

**Les plantes sont utilisables de différentes manières pour dépolluer biologiquement les milieux souillés.** Polluants organiques, métaux et radionucléides peuvent être plus ou moins facilement éliminés au moyen de diverses techniques développées par les chercheurs. Et certaines bactéries résistantes aux toxiques semblent pouvoir jouer un rôle efficace de dépollution des sols ou des eaux.

# Biodépollution, bioremédiation

## Des plantes pour nettoyer les sols et les eaux

Les activités humaines agricoles, urbaines ou industrielles, sans cesse croissantes, sont à l'origine d'une contamination de notre environnement par les **métaux lourds** et des polluants organiques. La **biodépollution** est un ensemble de techniques biologiques visant à éliminer les polluants du milieu. Ces techniques permettent, en utilisant les capacités de certains organismes et micro-organismes, de dégrader la matière organique et/ou d'éliminer du sol ou de l'eau les substances polluantes. La **phytoextraction** est l'une d'entre elles : elle consiste à utiliser les plantes pour "nettoyer" les sols et les eaux souillés.

### Cinq domaines d'action

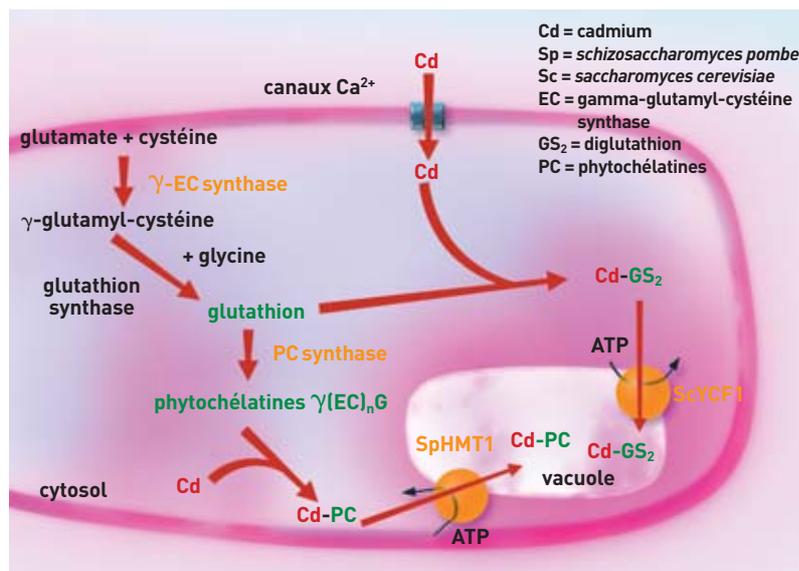
Cette technique peut être divisée en cinq domaines différents. La **phytoextraction** consiste à utiliser des plantes dites "hyperaccumulatrices" qui ont la faculté d'extraire du sol des polluants et de les concentrer dans les parties aériennes ou racinaires, et qui sont ensuite



Ch. Schwartz/Inra

Population de *Thlaspi caerulescens* hyperaccumulatrice de cadmium et de zinc.

Figure. Approche biotechnologique schématisée mettant en jeu la surexpression de quatre enzymes afin d'augmenter les capacités de résistance de la plante au cadmium. La  $\gamma$ -glutamyl cystéine synthase (EC) et la phytochélatine synthase (PC), qui sont naturellement présentes dans les plantes et participent à la synthèse du glutathion et des phytochélatines, chélatent le cadmium. Deux enzymes (YCF1 et HMT1) de levures aux propriétés différentes, *Schizosaccharomyces pombe* (Sp) et *Saccharomyces cerevisiae* (Sc), permettent le transfert du cadmium chélaté vers la vacuole, un compartiment intracellulaire moins sensible aux toxiques.



récoltées. Grâce à la photosynthèse, ces plantes peuvent être considérées comme de véritables pompes solaires à produits toxiques. *Thlaspi caerulescens*, par exemple, est une métallophyte<sup>(1)</sup> capable d'accumuler dans ses parties aériennes des quantités de zinc pouvant représenter 1,7 % de la masse sèche des feuilles. D'autres plantes sont capables de concentrer des quantités importantes de cadmium, de plomb, de nickel, etc. La **phytodégradation** emploie des plantes en association avec des micro-organismes pour dégrader des polluants organiques du sol. La **rhizofiltration** permet d'utiliser les racines des plantes pour absorber et adsorber les métaux des eaux contaminées. La **phytostabilisation** consiste à se servir des plantes afin de réduire la **biodisponibilité** des polluants; la **phytovolatilisation**, enfin, les utilise pour volatiliser les polluants.

Des études de terrain ont déjà démontré l'intérêt de la phytoremédiation pour dépolluer des polluants organiques (TNT, PCB...), métalliques (Cd, Zn...) ou des **radionucléides** (<sup>137</sup>Cs, <sup>90</sup>Sr, U)<sup>(2)</sup>. Bien que la phytoremédiation possède des atouts évidents (faible coût, respect du site, concentration du polluant avant retraitement), son principal inconvénient réside dans la durée du traitement, qui s'étend fréquemment sur plusieurs périodes de culture. Afin de diminuer l'importance de ce paramètre, il est nécessaire de comprendre les facteurs limitant la prise de polluant. Pour être efficace, une plante doit posséder de nombreuses qualités: une masse racinaire explorant la zone de sol polluée, une forte résistance au polluant liée à des capacités de **chélation** et de **séquestration** de celui-ci, une aptitude à le transférer dans les parties aériennes, facilitant le retraitement. Si les métallophytes citées plus haut possèdent certaines de ces qualités, elles ne produisent en général que peu de biomasse et n'offrent qu'un rendement limité. Les recherches menées actuellement tendent à améliorer les capacités d'accumulation, de transfert et de résistance des plantes aux polluants.

Dans le cadre du programme Toxicologie nucléaire du CEA, des études fondamentales sont menées sur une plante modèle, *Arabidopsis thaliana*, dont le **génom**e a été récemment entièrement **séque**ncé. Ces études portent sur les processus biologiques déterminant la **prise** de métaux lourds ou de radionucléides par la recherche de **gènes** favorisant le développement racinaire,

ensuite le **transfert** de ces polluants du sol vers les racines, puis vers les parties aériennes par la recherche des transporteurs membranaires spécifiques et, enfin, la **séquestration** et la **compartimentation** des polluants par des molécules chélatrices. Dans ce cadre, des études sans *a priori* sont menées pour identifier les gènes et les **protéines** impliqués dans ces processus. Différentes techniques sont ainsi utilisées pour suivre les modifications du profil d'**expression** du génome et du **protéome** en réponse à l'exposition à des métaux lourds ou des radionucléides. De fortes variations d'expression sont un signe potentiel de l'implication de ces gènes ou protéines dans la réponse au polluant. Ces gènes peuvent alors faire l'objet de manipulations génétiques<sup>(3)</sup>, dont les conséquences sont testées en présence du polluant. Une fois ces acteurs identifiés chez cette plante modèle, ils pourront être transférés par ingénierie génétique chez des plantes de grande culture à forte production de biomasse (tabac, peuplier).

## Les stratégies envisageables

Dans l'attente d'une meilleure compréhension des mécanismes biologiques, différentes stratégies sont d'ores et déjà envisageables pour tenter d'optimiser les capacités des plantes à accumuler des métaux ou radionucléides. Elles consistent soit à favoriser la synthèse de molécules chélatantes naturellement produites en réponse à un stress métallique (phytochélatines, méthallothionéines), soit à concevoir et exprimer de nouveaux **peptides** capables de lier sélectivement certains métaux ou radionucléides. Ces deux approches sont menées conjointement dans le cadre du programme de

(1) Métallophyte: plante, généralement originaire d'une région métallifère, capable d'accumuler des éléments traces (la masse sèche contient plus de 1 % de Zn ou Mn; 0,1 % de Cu, Co, Pb, Ni; 0,01 % Cd).

(2) Pour en savoir plus, consulter les sites <http://clu-in.com/download/remed/introphyto.pdf> <http://www.ensaia.u-nancy.fr/Recherche/solenviro/phytozem.htm> [http://www.uga.edu/srel/Fact\\_Sheets/phytozemiation.htm](http://www.uga.edu/srel/Fact_Sheets/phytozemiation.htm) <http://www.engg.ksu.edu/HSRC/Tosc/metals.pdf>

(3) Sur- ou sous-expression d'un gène: l'expression d'un gène se traduit par la synthèse en plus ou moins grande quantité d'une protéine. Une surexpression dépasse les besoins de la cellule, à l'inverse la sous-expression limite la production de la protéine.

Toxicologie nucléaire. En réponse à la présence de métaux lourds dans l'environnement, les végétaux expriment des peptides comme les phytochélatines (synthétisées enzymatiquement à partir de glutathion par la phytochélatine synthase) ou des petites protéines (métallothionéines), qui interviennent dans la détoxification cellulaire des métaux toxiques. Des expériences menées chez la bactérie ont montré que la surproduction de ces peptides provoquait un accroissement considérable des quantités de cadmium accumulées et conduisait également à de fortes accumulations d'autres métaux ou **métalloïdes** comme le mercure, le plomb, le zinc, le cuivre ou l'arsenic. Chez les végétaux, la surexpression de deux des **enzymes** de la voie de biosynthèse des phytochélatines est envisagée pour accroître la synthèse de phytochélatines et l'accumulation de métaux. La vacuole représentant chez les plantes un site de stockage privilégié des toxiques, il est également envisagé d'accroître le stockage vacuolaire des métaux en surexprimant des transporteurs membranaires, tels ceux impliqués chez la levure dans le transport vacuolaire de complexes glutathion-cadmium ou de complexes phytochélatines-cadmium (figure).

### De nouvelles structures peptidiques

Enfin, dans le but de faire acquérir aux plantes des propriétés d'accumulation nouvelles, notamment de radionucléides, il a été envisagé de créer de nouvelles structures peptidiques capables de chélater sélectivement divers éléments. La modification, par ingénierie moléculaire, d'un motif structural de base constitué par un des sites de fixation du calcium de la calmoduline a conduit à l'obtention de peptides liant l'uranyle ou les **lanthanides** avec une haute affinité. Il est envisagé d'exprimer ces peptides chez la bactérie, puis chez les plantes, et de tester les capacités des organismes modifiés à accumuler sélectivement des métaux ou radionucléides d'intérêt. Il est à terme concevable de créer de telles structures peptidiques nouvelles et de créer des organismes dédiés à la bioremédiation sélective d'éléments polluants.

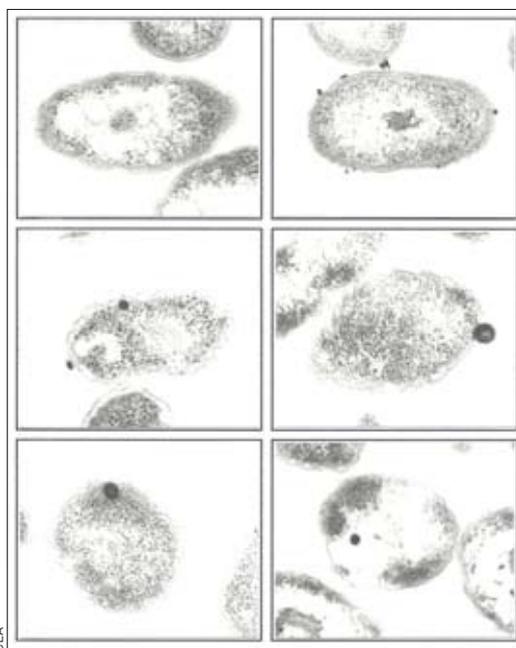
> **Alain Vavasseur** et **Gilles Peltier**  
 Direction des sciences du vivant  
 CEA centre de Cadarache  
 > **Jacques Bourguignon**  
 CEA centre de Grenoble

## Des bactéries toxico-résistantes décontaminantes

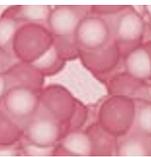
Certaines bactéries sont naturellement capables de résister à des toxiques comme l'oxyde d'uranium, en particulier dans les réacteurs nucléaires fossiles naturels d'Oklo, au Gabon, ou le sélénium dans les lacs américains. Ces bactéries résistantes aux toxiques pourraient jouer un rôle efficace de dépollution des sols et des eaux. La meilleure connaissance de leurs mécanismes moléculaires de résistance pourrait permettre la production, à terme, de bactéries **transgéniques** optimisées pour ce type de tâche. Parmi les différents mécanismes qui confèrent aux bactéries la capacité de résister aux **métaux lourds**, les chercheurs du CEA s'intéressent en particulier à ceux mettant en jeu une incorporation du toxique

puis des processus d'oxydo-réduction conduisant à son immobilisation. Ces processus peuvent conduire à une concentration du toxique dans les bactéries (illustration). Il suffirait alors de collecter la biomasse pour récupérer le polluant. Les oxydes de sélénium et d'uranium étudiés sont concernés par ces phénomènes.

Les chercheurs s'attachent à élucider les mécanismes mis en jeu au niveau moléculaire (transport et transfert d'électrons), travaux d'autant plus importants que si les bactéries absorbent effectivement les polluants pour les stocker à l'état élémentaire, elles peuvent aussi, étant situées au bout de la chaîne alimentaire, les transmettre aux autres êtres vivants.



Certaines bactéries résistent aux oxydes de sélénium en les réduisant en sélénium élémentaire, beaucoup moins toxique. Cela se traduit par l'apparition d'une couleur rouge caractéristique (culture de gauche : témoin sans sélénite ; culture de droite : expérience en présence de sélénite). Les bactéries rouges possèdent toutes des inclusions denses constituées d'accumulation de sélénium. L'image en haut à gauche montre une culture témoin sans sélénite ; les autres, les différentes localisations possibles pour l'accumulation du sélénium.



## Trois grandes approches

L'étude de ces mécanismes est fondée sur trois approches principales<sup>(1)</sup>. La première consiste en un criblage empirique de milliers de bactéries mutantes dont certains **gènes** ont été inactivés, afin de mettre en évidence ceux qui possèdent effectivement la capacité de modifier l'état d'oxydo-réduction des oxydes d'intérêt, en particulier, dans le domaine nucléaire, l'uranium, un **actinide**, et le technétium, un **produit de fission**.

Une deuxième approche, dite **méta-génomique**, repose sur l'extraction de tout l'**ADN** présent dans un échantillon prélevé sur un site pollué. L'idée est ensuite d'incorporer cet ADN issu d'un grand nombre de micro-organismes résistants à des bactéries modèles et de leur donner de nouvelles propriétés de résistance. L'approche **protéomique**, enfin, consiste à comparer les protéines d'une bactérie avant et après une exposition aux polluants.

(1) Les micro-organismes modèles utilisés, représentatifs de la biodiversité bactérienne, sont des bactéries du sol (*Ralstonia metallidurans*, *Shewanella oneidensis*, *Rhodobacter sphaeroides*), une bactérie de l'eau (*Synechocystis*) et la classique bactérie de laboratoire *Escherichia coli*.

Une fois mises en évidence, les **protéines** impliquées dans les mécanismes de résistance peuvent être étudiées au niveau fonctionnel et structural.

Un certain nombre d'acteurs de la résistance ont été caractérisés. Ainsi, les chercheurs du CEA ont pu démontrer que les oxydes de sélénium induisaient un **stress oxydant** chez la bactérie, et identifier les transporteurs permettant l'entrée dans la cellule de différents **oxyanions** de sélénium (séléniate et sélénite).

L'identification et la caractérisation des **enzymes** impliquées dans la réduction des oxydes de sélénium sont également en bonne voie.

Les procédés de bioremédiation opérationnels issus de ces études seront basés sur l'utilisation de "cocktails" de bactéries optimisées, capables de faire passer les polluants d'un état soluble, toxique et **biodisponible** à un état solide et immobilisé, non ou largement moins toxique et surtout récupérable par simple collecte de la biomasse.

> **David Pignol**

Direction des sciences du vivant  
CEA centre de Cadarache

> **Jacques Coves**

IBS (CEA-CNRS) - Grenoble (Isère)