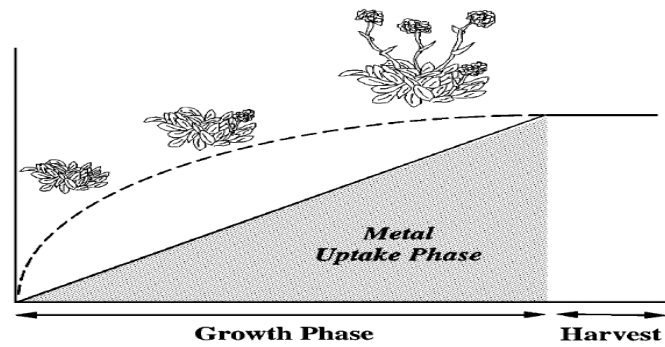


Mycorhizes à arbuscules

Cependant, le rôle de ces mycorhizes dans l'accumulation du métal est spécifique et extrêmement variable en fonction des espèces de mycorhizes et de plantes. L'incorporation de Ni, Pb et As par la plante est augmentée par les mycorhizes à arbuscules et peut être augmentée par l'ajout d'agent chélateur tel que l'EDTA.

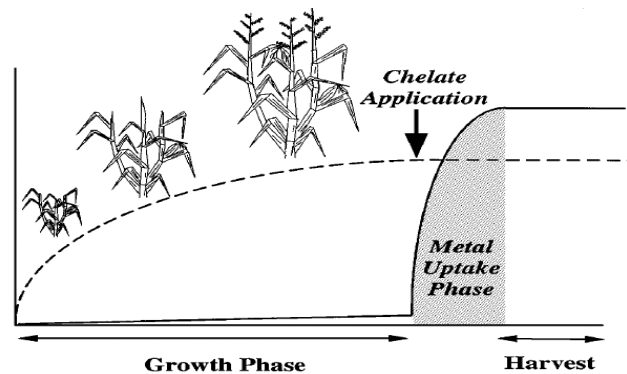
L'agent chélateur est une substance chimique qui a la propriété de fixer durablement des ions positifs pour former un complexe soluble. Certains agents chélateur sont utilisés dans les intoxications aux métaux (plomb, mercure, cuivre, fer ou chrome) car ils permettent d'empêcher leur action nocive pendant que l'organisme les élimine naturellement. Le plus connu est l'EDTA.

- ❖ **Phytoextraction continue** : le prélèvement des métaux se fait tout au long du cycle végétatif de la plante. Les polluants sont transférés dans les organes aériens qui seront destinés à l'incinération.



Metal uptake phase = Phase de prélèvement des métaux ; Growth phase= phase de croissance ; Harvest= récolte

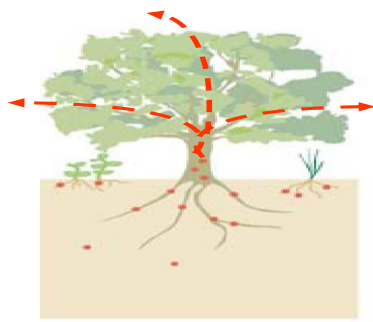
- ❖ **Phytoextraction induite :** Le prélèvement des métaux se fait à la fin de la croissance de la plante. L'extraction est induite par l'ajout de chélatants.



Chelate application= ajout de chélatants ;

1.2.2. La Phytovolatilisation

Ce processus implique la transformation des contaminants en une forme gazeuse et un relâchement de ceux-ci dans l'atmosphère. Ce processus est médié par l'évapotranspiration de la plante. Les composés organiques, spécialement les composés volatils sont passivement volatilisés par la plante. On peut citer l'exemple de la volatilisation du trichloréthylène par conversion en chlorure d'acétates et en dioxyde de carbone par des peupliers hybrides. Les métaux tels que le sélénium (Se) peuvent être volatilisés par transformation en dimethylselenide $\text{Se}(\text{CH}_3)_2$.



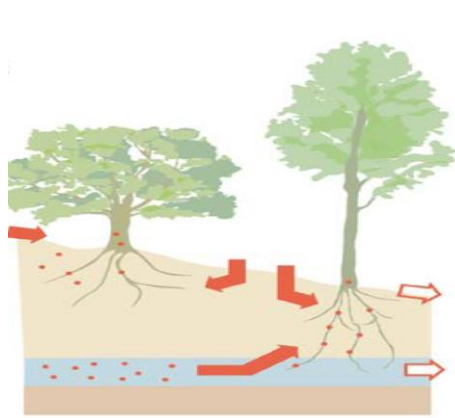
Les capacités de volatiliser des contaminants peuvent également être induites par ingénierie génétique, par exemple la capacité de volatilisation du méthyl-Hg du tulipier (*Liriodendron tulipifera*) dans l'atmosphère sous forme d'Hg par introduction du gène codant l'enzyme merA (mercuricssion reductase) d'*Escherichia coli*.

1.2.3. La phytostabilisation

Elle a pour but de retenir les contaminants et d'éviter leur dispersion, ceux-ci sont ainsi stabilisés dans les racines ou dans la rhizosphère. En diminuant la mobilité des contaminants, la phytostabilisation permet de limiter les infiltrations, l'érosion et le lessivage du sol.

Cette technique est relativement courante pour les anciennes mines grâce à des variétés de plantes résistantes aux métaux telles que *Agrostis tenuis* cv., *Festuca rubra* cv, Goginan cv. ou *Parys*.

Ces résistances souvent augmentées grâce à une symbiose, colonisant les racines comme les mycorhizes à arbuscules via séquestration des métaux dans les hyphes fongiques. Les mycorhizes à arbuscules peuvent également excréter des glycoprotéines via les hyphes, complexant les métaux contenus dans le sol.



Les microorganismes du sol peuvent diminuer les effets toxiques des contaminants. Par exemple, des exsudats peptidiques chez la bactérie *Pseudomonas putida* diminuent la toxicité de Cadmium pour les plantes.

Des processus de conversion en une forme moins toxique peuvent entrer en jeu : par exemple la conversion du Chrome trivalent Cr(III) en Chrome hexavalent Cr(VI) par des acides organiques contenus dans le sol. On peut également diminuer la disponibilité de ces contaminants par des agents chélateurs excrétés par les racines et complexant les métaux contenus dans la rhizosphère.

Un mécanisme équivalent pour les plantes aquatiques consiste en l'excrétion d'oxygène par l'aérenchyme racinaire qui a pour effet de précipiter les ions fer sous forme de plaque métallique, agissant comme réservoir de l'ion ferreux Fe^{2+} pour l'exemple du fer.

1.2.4. La Phytodégradation

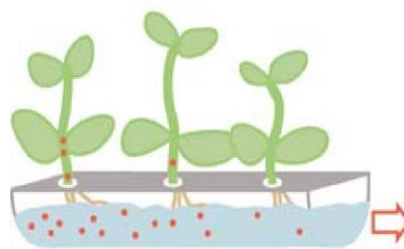
La concentration des contaminants est atténuée *in situ* pour des contaminants organiques sans nécessité de récoltes des plantes. La phytodégradation comprend deux mécanismes distincts :

- La dégradation des contaminants par des enzymes excrétées dans le sol par les racines, par exemple, la dégradation du triphénylméthane par des laccases (enzyme oxydante, présente dans les betteraves, les carottes, dans le latex de l'arbre à laque), veratryl alcohol oxidase et DCIP reductase produite par une espèce de plantes de la famille des Asteraceae *Blumea malcomii*.
- Ou grâce aux voies métaboliques de la plante par transformation en composés moins toxiques.

La Phytodégradation est particulièrement efficace pour des contaminants organiques hydrophobes; par exemple le peuplier (*Populus* spp.) est très utilisé pour la dégradation des composés organiques.

La rhizodégradation implique la transformation des contaminants en substances moins toxiques dans la rhizosphère puis leur dégradation par les communautés microbiennes. Une communauté spécifique peut ainsi être introduite afin de dégrader un composé.

La rhizofiltration utilise les capacités élevées du système racinaire de certains végétaux pour fixer les polluants d'un milieu liquide. Exemple de la technique de la filtration de l'arsenic par les fougères.



Rhizofiltration

✚ Construction de zones humides artificielles filtrantes

L'utilisation des zones humides artificielles s'est développée rapidement depuis le milieu des années 1980. En effet, ces technologies présentent de nombreux avantages qui en font une alternative intéressante aux moyens de traitement conventionnels. En particulier, ces systèmes de traitement biologique sont économiques, simples à mettre en œuvre et à entretenir. Ainsi, les zones humides artificielles peuvent fonctionner sans apport d'énergie extérieure et peuvent être exploitées par un personnel ne présentant pas de compétences particulières. De plus, elles montrent un niveau élevé de fiabilité et d'efficacité. Elles présentent donc un intérêt particulier

pour les petites communautés isolées n'ayant pas les moyens et le personnel qualifié pour exploiter des stations d'épuration traditionnelles, ainsi que pour les pays en voie de développement.

Exemple de zone humide artificielle « la libellule » dans l'Hérault: c'est une zone expérimentale qui s'étale sur 1,5 ha en aval de la station St-just -St -Nazaire. Elle est constituée de plantes aquatiques dont le système racinaire et la symbiose agissent sur les polluants tels que les pesticides, les résidus pharmaceutiques et les produits cosmétiques. Son efficacité a été prouvée au bout de trois ans. En effet, sur la moitié des substances identifiées sur le site, **70%** ont pu être éliminées. Cependant, des questions se posent toujours sur le devenir des micropolluants une fois absorbés par la plante et sur le danger encouru par la biodiversité du site suite à l'accumulation de polluants.

Phyto Volatilisation

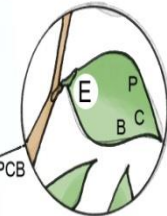


Hg0 est 100 x moins toxique que HgII

HgII

Certaines plantes absorbent les polluants et les libèrent après transformation en une substance moins toxique dans l'atmosphère, par la transpiration.

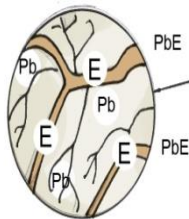
Phyto Dégradation



Elles absorbent et décomposent les polluants (grâce aux enzymes, y compris des processus d'oxydo/réduction). Ces derniers sont dégradés et fixés dans la plante, ou libérés sous une forme moins toxique dans le sol.

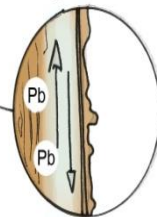
Phyto Stabilisation

Elles peuvent séquestrer (rhizofiltration) ou immobiliser (phytostabilisation) les polluants, grâce aux racines. Elles libèrent également des enzymes qui convertissent les contaminants en molécules moins toxiques.



Cette stabilisation limite la migration des polluants dans le sol, l'eau et l'air

Phyto Extraction



Elles absorbent les contaminants (métaux, radionucléides etc.) avec les racines et les accumulent dans les tissus des tiges, bois, et feuilles.

Nous pouvons récupérer ces polluants « piégés » dans les tissus aériens de la plante et les traiter comme déchets spéciaux.

2. La Biorémédiation et dégradation des polluants organiques

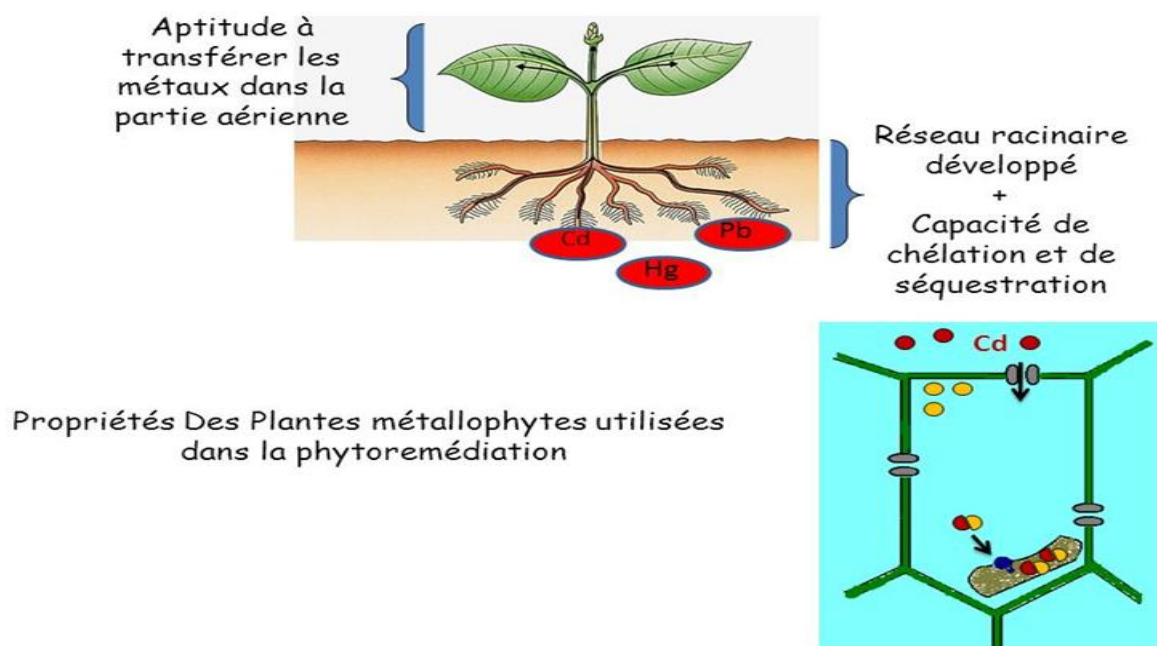
La biorémédiation des composés organiques consiste en leur dégradation in situ (bactérie, plante) ou ex situ. Elle utilise les capacités des plantes à extraire, transformer ou accumuler des éléments toxiques. Le processus se fait en 3 étapes : La modification chimique en une forme moins toxique, la conjugaison (glutathion, sucres..) et la séquestration. Les enzymes impliquées sont les peroxydases. Elle est basée sur deux stratégies :

- **Améliorer la dégradation ex situ** des composés organiques par libération de protéines. L'expression de peroxydases et nitroréductases dans les plantes augmente par exemple la dégradation dans le sol du Bisphénol A et du TriChloroPhénol.
- **Améliorer le métabolisme de dégradation des composés organiques in planta** (dans les racines) c'est le cas de tabacs surexprimant le cytochromeP450 : ils métabolisent mieux le TriChloroEthylène, le Chlorure de Vinyle et le Benzène.

Le choix des espèces utilisées en phytoremédiation obéit à des critères bien définis tels que l'adaptation au milieu, une croissance rapide et une biomasse importante et facilement récoltable (3tonnes de MS/Ha.an), une tolérance aux polluants et enfin une capacité de concentration et de stockage du métal dans l'organe récoltable élevée (>1g métal/Kg de MS).

2.1. Facteurs physiologiques responsables de l'hyperaccumulation

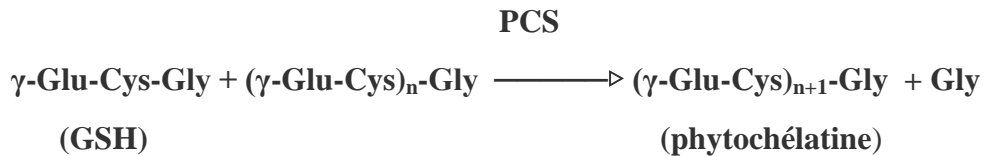
Plusieurs facteurs physiologiques sont impliqués dans l'hyperaccumulation des contaminants à savoir la séquestration chimique (glutathion, phytochélatines, histidine), la séquestration subcellulaire (compartimentation vacuolaire), la compartimentation tissulaire (translocation racines / feuilles), la tolérance au stress oxydatif et l'insensibilité biochimique aux polluants.



➤ **Exemple de chélation du cadmium par les unités cystéines d'une phytochélatine :**

Les phytochélatines sont des polypeptides dont la chaîne principale possède une répétition du dipeptide γ -Glu-Cys suivi par le terminal Gly. La structure de base des phytochélatines est $(\gamma\text{-Glu-Cys})_n\text{-Gly}$ où n varie entre 2 et 11. Elles sont synthétisées par la γ glutamylcystéine dipeptidyl transpeptidase ou la phytochélatine synthetase (PCS). Cette enzyme utilise le glutathion (GSH) qui fournit des groupements γ -Glu-Cys-Gly et devient réactive suite à l'accumulation d'une certaine quantité d'ions métalliques (Cd, Ag, Pb, As, Cu).

La synthèse peut être décrite comme :



La chélation du cadmium se fait à partir de liaisons formées entre les unités sulfures de la cystéine et l'ion métallique comme l'indique la figure 1.

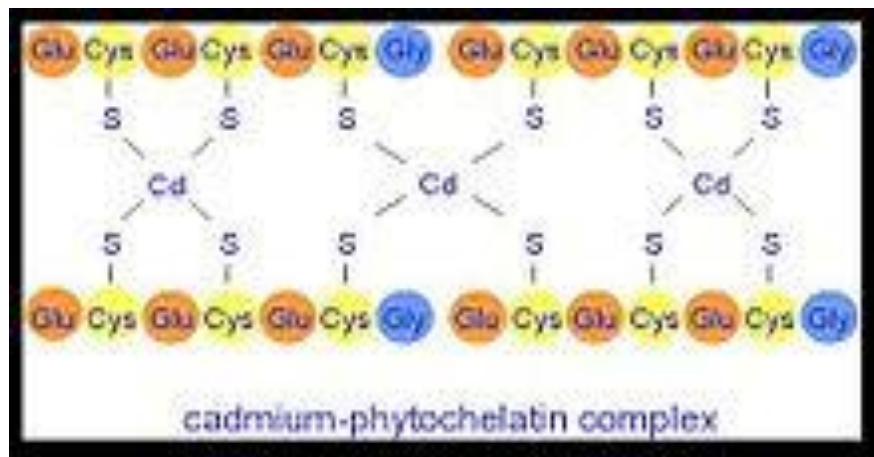


Figure 1 : Chélation du cadmium par les unités cystéines d'une phytochélatine.

➤ **Rôle de l'histidine dans l'hypertolérance au Nickel :**

Le premier graphe de la figure 2 montre que les espèces *Alyssum lesbiacum* et *Alyssum montanum* traitées au nickel montrent une élévation de la teneur en histidine indiquant l'hypertolérance de ces plantes au nickel. L'augmentation de la concentration du nickel dans les xylèmes des espèces *Alyssum lesbiacum*, *Alyssum murale* et *Alyssum bertolonii* est proportionnelle à celle de l'histidine dans les xylèmes de ces espèces (deuxième graphe de la figure 2).

Nickel :

Rôle de l'histidine dans l'hypertolérance

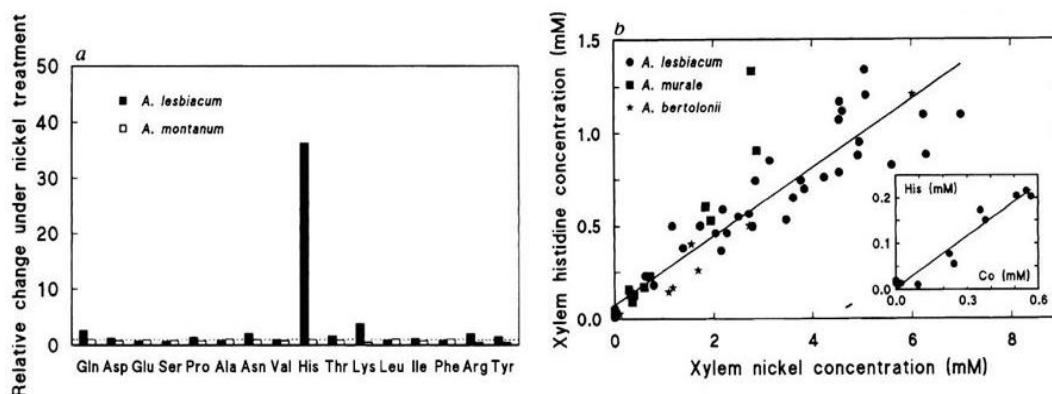


Figure 2 : Rôle de l'histidine dans l'hypertolérance au nickel

➤ Exemple de séquestration vacuolaire du cadmium par le biais d'une phytochélatine.

La phytochélatine (PC) possède des domaines de reconnaissance qui sont reconnus par les vacuoles. Ainsi, le complexe PC-Ion métallique est capté et transporté dans la vacuole par le biais d'un transport actif utilisant un transporteur spécifique aux phytochélatines et l'ATP. Dans la vacuole, les phytochélatines sont dégradés en acides aminés et les ions métalliques sont alors fixés par liaison à des acides organiques.

Ainsi, les phytochélatines empêchent l'excès d'ions métalliques à circuler librement dans le cytoplasme par formation de complexes avec ces derniers et en s'engageant à leur séquestration vacuolaire. Elles participent donc à la tolérance des plantes aux ions métalliques.

2.2. Processus de bioremédiation

2.2.1. Phytodégradation :

La dégradation des composés par le métabolisme de la plante concernent les composés moyennement hydrophobes comme le TCE et TNT. Elle est favorisée par l'expression de gènes de mammifères (P450 → TCE) ou de bactéries (TNT).

➤ Phytodégradation du TCE par le peuplier

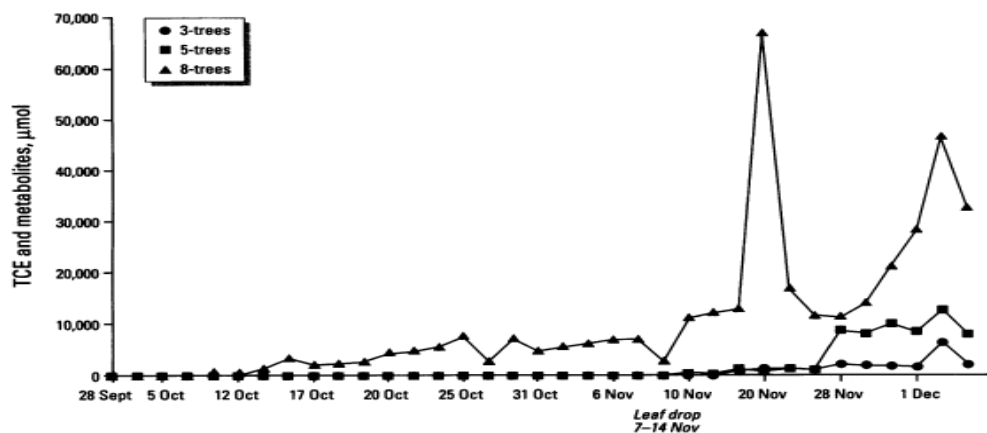


Figure 3. Micromoles of TCE and metabolites recovered in effluent water 28 September through 4 December 1995. Cells 3 and 5 contained trees. Cell 8 is the nonvegetation control. The spikes on 17 November and 1 December are due to flooding during periods of very heavy rainfall.

➤ Phytodégradation du TNT par une plante exprimant une nitroréductase bactérienne

Les plantes sont capables de dégrader le TNT mais avec une efficacité faible. Leur croissance est fortement réduite. L'implication de la nitroréductase de l'*Enterobacter cloacae* dans la dégradation de ce polluant (TNT) est très efficace.

2.2.2. Phytostimulation ou rhizostimulation :

Elle correspond à la stimulation de la flore du sol capable de dégrader des composés organiques très hydrophobes comme PCB et HAP. Elle est favorisée par l'endosymbiose impliquant une souche bactérienne transformée.