

LA PHYTOREMEDIATION



La phytoremédiation est une technique à développements récents mettant à profit les propriétés des plantes et de leurs flores microbiennes associées pour dépolluer des milieux contaminés (sols, liquides, air).

- Elle utilise les capacités des plantes à extraire, transformer ou accumuler des éléments toxiques.
- Elle est particulièrement adaptée au traitement de larges superficies contaminées par des niveaux faibles de polluant.



Deux grandes catégories de polluants susceptibles d'être traités par phytoremédiation :



1. Polluants élémentaires : métaux lourds et radionucléides

- métaux lourds ou métalloïdes toxiques tels l'arsenic, le cadmium, le chrome, le plomb ou le mercure
- radionucléides tels le césium, le strontium, le technétium ou l'uranium.

La phytoremédiation des polluants élémentaires consiste généralement à :

- convertir l'élément sous une forme chimique moins toxique,
- ou à extraire les toxiques du milieu puis à les déplacer vers les parties aériennes en vue d'une récolte.

2. Polluants organiques :

- Carbohydrates linéaires halogénés : trichloréthylène (TCE)
- Composés nitro-aromatiques : trinitrotoluène (TNT)
- Polychlorés diphenyliques (PCBs) : dioxine

La phytoremédiation des composés organiques consiste généralement en leur dégradation.

Différentes techniques de phytoremédiation



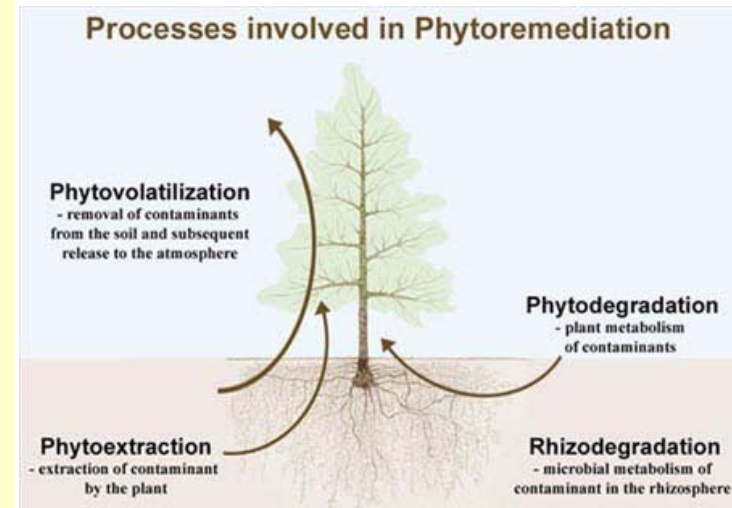
1. **Remédiation par la rhizosphère ou phyto-/rhizo-dégradation :**

utilisation des plantes en association avec des microorganismes pour dégrader des polluants organiques du sol.

2. **Phytostabilisation :** utilise des plantes afin de réduire la biodisponibilité des polluants.

3. **Phytovolatilisation :** utilise les plantes pour volatiliser les polluants.

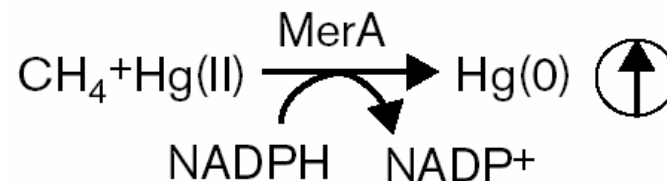
4. **Phytoextraction :** utilise les capacités des plantes à extraire du sol des polluants et à les concentrer dans les parties aériennes (ou racinaires), ensuite récoltées.



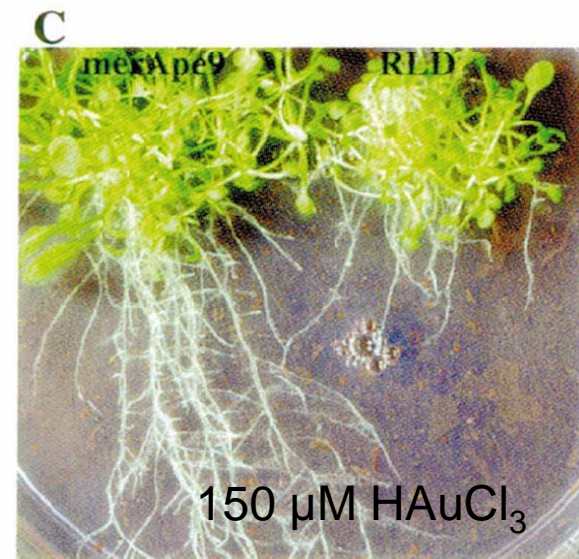
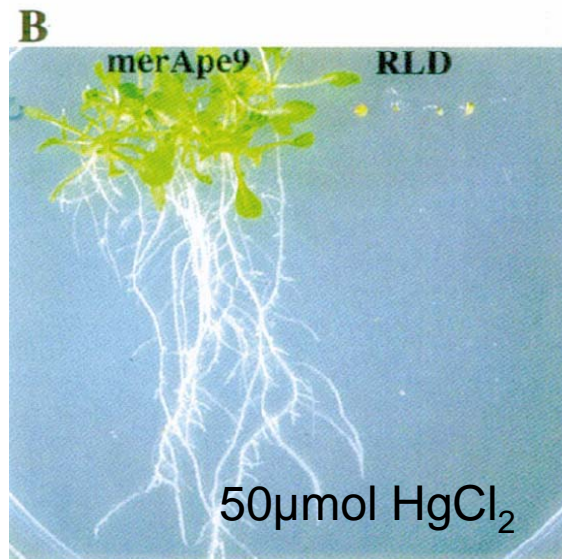
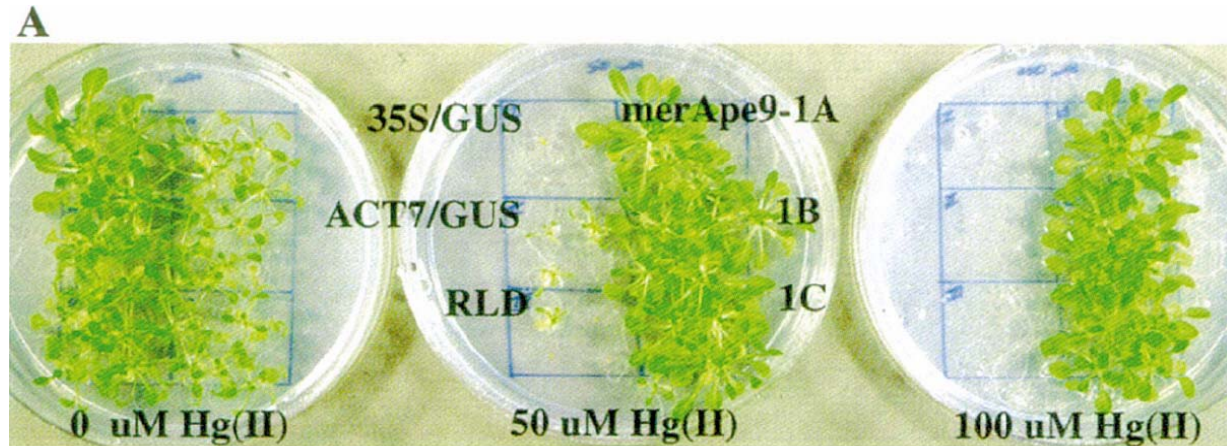
Phytotransformation et phytovolatilisation : cas du mercure



- Pollution au mercure : métal lourd très toxique produit en abondance par les activités industrielles et qui s'accumule dans les organismes
- Affinité pour les thiols protéiques : inactivation d'enzymes
- Les dérivés organomercuriels sont encore plus toxiques (perméation membranaire efficace)
- Chez certaines bactéries la résistance aux organomercuriels dépend d'une enzyme (MerB) qui catalyse la protonolyse d'un organomercuriel (RSHg^+) en un composé moins toxique $[\text{Hg}(\text{II})]$
- D'autres bactéries sont capables de réduire $\text{Hg}(\text{II})$ en Hg^0 (volatil et moins toxique)

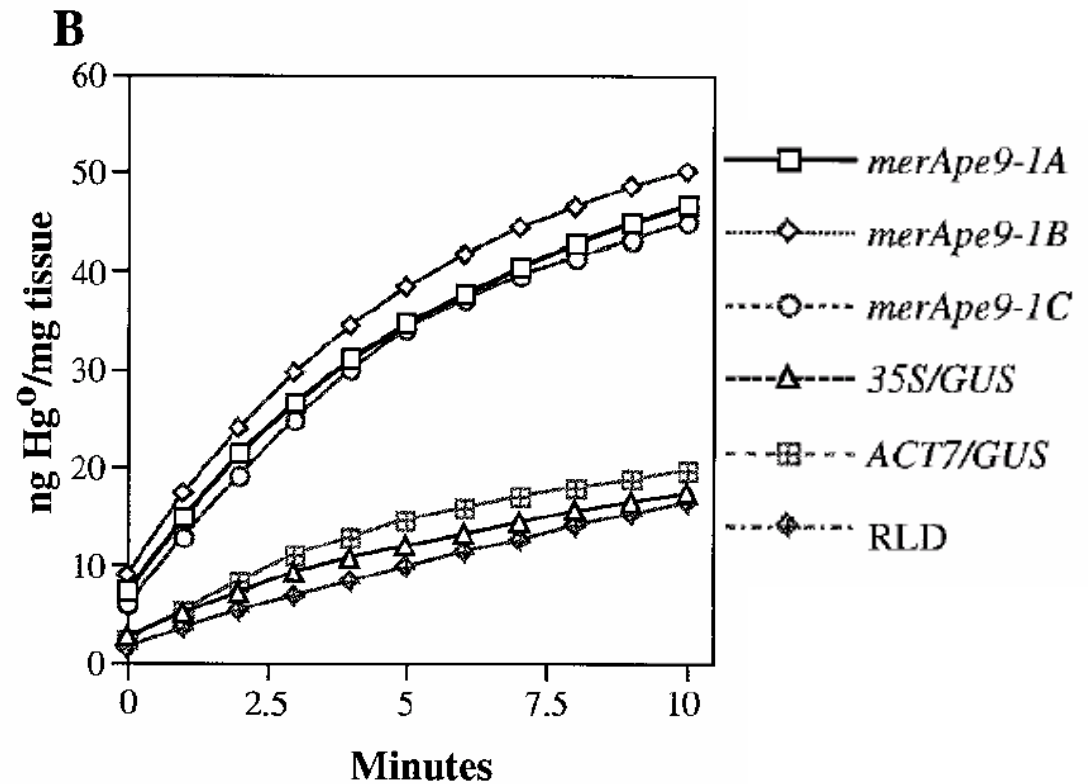
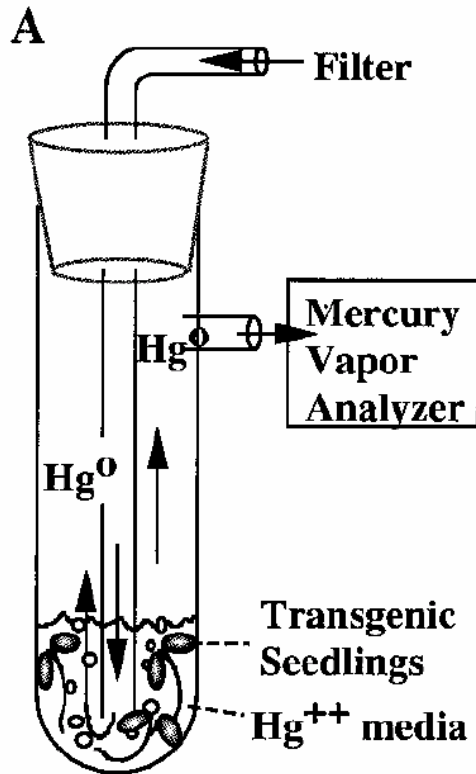


L'expression du gène bactérien *merA* chez *Arabidopsis thaliana* accroît la tolérance des plantes au mercure et à l'or



Rugh *et al.* (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93, 3182–3187

Volatilisation du mercure par des plantes transgéniques exprimant le gène bactérien *merA*



Rugh et al. (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93, 3182-3187



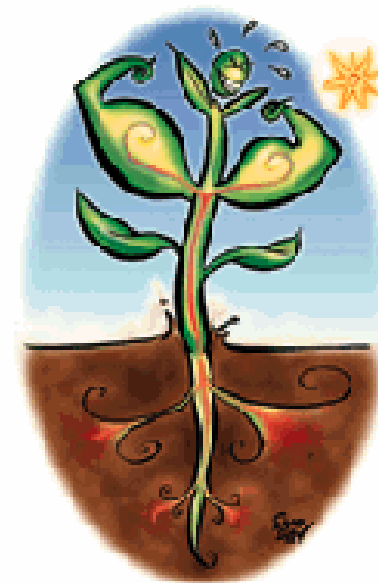
Pour être utilisée en phytoextraction, une plante doit accumuler des métaux

Elle doit présenter une :

1. Croissance rapide
2. Biomasse importante et facilement récoltable (~3 tonnes MS/ha.an)
3. Concentration de métal dans les parties aériennes élevée (>1g métal/kg MS).

Divers paramètres vont influencer «le rendement» de phytoextraction :

1. Biodisponibilité du métal
2. Toxicité de l'élément
3. Capacité de transport
4. Capacité à transformer
5. Capacité à stocker



Plantes hyperaccumulatrices

Alyssum

Thlapsi

Brassica



Plante hyper-accumulatrice :
contenu en métal supérieur à
0,1% du poids sec.

Certaines *Brassicaceae* sont capables de pousser sur des sols de calamine ou de serpentine contenant des concentrations élevées en Zn, Pb, Cd, Ni, Cr et Co.

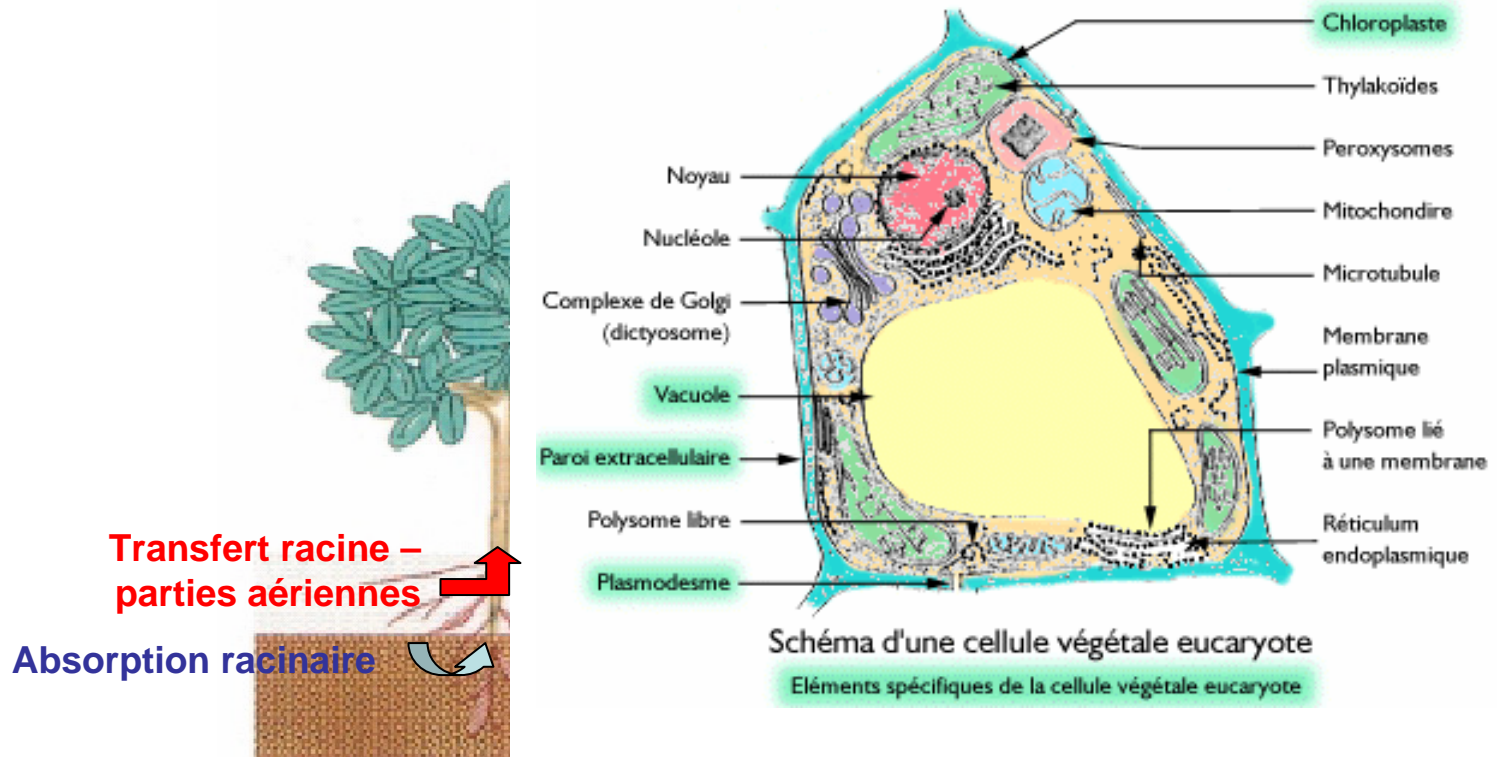
Certains écotypes sont capables d'accumuler jusqu'à 30000 ppm de Zn et 1000 ppm de Cd dans les feuilles, alors que les concentrations toxiques sont de 300 à 500 ppm pour le Zn et de 1 ppm pour le Cd.

Inconvénient majeur : leur masse est toujours très faible

Rôle des Transporteurs

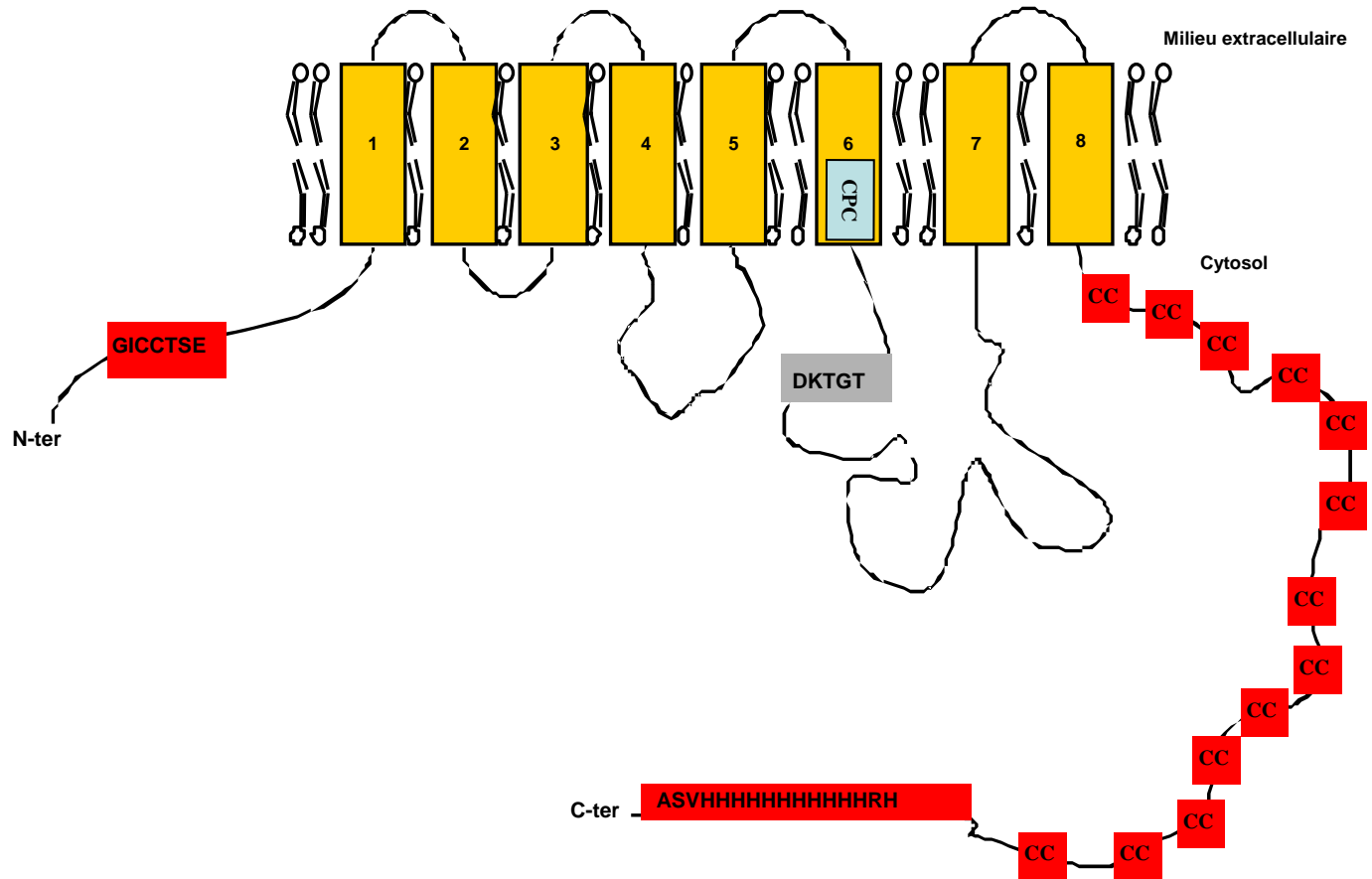


Transporteurs plasmiques : influx et efflux des métaux essentiels

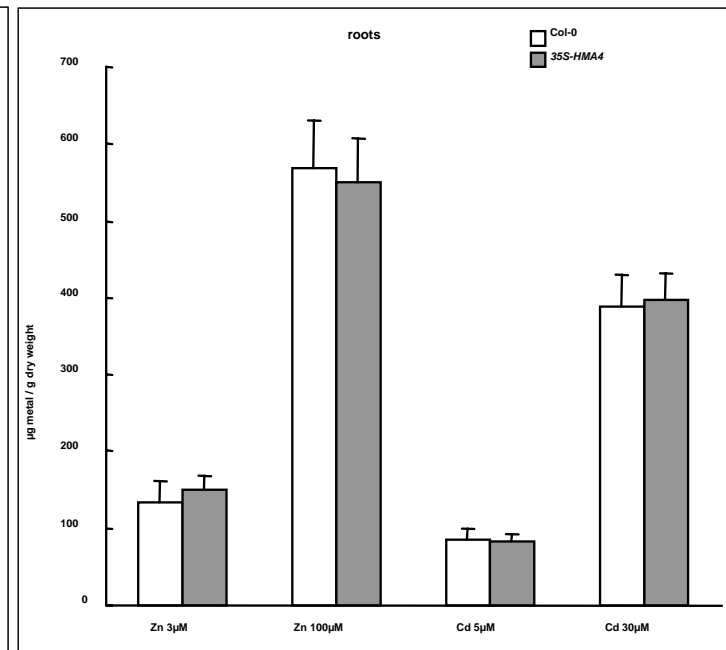
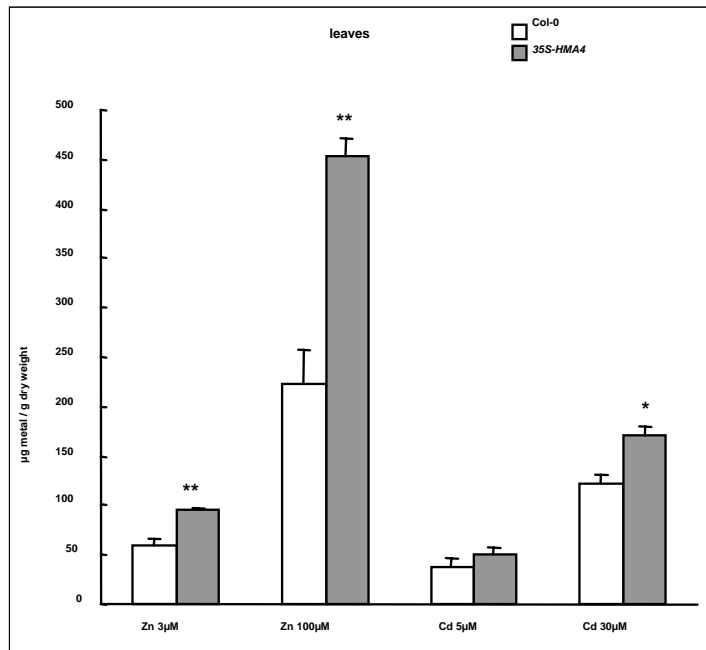
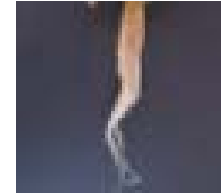


Transporteurs vacuolaires : compartimentation des métaux

AtHMA4, transporteur plasmique de Zn/Cd/Pb/Co



Accumulation du Zn et du Cd chez la lignée 35S::AtHMA4



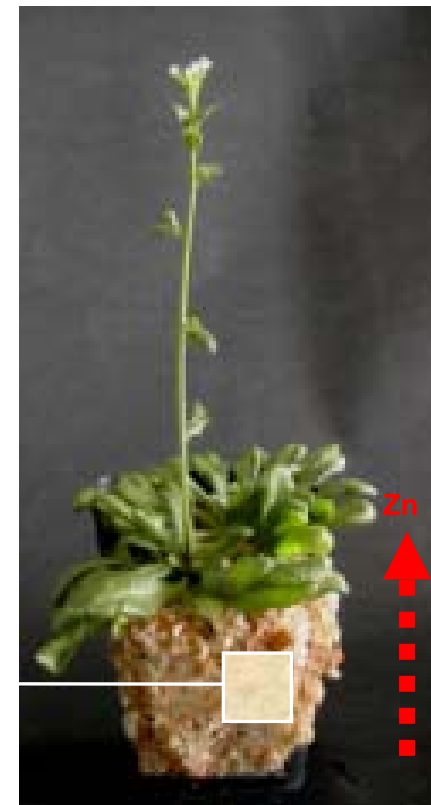
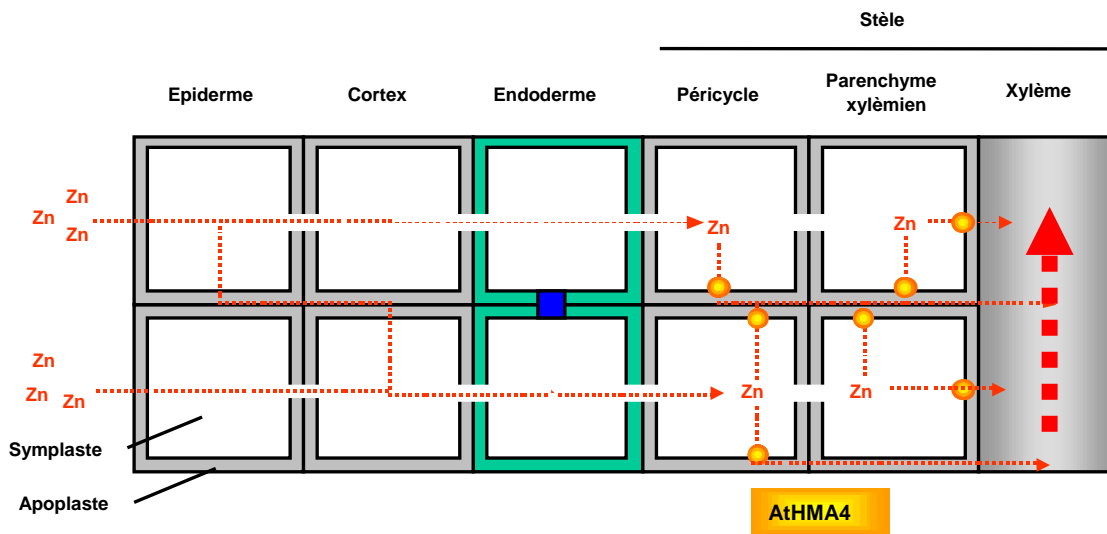
Verret et al., 2004

La surexpression d'AtHMA4 augmente la teneur en métaux des parties aériennes

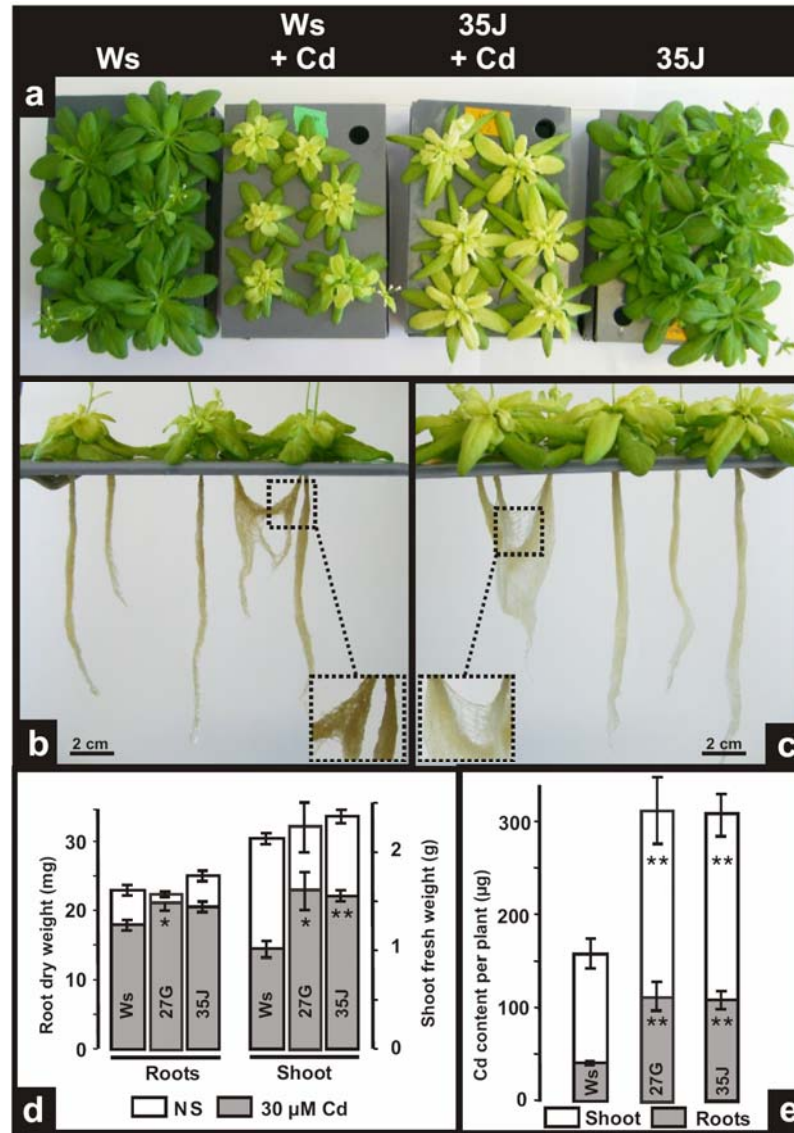
Modèle du rôle physiologique d'AtHMA4 dans les racines



Au niveau des racines, AtHMA4 participe au chargement du xylème en Zn mais aussi en Cd



Accumulation de Cd chez la lignée 35S::AtHMA3



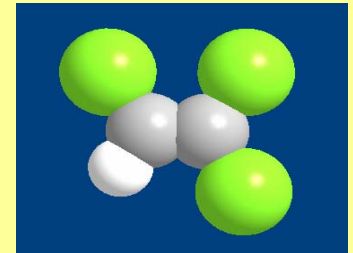
Projet PHYTOPOP (2007 – 2010)





1. Le Trichloréthylène

- Le Trichloréthylène (TCE) est un composé halogéné, utilisé comme solvant industriel, polluant organique très répandu, posant de graves problèmes dans les eaux de surface et les sols : peu dégradé, cancérigène.



Les plantes ont la capacité de transformer le TCE en trichloroéthanol, chloroacétates puis en CO_2 . Des cellules en culture de peuplier minéralisent >10% TCE en 10 jours.

- Les plantes contiennent vraisemblablement une voie enzymatique de dégradation du TCE, mais les enzymes ne sont pas connues. Efficacité ?

Phytoremédiation des composés organiques (II)

2. Le Trinitrotoluène



- Le trinitrotoluène (TNT) est un explosif qui pose de graves problèmes environnementaux.
- L'incinération est le seul traitement connu, mais se pose les problèmes des rejets atmosphériques (combustion incomplète) et du coût
- La nitroréductase (NR) de la bactérie *Enterobacter cloacae* est capable de dégrader le TNT en utilisant du NAD(P)H dans une réaction de réduction.

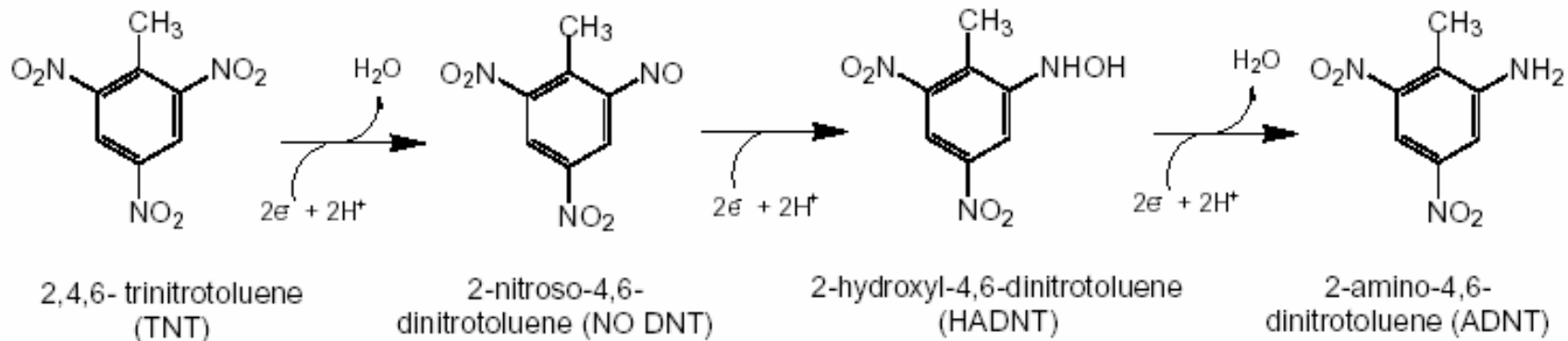
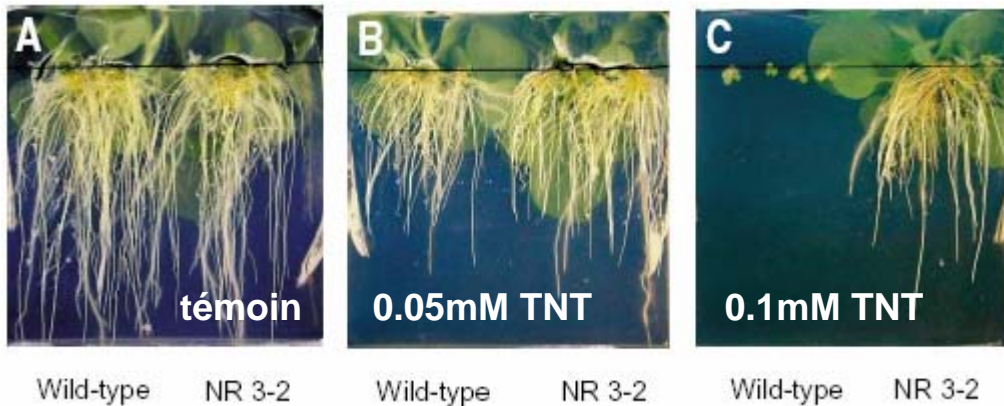
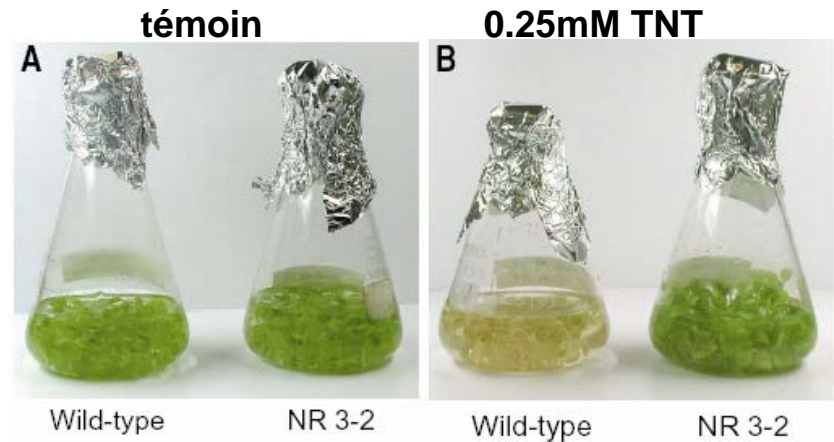


Figure 1. Proposed pathway for the reduction of TNT by nitroreductase.

Dégradation de TNT



Des cellules de tabac en culture, exprimant la nitroréductase bactérienne, sont capables de tolérer des concentrations importantes de TNT



C'est également le cas pour les plantes entières

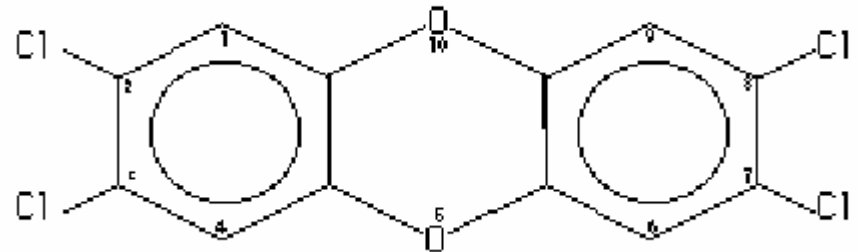


3. Les biphényles polychlorés

- les biphényles polychlorés (PCBs), largement utilisés depuis les années '60, notamment comme huiles pour transformateurs (isolants électriques). L'utilisation des PCB a été stoppée, voici plusieurs années, sur la base d'accords internationaux.
- les PCBs sont des polluants très toxiques, cancérigènes, à dégradation lente dans l'environnement.

Les "dioxines dibenzochlorées" sont les plus dangereuses. Il en existe 75 différentes selon la position des atomes de chlore.

La plus toxique est la 2,3,7,8-tétrachloredibenzodioxine (2,3,7,8-TCDD) ou encore la dioxine Seveso



Les PCBs contenant le plus de substituants chlorés sont les plus difficiles à dégrader

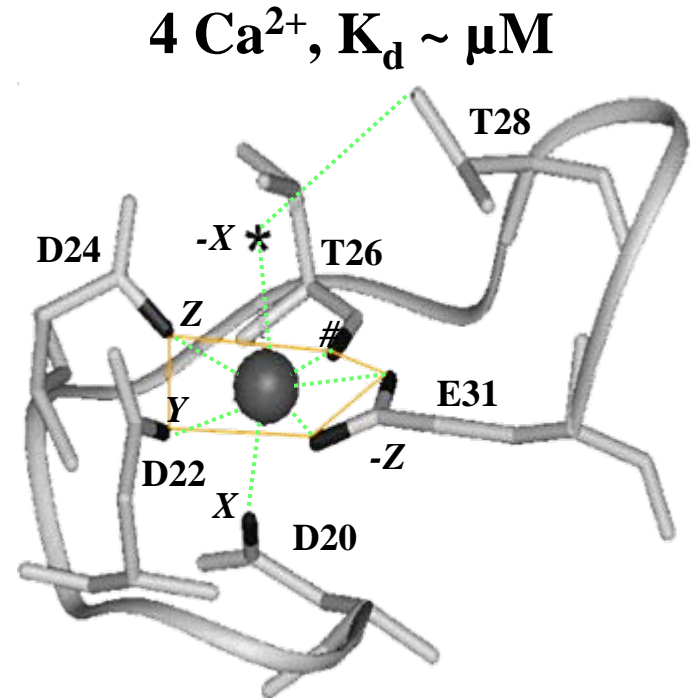


Des cultures axéniques de plantes (*Solanum nigrum*) sont capables de dégrader les PCBs : mécanismes inconnus



Chez les bactéries une douzaine de gènes de dégradation des PCBs ont été identifiés (potentiellement utilisables pour la production de plantes transgéniques métabolisant ces produits)

Création de peptides chélatant des radionucléides (I)



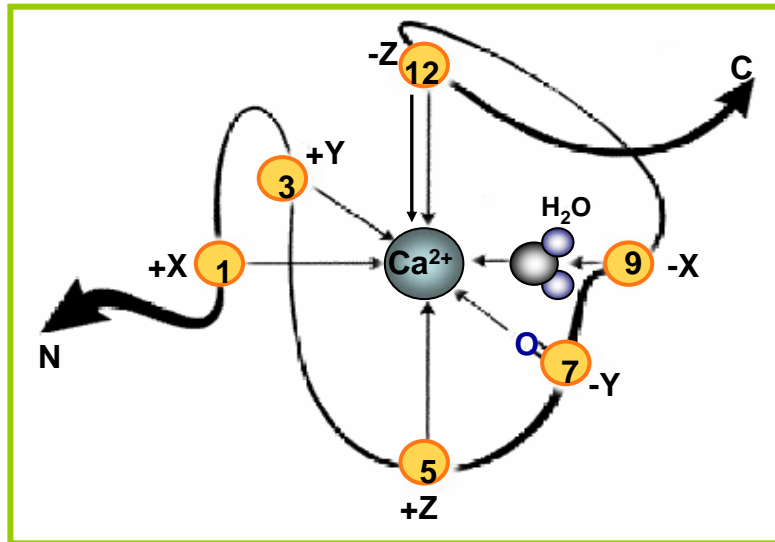
Ingénierie de la calmoduline :

La sélectivité métallique peut être modifiée en :

- changeant la taille de la boucle
- changeant le nombre de coordination
- changeant les atomes coordonnant

- géométrie bi-pyramidale
- chélation par des groupements carboxylate (Asp, Glu) et carboxyamido (Asn, Gln)

Création de peptides chélatant des radionucléides (II)



Site de fixation du calcium du domaine 1 de la calmoduline

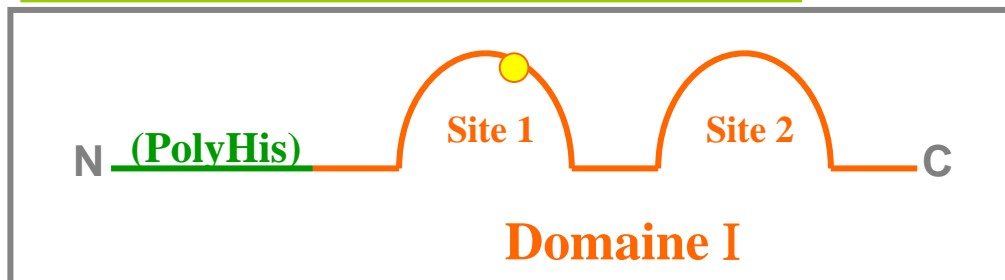


Plate-forme d'expression chez *E. coli* CaM-D1 +/- modifié

Etudes *in vitro* (chélation)

Etudes *in vivo* (accumulation, tolérance)

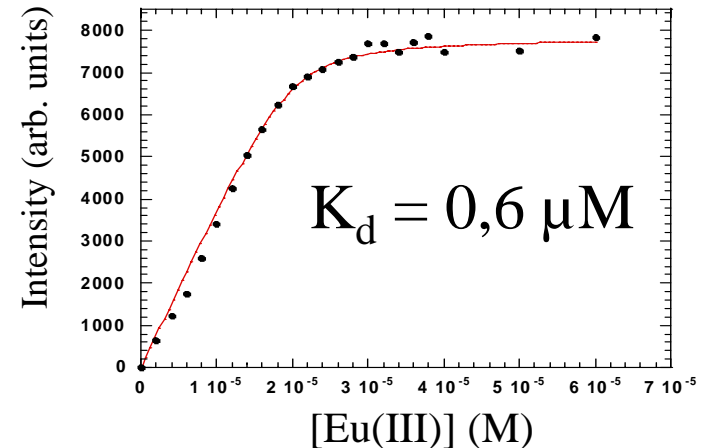
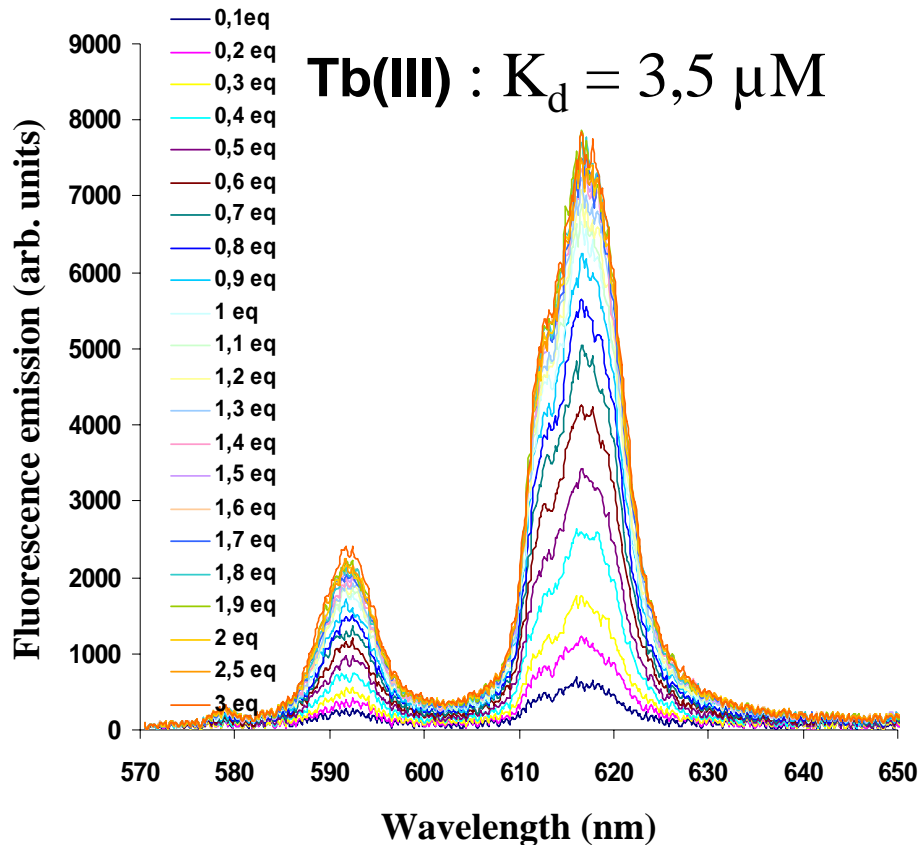
Séquences peptidiques adaptées à la chélation de strontium ou d'uranium

Création de peptides chélatant des radionucléides (III)

Favoriser la sélectivité vers les Lanthanides

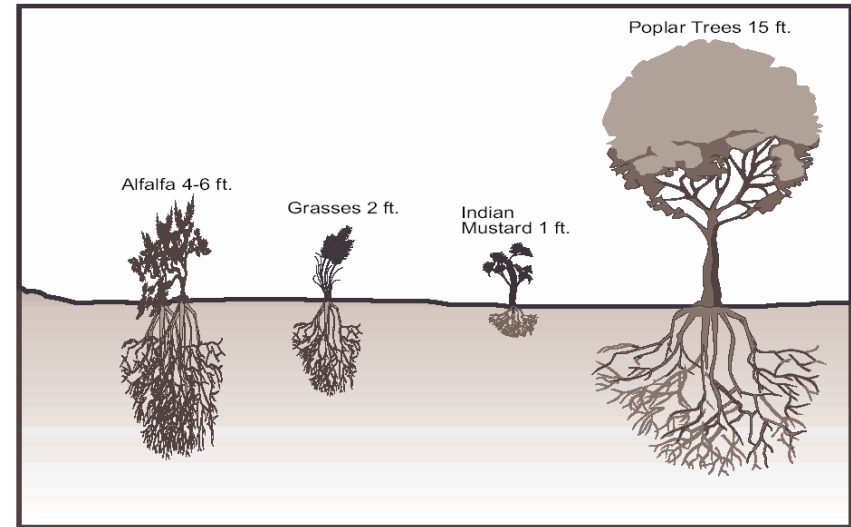


La mutation E31D augmente la taille de la cavité formée par la boucle



**La calmoduline fixe Tb^{3+} , Eu^{3+}
mais plus Ca^{2+}**

Limites et avantages de la phytoremédiation



Avantages :

- Faible coût
- Adaptée aux niveaux de pollution faibles
- Possibilité « d'amélioration génétique »

Limites

- Durée du traitement
- Propriétés des plantes (croissance / hyperaccumulation)
- Peu adaptée à des pollutions combinées
- Efficacité variable selon les polluants (PCBs, radionucléides,...)
- Acceptabilité par le public ? (plantes transgéniques !)