



**HAL**  
open science

## La phytoremédiation

Dominique Fournon

► **To cite this version:**

| Dominique Fournon. La phytoremédiation. Sciences pharmaceutiques. 1999. dumas-01617616

**HAL Id: dumas-01617616**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01617616>**

Submitted on 16 Oct 2017

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact au SID de Grenoble :  
[bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr](mailto:bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

<http://www.cfcopies.com/juridique/droit-auteur>

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>



**UNIVERSITÉ JOSEPH FOURIER  
FACULTÉ DE PHARMACIE DE GRENOBLE**

Année 1999

N° d'ordre

7009

**LA PHYTORÉMÉDIATION**

**THÈSE**

Présentée à la faculté de Grenoble  
en vue d'obtenir  
Le Diplôme d'État de DOCTEUR EN PHARMACIE

par

Mademoiselle Dominique FOURNON

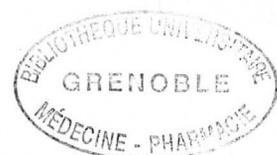
Soutenue publiquement le 2 Avril 1999 à 18h

Devant le jury composé de :

Président : Mme SEIGLE-MURANDI Françoise, Professeur

Assesseurs : M BENOIT-GUYOD Jean-Louis, Professeur

M CHAUVIN-BUTHAUD Benoît, ingénieur agronome



**UNIVERSITÉ JOSEPH FOURIER  
FACULTÉ DE PHARMACIE DE GRENOBLE**

Année 1999

N° d'ordre

**LA PHYTORÉMÉDIATION**

**THÈSE**

Présentée à la faculté de Grenoble  
en vue d'obtenir  
Le Diplôme d'État de DOCTEUR EN PHARMACIE

par

Mademoiselle Dominique FOURNON

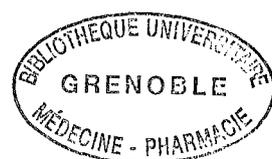
Soutenue publiquement le 2 Avril 1999 à 18h

Devant le jury composé de :

Président : Mme SEIGLE-MURANDI Françoise, Professeur

Assesseurs : M BENOIT-GUYOD Jean-Louis, Professeur

M CHAUVIN-BUTHAUD Benoît, ingénieur agronome



# La phytoremédiation

## INTRODUCTION

<b>1. LES DIFFÉRENTS PROCÉDÉS :</b> .....	<b>5</b>
1.1. PHYTOVOLATILISATION.....	5
1.2. PHYTOEXTRACTION.....	5
1.2.1. Une stratégie de séquestration.....	7
1.2.2. Les hyperaccumulateurs.....	8
1.2.3. Une plante, pour croître sur un sol contaminé, doit adapter sa morphologie.....	10
1.2.4. La mobilité de l'agent toxique conditionne l'efficacité du prélèvement par la plante.....	11
1.2.5.L'optimisation de phytoextraction par la biotechnologie.....	11
1.2.6.Les avantages de l'utilisation de la phytoextraction :.....	12
1.3. PHYTOSTABILISATION.....	13
1.4. LA BIODÉGRADATION AU NIVEAU DE LA RHIZOSPHERE.....	15
1.4.1.Définition de la rhizosphère :.....	15
1.4.2.Influence de la plante sur la communauté microbienne de la rhizosphère.....	16
<b>2. LA PHYTOREMEDIATION DES COMPOSÉS ORGANIQUES.....</b>	<b>17</b>
2.1.LES HERBICIDES.....	21
2.1.1. L'atrazine [2-chloro-4-(ethylamino)-6-(isopropylamino)-s-triazine].....	22
2.1.2. Le fluométuron :N,N-diméthyl-N'-[trifluorométhyl (phenyl)]urée.....	27
2.1.3. Les herbicides de la famille des chloroacétamides :.....	28
2.2. LE TRICHLOROETHYLÈNE (TCE) :.....	29
2.2.1.Phyto-rémédiation du trichloroéthylène par des peupliers hybrides :.....	31
2.3. LES EXPLOSIFS.....	33
2.3.1.La nitroglycérine :.....	33
2.3.2.Le TNT (2,4,6-trinitrotoluène) :.....	34
<b>3. LA PHYTOREMEDIATION DES COMPOSÉS INORGANIQUES.....</b>	<b>36</b>
3.1. LE PLOMB.....	38
3.1.1.Les plantes capables d'accumuler le Pb:.....	39
3.1.2.La translocation du Pb :.....	44
3.1.3.Les différents moyens d'augmenter la phytoextraction du Pb :.....	47
3.1.4.La phytostabilisation du Pb :.....	50
3.2. LE CADMIUM ET LE ZINC :.....	51

3.2.1. <i>Les plantes hyperaccumulatrices de Cd et Zn :</i> .....	52
3.3. LE NICKEL.....	60
3.3.1. <i>Des taux de nickel (Ni) naturellement élevés chez différentes plantes.</i> .....	60
3.3.2. <i>Les plantes hyperaccumulatrices de nickel :</i> .....	60
3.4. LE SÉLÉNIUM .....	65
3.4.1. <i>Les plantes hyperaccumulatrices de Se :</i> .....	66
3.4.2. <i>L'efficacité des plantes hyperaccumulatrices de Se :</i> .....	66
3.4.3. <i>Les plantes capables de volatiliser le Se :</i> .....	68
3.5. LES RADIONUCLÉIDES .....	77
3.5.1. <i>Les plantes capables d'accumuler le <sup>137</sup>Cs et <sup>90</sup>Sr :</i> .....	78
3.5.2. <i>Limiter les effets écologiques découlant des pratiques de phytoremédiation</i> .....	83
3.5.3. <i>Stratégie pour une phytoremédiation in situ de sol contaminé par des radionucléides :</i> .....	83
<b>4. AMÉLIORATION DE LA PHYTORÉMÉDIATION PAR DES PLANTES GÉNÉTIQUEMENT MODIFIÉES :</b> .....	<b>86</b>
<b>5. LA RHIZOFILTRATION :</b> .....	<b>89</b>
5.1. DÉFINITION DE LA RHIZOFILTRATION : .....	89
5.2. LA RHIZOFILTRATION DES RADIONUCLÉIDES PAR DES TOURNESOLS (HELIANTHUS ANNUUS L.) : .....	90
5.3. LA RHIZOFILTRATION DES MÉTAUX LOURDS : .....	91
5.3.1. <i>La rhizofiltration du plomb (Pb) :</i> .....	93
5.3.2. <i>La rhizofiltration du cadmium (Cd<sup>2+</sup>) :</i> .....	95
5.3.3. <i>La rhizofiltration du chrome :</i> .....	97
5.4. LA RHIZOFILTRATION D'HERBICIDES CONTAMINANTS LA SURFACE DE L'EAU : .....	98
<b>6. LES ESPOIRS ET LES LIMITES DE LA PHYTOREMEDIATION.....</b>	<b>101</b>
6.1. LES LIMITES DE LA PHYTORÉMÉDIATION.....	101
6.1.1. <i>Les limites générales.....</i>	101
6.1.2. <i>Les limites d'application de la phytoextraction.....</i>	102
6.2. LES ESPOIRS DE LA PHYTORÉMÉDIATION .....	103
<b>CONCLUSION :</b> .....	<b>104</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE</b> .....	<b>105</b>

## INTRODUCTION

Les plantes ont été longtemps une source d'énergie (puisque l'on brûlait le bois) puis elles ont été appréciées pour leur aspect esthétique. Ce n'est que très récemment (depuis la dernière décennie) que les chercheurs ont mesuré l'importance de leur capacité à stocker, dégrader, ou minéraliser les substances polluantes de l'environnement et en particulier les polluants du sol.

Grâce à différents procédés les plantes peuvent, *in situ*, épurer les sols. C'est ce que l'on appelle la **phytorémediation**.

Ceci permet un traitement *in situ* des sols et des sédiments grâce aux végétaux afin de pouvoir soit fixer les polluants (et ainsi éviter toutes migrations vers les nappes phréatiques) c'est la **phytostabilisation**, soit réduire la quantité de polluants du sol par différents procédés :

- par accumulation de composés inorganiques et en particulier les métaux lourds dans les tissus de la plante, c'est la **phytoextraction**.
- par dégradation des composés organiques par les micro-organismes de la rhizosphère.
- par transformation du contaminant au niveau de la plante en composé volatil comme par exemple le mercure ou le sélénium, c'est la **phytovolatilisation**.

La phytoremediation s'adapte bien à certains types de contamination comme des contaminations superficielles des sols (< 5m de profondeur), des contaminations par des polluants modérément hydrophobes comme le benzène, le toluène, l'éthylbenzène, ou le xylène (BTEX), des solvants chlorés ou du nitrotoluène, des pesticides, des métaux lourds (plomb, nickel, cobalt, cadmium, sélénium), ou bien encore des radionucléides.

Mais les plantes peuvent également être utilisées pour stocker ou dégrader certains polluants des cours d'eau ou des marais et ainsi participer à la décontamination des eaux polluées. Ce procédé est appelé la **phytofiltration**.

Parce que la phytoremédiation est encore en développement, elle n'est pas encore beaucoup utilisée, mais son faible coût par rapport aux méthodes conventionnelles de rémédiation (incinération, et lavage du sol) lui donne un intérêt tout particulier. En effet, la rémédiation des sols contaminés, par des techniques conventionnelles, coûte entre 50\$ à 500\$ par tonne. Certaines techniques spécialisées peuvent coûter jusqu'à 1000\$ par tonne. Ainsi, pour décontaminer un demi-hectare de sol de 90 cm de profondeur soit environ 4500 tonnes il faut s'attendre à un coût de 2,25 millions de dollars ! (Cunningham et al, 1995). C'est pourquoi des efforts importants sont déployés afin de développer de nouvelles techniques plus efficaces de décontamination des sols. Une grande partie de ces efforts sont menés par des ingénieurs et des microbiologistes. Récemment, les procédés basés sur les plantes vertes ont reçu une plus grande attention. Il y a longtemps que l'on sait que le cycle de vie d'une plante a des effets marqués sur les procédés chimiques, physiques et biologiques. En effet, dans le processus de croissance des racines et des tiges, l'acquisition de minéraux et d'eau, la sénescence et éventuellement la dégénérescence, amènent les plantes à modifier l'environnement du sol et dans certains cas, permet une épuration du sol par dégradation ou recapture des contaminants par des plantes.

Dans ce document, nous nous sommes restreint à la phytoremédiation des sols et à l'épuration des eaux par des plantes supérieures seules, ou associées à des mycorhizes.

Nous nous attacherons tout d'abord à mieux comprendre les différents procédés que les plantes peuvent utiliser pour éliminer les polluants du sol, puis nous verrons quelques exemples de composés organiques dégradés par certaines plantes, et ensuite nous étudierons plusieurs composés inorganiques pouvant être accumulés par d'autres plantes. Enfin, nous nous intéresserons à la rhizofiltration, qui permet une épuration des eaux grâce à certaines plantes avant de faire le bilan des espoirs et des limites de la phytoremédiation des sols.

# 1. Les différents procédés :

## 1.1. *Phytovolatilisation*

Certaines espèces végétales peuvent absorber des éléments comme le sélénium ou le mercure, puis les relâcher sous forme méthylée dans l'atmosphère.

Lorsqu'une réductase de l'ion mercurique d'origine bactérienne a été introduite dans *Arabidopsis thaliana*, cette plante a alors été capable de tolérer et de volatiliser l'ion mercurique (Rugh et al, 1996). En effet, le cation toxique ( $\text{Hg}^{2+}$ ) est absorbé par les racines et réduit par la réductase de l'ion mercurique, en  $\text{Hg}^0$  qui est volatil.

La biovolatilisation, cependant, n'est généralement pas applicable pour la plupart des ions inorganiques. Ainsi le transport de la biomasse de départ est la seule alternative pour l'extraction de la majorité de ces contaminants.

## 1.2. *Phytoextraction*

Depuis longtemps, la capacité pour une plante d'accumuler des métaux était considérée comme nuisible. En effet, étant le premier maillon dans de nombreuses chaînes alimentaires, les plantes hyperaccumulatrices peuvent être directement ou indirectement responsables d'une grande part de l'ingestion de métaux lourds toxiques pour l'homme et les animaux. Bien que quelques métaux lourds soient nécessaires pour vivre, leur accumulation excessive dans les organismes est toujours toxique. De plus, le danger de ces métaux lourds est aggravé par leur persistance quasi indéfinie dans l'environnement. Par exemple, le plomb (Pb), qui est le plus persistant des métaux, a un temps de rétention dans le sol de 150 à 5000 années.

Face à un nombre grandissant de sites pollués par l'activité humaine (l'agriculture intensive, la production d'énergie et de combustibles, les gaz d'échappement...), les méthodes qui sont utilisées sont : soit la mise en œuvre de procédés très coûteux de transport et d'incinération, soit plus simplement l'isolation des sites contaminés.

Ce n'est que très récemment que l'on a réalisé la valeur des plantes accumulatrices de métaux pour essayer de dépolluer certains sites contaminés.

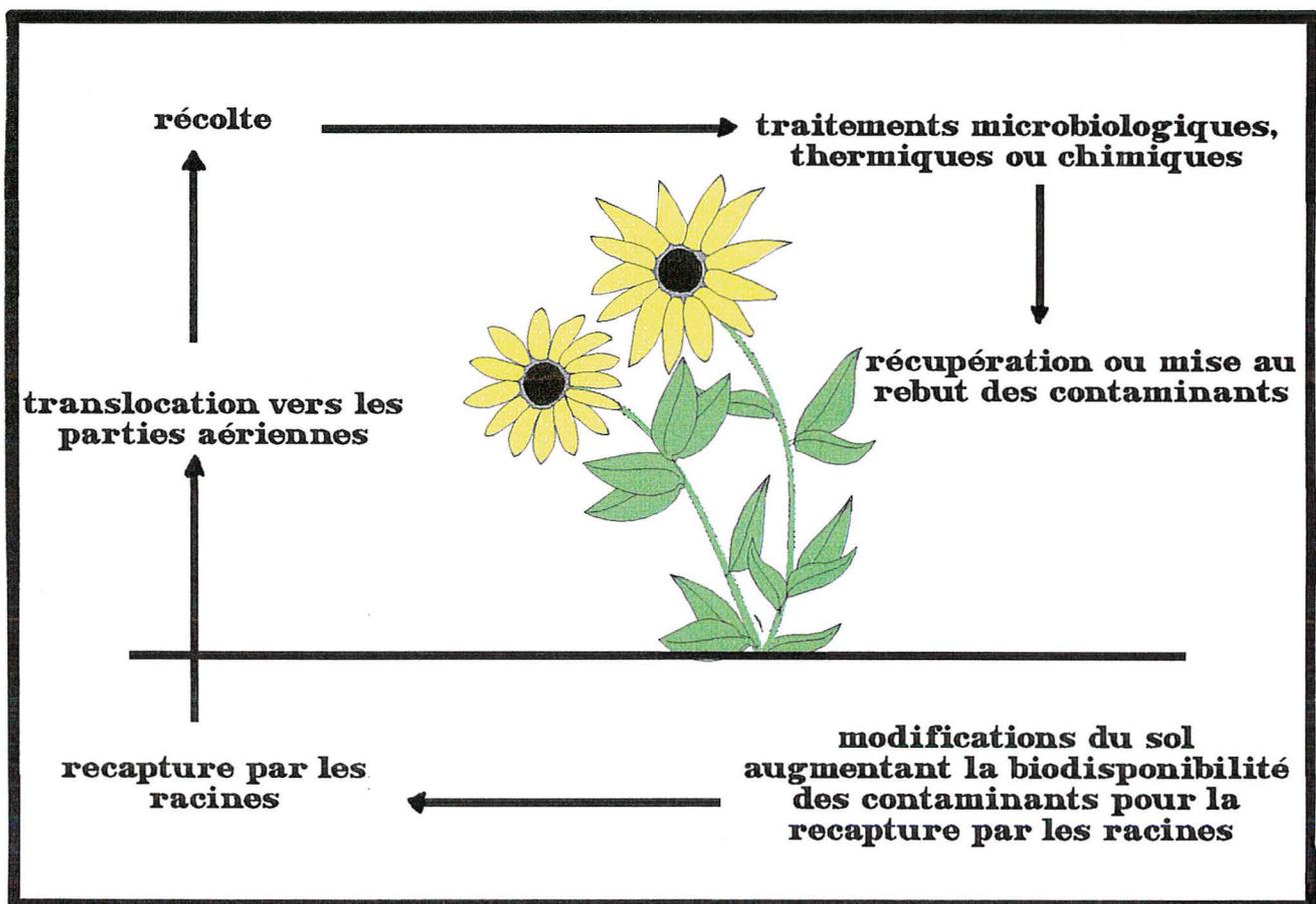
En effet, le concept de rémediation du sol par extraction des contaminants par les plantes a été proposé pour la première fois pour le cadmium (Cd) il y a plus de 10 ans (Utsunomiya, T. ; 1980).

D'autre part, la première expérience *in situ* qui a montré la faisabilité de la phytoextraction a été menée par l'équipe de Baker en 1991. L'étude a permis de montrer que *Thlaspi caerulescens* était capable d'extraire 30 kg de zinc et 143 g de cadmium par hectare, ce qui correspond à deux fois l'apport annuel de zinc autorisé pour les sols anglais (Baker et al, 1997).

C'est la voie dans laquelle les chercheurs se sont le plus investis depuis le début de cette dernière décennie.

Son principe utilise des plantes capables de prélever les éléments traces toxiques et de les accumuler dans les parties aériennes. Il s'agit ensuite de les récolter, puis de leur faire subir des traitements thermiques, microbiologiques et chimiques (figure n° 1). Les cendres pourront alors être mises en décharge ou mieux, réutilisées en métallurgie (Baker et al, 1997).

Figure 1 : Les procédés impliqués dans la phytoextraction des contaminants du sol (d'après Cunningham et al. 1995)



Depuis longtemps déjà, les botanistes systématiciens et les géologues à la recherche de gisements miniers ont rapporté l'existence de plantes tolérantes aux métaux. Elles colonisent les secteurs métallifères où les autres disparaissent. Cependant, la majorité de ces plantes accumulent dans leurs racines, les métaux dont seule une infime partie atteint les tissus aériens. Leur teneur, comme pour la plupart des espèces végétales, ne dépasse pas 0.005 à 0.05% de la matière sèche. En revanche, certaines plantes dites «hyperaccumulatrices» peuvent stocker de 10 à 500 fois plus d'éléments traces dans leurs tiges et leurs feuilles. C'est avec l'une d'entre elle, *Thlaspi caerulescens*, qu'Allan Baker et son équipe démontrèrent, en 1991, la faisabilité de la phytoextraction (Baker et al, 1991). L'expérience donna le signal de départ d'un effort international de recherche visant à optimiser la phytoextraction.

### 1.2.1. Une stratégie de séquestration

Pour pouvoir accumuler des quantités importantes d'un élément toxique dans ses tissus, une plante doit développer des mécanismes de défense. Cette «hypertolérance» repose sur le fait qu'une substance n'est néfaste pour un organisme que si elle s'insère dans son métabolisme. Les hyperaccumulateurs mettent en œuvre une stratégie de «séquestration» qui rend l'élément biologiquement indisponible bien que présent dans la plante. Ils recourent aux mécanismes suivants : la complexation du métal par une molécule organique et son stockage dans des vacuoles, compartiments cellulaires isolés (Baker et al, 1997). En règle générale, ce sont des acides organiques qui complexent les métaux. Ainsi, des molécules transporteuses comme les acides malique et malonique chélatent l'essentiel du nickel absorbé par les plantes du genre *Alyssum*. De nombreuses espèces, comme *Sebertia acuminata* (sève bleue), utilisent l'acide citrique. L'histidine, un acide aminé complexant, interviendrait également dans le transport du nickel dans la sève brute des espèces *Alyssum* (Baker et al, 1997). En revanche, les phytochélatines, des protéines racinaires jouant un rôle prépondérant chez les plantes «normalement» tolérantes (en particulier pour la séquestration du cadmium), n'interviendraient pas dans l'hypertolérance. Au-delà de ces connaissances, les mécanismes physiologiques de l'hyperaccumulation restent largement inconnus, ainsi que leurs bases génétiques.

L'hyperaccumulation n'est pas un mécanisme de tolérance circonstancielle mais un caractère constitutif de ces plantes. Elles accumulent, en effet, les éléments traces même lorsqu'on les cultive sur des sols peu contaminés (Baker et al, 1997).

Si l'on conçoit facilement l'avantage évolutif de la tolérance, celui de l'hyperaccumulation reste un objet de spéculation. L'excès de métaux dans les tissus protège les plantes contre les insectes ravageurs et les maladies fongiques. Par exemple, les micro-organismes pathogènes n'infectent pas l'hyperaccumulateur de nickel *Streptanthus polygaloides*. De même, criquets et limaces évitent les plants de *Thlaspi caerulescens*, répulsion qui augmente avec la concentration de zinc dans le sol et donc dans la plante (Baker et al, 1997).

### 1.2.2. Les hyperaccumulateurs

C'est au début des années quatre-vingt-dix que biologistes et agronomes ont commencé un recensement systématique des plantes hyperaccumulatrices. Ils ont répertorié environ 400 espèces.

#### ✓ Les accumulateurs de nickel

Trois cent espèces accumulent le nickel. La flore des sols à serpentines (roches métamorphiques riches en métaux) comprend un grand nombre de plantes contenant plus de 0,1% de nickel alors que chez des végétaux «ordinaires», ce métal devient toxique dès 0,005 à 0,01%. Le record revient à *Sebertia acuminata* (sève bleue), un arbre poussant sur les sols à serpentine de Nouvelle-Calédonie dont le latex contient plus de 20% de nickel. (Baker et al, 1997).

Ces hyperaccumulateurs de nickel appartiennent à diverses familles : *Brassicaceae*, *Violaceae*, *Flacourtiaceae*, *Cunoniaceae*, *Stackhousiaceae* et *Euphorbiaceae*. On les trouve sous les tropiques (Nouvelle-Calédonie, Asie, Cuba, Zimbabwe, Zambie), sous la forme de plantes ligneuses ou herbacées, et dans les régions tempérées, où les genres *Alyssum* et *Thlaspi*, de la famille des Brassicaceae, sont très fréquents (Europe, Californie) (Baker et al, 1997).

✓ Les accumulateurs de zinc

On dénombre une vingtaine d'espèces capables d'accumuler plus de 1% de zinc. Elles ont été identifiées sur des gisements métallifères affleurants mais également sur d'anciens sites miniers ou industriels comme la friche de Mortagne du Nord (Nord-Pas-de-Calais) qui offre une remarquable pelouse métallicole avec notamment *Cardaminopsis halleri*. Cet écosystème fait d'ailleurs l'objet de recherches dans le cadre d'un programme mis en place par le ministère de l'environnement et la région Nord-Pas-de-Calais.

Une autre plante : *Thlaspi caerulescens* peut accumuler jusqu'à 4% de zinc dans ses parties aériennes et coaccumuler le cadmium et le nickel (Baker et al, 1997 ).

✓ Les accumulateurs de cadmium

L'hyperaccumulation de cadmium correspond à des teneurs supérieures à 0,01% de la masse sèche et reste rare, mais certaines espèces peuvent contenir plus de 1%. En effet, il a été montré que *Thlaspi caerulescens* pouvait contenir 0,1% de cadmium dans ses tissus (et c'est une plante qui coaccumule jusqu'à 2% de zinc).

✓ Les accumulateurs de cuivre

On en recense 24 espèces en République démocratique du Congo (ex-Zaïre).

✓ Les accumulateurs de cobalt

Les hyperaccumulateurs de cobalt se retrouvent également en République démocratique du Congo. Parmi elles, on peut citer : *Ascolepis metallorum*, et *Silene cobalticola*. (Malaisse et al.1979 ).

✓ Les accumulateurs de sélénium

Quelques légumineuses du genre *Astragalus* que l'on retrouve sur des sites sélénifères, possèdent cette qualité. Elles sont capables d'emmagasiner jusqu'à 0,4% de sélénium dans leurs feuilles (Baker et al, 1997 ).

### ✓ Les accumulateurs de plomb

Seules cinq espèces peuvent accumuler le plomb dont *Armeria maritima* et *Thlaspi rotundifolium*. Il est à noter que les racines peinent pour absorber ce métal très peu mobile dans le sol. Ainsi, lorsque l'on observe des concentrations élevées de plomb dans les tissus, il peut s'agir de contaminations par des dépôts atmosphériques de particules contaminées. (Baker et al, 1997 ).

Ainsi, la phytoextraction du plomb reste un défi pour les chercheurs.

### ✓ Les accumulateurs de chrome

Récemment, quelques espèces ont été identifiées comme étant capables d'accumuler le chrome, il s'agit de certains roseaux comme *Scirpus lacustris* ou *Phragmites karka*.

#### 1.2.3. Pour croître sur un sol contaminé, une plante doit adapter sa morphologie.

En effet, le développement des racines reste un point clé dans l'efficacité de la dépollution. Dans leur milieu naturel, les hyperaccumulateurs peuvent développer des systèmes racinaires très profonds. Sur des sols pollués, il a été montré que les racines de *Thlaspi caerulescens* ont une remarquable tendance à s'installer dans les zones les plus fortement pourvues en métal. Par conséquent, lors de la mise en œuvre du traitement par les plantes, il est raisonnable de penser que le système racinaire s'installera préférentiellement dans les zones du sol à dépolluer.

#### 1.2.4. La mobilité de l'agent toxique conditionne l'efficacité du prélèvement par la plante.

Il existe des éléments traces très mobiles, comme le radionucléide artificiel Technétium, dont la forme oxydée  $TcO_4^-$  se comporte comme un nitrate (c'est à dire un composé soluble). Les plantes le traitent donc comme tel, et n'importe quelle espèce l'absorbe en grande quantité. Il suffit alors de cultiver une espèce à forte production de biomasse aérienne pour décontaminer rapidement un site (Baker et al, 1997).

Cependant, pour la plupart des métaux, la mobilité dépend étroitement des conditions de pH du sol et de la présence de substances complexantes qui peuvent jouer le rôle de transporteur. Ainsi, le rendement de la phytoextraction du zinc augmente quand le pH du sol diminue (Brown et al, 1994).

Des essais ont aussi montré que des substances complexantes comme l'EDTA (Acide ÉthylèneDiamineTétra-Acétique) facilitent le prélèvement du plomb par *Thlaspi rotundifolium* ou *Brassica juncea* (Blaylock et al, 1997). Mais ce genre d'adjuvant présente un risque : le plomb devenu mobile peut migrer vers les nappes souterraines sous l'action des eaux de pluie, provoquant une grave pollution.

#### 1.2.5. L'optimisation de phytoextraction par la biotechnologie

La biotechnologie, complément indispensable de l'agronomie cherche à améliorer des caractères tels que : la concentration des métaux dans les tissus (qui est le résultat de sa capture au niveau des racines puis de sa translocation vers les parties aériennes), la production de biomasse, la morphologie de la plante, la possibilité d'obtention de semences, le développement du système racinaire ou l'adaptation au climat.

Ying-Ming Li, un collaborateur de Rufus Chaney, utilise les techniques de sélection-croisement classiques pour augmenter aussi bien l'accumulation de cadmium que la production de biomasse de *Thlaspi caerulescens*. Dans le même laboratoire, Eric Brewer et James Sauders recourent à la fusion de protoplastes pour obtenir des hybrides de *T. caerulescens* et d'autres *Brassicaceae* (ces plantes sont trop éloignées pour les croiser par pollinisation).

Ces chercheurs espèrent combiner la forte production de biomasse et la facilité de récolte des *Brassicaceae* (contrairement à *T. caerulescens* qui pousse en rosette ce qui rend sa récolte difficile) non hyperaccumulatrices avec le caractère hyperaccumulateur de *T. caerulescens* (Baker et al, 1997).

Le procédé de phytoextraction a été amélioré grâce au génie génétique. En effet, grâce à la mutation d'un nombre de gènes réduit, la tolérance et la capacité d'accumulation de métaux traces ont été augmentées. Par exemple, un mutant de *Psium sativum*, muté en un seul gène, accumule 10 à 100 fois plus de fer que l'espèce sauvage (Cunningham et al, 1995). Similairement, un accumulateur mutant de *Arabidopsis* accumule 10 fois plus de manganèse que le type sauvage (Delhaize et al, 1994 ).

Richard Meager, de l'université de Géorgie (USA) cherche à obtenir des plantes et des arbres transgéniques capables d'accumuler le mercure, grâce au transfert du gène semi-synthétique Mer A9 d'une réductase bactérienne de l'ion mercurique (Meagher et al, 1995). Il a obtenu un premier succès avec la plante modèle *Arabidopsis thaliana* qui, une fois modifiée, tolère des niveaux d'ion mercurique supérieurs à 20 ppm par réduction du cation toxique  $Hg^{2+}$  en  $Hg^0$  lequel est relativement inerte (Rugh et al, 1996).

#### 1.2.6. Les avantages de l'utilisation de la phytoextraction :

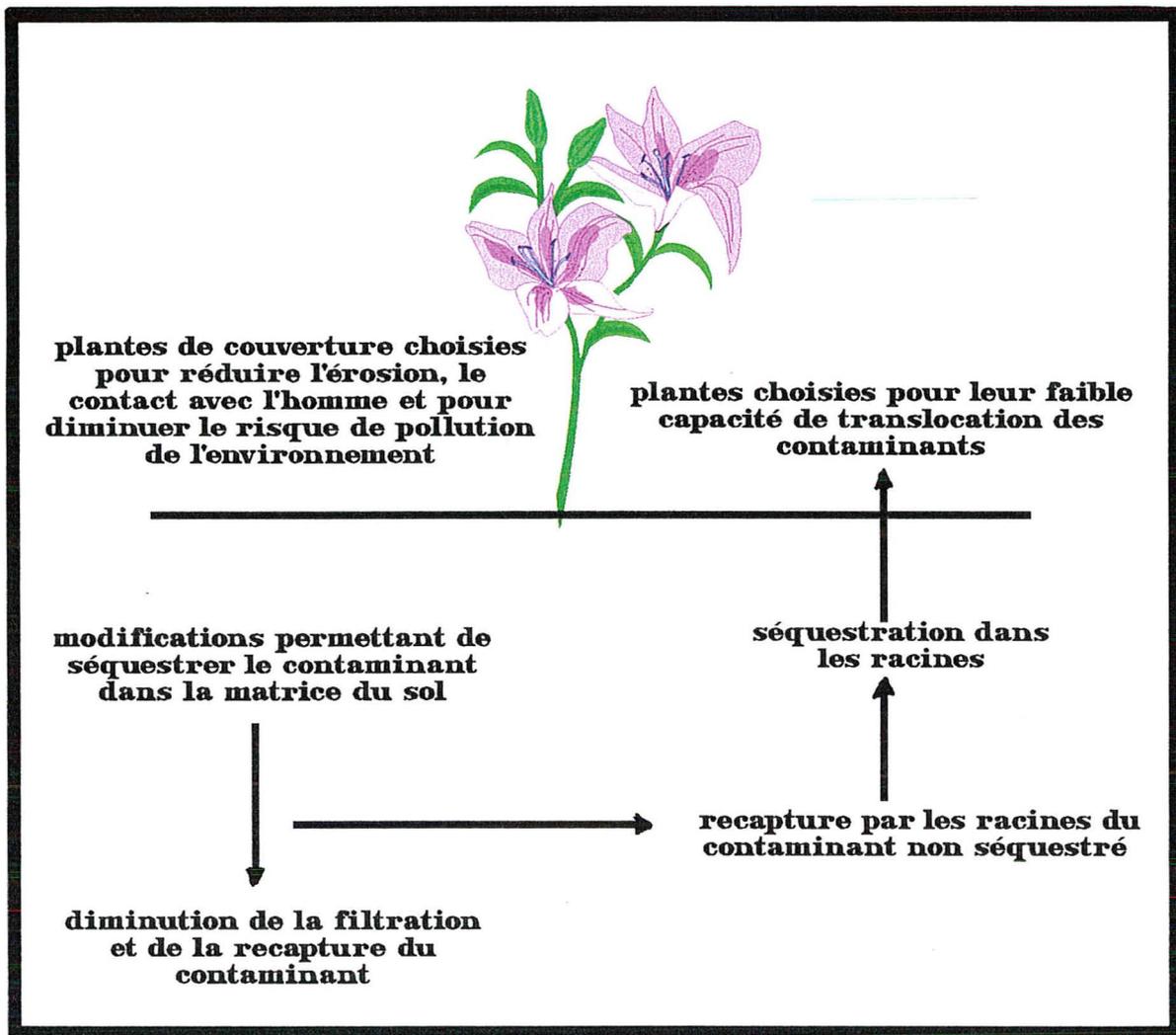
L'utilisation de plantes hyperaccumulatrices de métaux présente de nombreux avantages :

- ✓ Ce sont des procédés peu coûteux.
- ✓ Il y a génération de résidus (de plantes) riches en métaux qui sont recyclables.
- ✓ Ce procédé est applicable à une grande variété de métaux et aux radionucléides, dès lors que l'on a trouvé la plante qui accumule plus spécifiquement tel ou tel élément.
- ✓ Les perturbations causées par la mise en œuvre de la phytoextraction, au niveau de l'environnement sont minimales.
- ✓ Une fois le projet lancé, la maintenance à faire est très peu importante.
- ✓ L'opinion publique est favorable au principe.

### 1.3. Phytostabilisation

Ce procédé consiste à installer des végétaux tolérant la présence de substances toxiques dans le sol. L'avantage de cette voie est de limiter l'érosion et d'immobiliser la pollution dans les couches superficielles, évitant en particulier sa migration vers les eaux de surfaces et souterraines (Baker et al, 1997 ; Cunningham et al, 1997). Cependant, ce procédé ne réduit pas la quantité totale de polluants dans le sol (figure n°2).

Figure 2 : Les procédés permettant la phytostabilisation des sols contaminés (d'après Cunningham et al, 1995).



En fait, dans les sols biologiquement actifs, les contaminants organiques et inorganiques proviennent d'associations chimiques ou biologiques diverses. Bien que certaines de ces associations diminuent effectivement la disponibilité des contaminants pour la biorémédiation, elles réduisent la probabilité de filtration des contaminants dans les eaux de surface. Un tel procédé de séquestration inclue l'incorporation de composés organiques dans la lignine ou l'humus du sol, et la précipitation ou la séquestration de métaux sur des particules du sol qui sont ensuite piégées dans des petits pores à l'intérieur de la structure du sol. (Cunningham et al,1995).

Les techniques de phytostabilisation exploitent ce procédé pour diminuer toujours plus la biodisponibilité avec le but de réduire grandement ou même d'éliminer le tort fait à l'environnement, et le risque sur la santé humaine causé par le contaminant sur le site.

La pratique est bien avancée pour les métaux contaminant des sites miniers, cependant, des recherches s'effectuent pour des contaminants organiques.

Des modifications du sol peuvent être utilisées pour altérer la chimie du sol et séquestrer le métal contaminant, celui-ci ayant un effet présumé néfaste sur l'environnement. Les modifications qui peuvent être faites sont des apports de compost, de vase, d'ions inorganiques (comme des ions phosphate) ou d'oxyde et hydroxyde métalliques.

Le rôle des plantes est d'accroître (figure n°2) :

- la séquestration du contaminant par altération du flux d'eau dans le sol.
- l'incorporation de contaminant libre résiduel dans les racines.
- la prévention de l'érosion par le vent et la pluie.

Les plantes peuvent être choisies en fonction du mécanisme qu'elles utilisent pour améliorer la séquestration des polluants. En effet, certaines plantes vont utiliser des réactions d'oxydoréduction (ex : la transformation du chrome VI en chrome III ), d'autres favoriseront la précipitation du contaminant dans sa forme insoluble (ex : précipitation du fer en fer phosphaté), enfin d'autres plantes pourront incorporer des composés organiques dans leur lignine (par la suite inextractible dans des solvants chimiques et dans l'enfouragement des animaux).

Les techniques de phytostabilisation sont plus appropriées pour des matériaux relativement immobiles, pour des grandes surfaces et des sols avec de fortes concentrations en matières organiques (Cunningham et al,1995).

Les techniques sont actuellement acceptables pour la rémédiation de sites miniers, mais relativement peu pour des sites contaminés par des contaminants industriels ou urbains

## **1.4. La biodégradation au niveau de la rhizosphère.**

Parallèlement à une dégradation des composés organiques propre à la plante, cette dernière apporte à la rhizosphère des exsudats qui seront le support de nombreuses bactéries. Par le transport d'oxygène, et la transpiration d'eau, les plantes peuvent maintenir des conditions aérobies dans la rhizosphère qui sont souvent bénéfiques pour la dégradation microbienne (Goel et al, 1997).

### 1.4.1. Définition de la rhizosphère :

Dans le sol, les micro-organismes peuvent se trouver libres ou en association avec d'autres organismes, notamment les plantes. Les micro-organismes se trouvent donc influencés par ces plantes dans la zone du sol proche des racines.

La rhizosphère, composée d'une partie biotique et d'une partie abiotique (Anderson and Coats, 1994), est située à l'interface du sol et des racines.

Les racines hébergent des mycorhizes qui métabolisent les polluants organiques. Ces champignons qui grandissent en association symbiotique avec les plantes, possèdent des systèmes enzymatiques qui aident à dégrader les composés organiques ne pouvant pas être uniquement transformés par les bactéries.

Les plantes fournissent un support pour la croissance des populations microbiennes et représentent une pompe à oxygène pour les racines, un procédé qui assure les transformations aérobies près des racines (sans quoi elles ne pourraient pas avoir lieu dans la plupart des sols).

Les assemblages microbiens sont abondants dans la rhizosphère. Classiquement on compte  $5 \cdot 10^6$  bactéries,  $9 \cdot 10^5$  actinomycètes et  $2 \cdot 10^3$  champignons par gramme de sol séché à l'air. Les bactéries vivent en colonies qui recouvrent quelque chose comme 4 à 10% de la surface des racines des plantes (Schnoor and al, 1995).

#### 1.4.2. Influence de la plante sur la communauté microbienne de la rhizosphère

Le degré de dégradation de xénobiotiques dans la rhizosphère du sol apparaît comme étant lié à l'espèce de la plante impliquée. Les plantes sont connues pour la diversité dans leur morphologie, leur métabolisme primaire et secondaire et leurs interactions écologiques avec d'autres organismes. Des investigations sont en cours pour examiner les caractéristiques de l'absorption de la paroi cellulaire des racines et la recapture de xénobiotiques par les plantes. Les résultats montrent que la paroi cellulaire et la recapture des plantes peuvent restreindre la dégradation microbienne par contrôle de la biodisponibilité des xénobiotiques au sein de l'écosystème que forme la rhizosphère.

Des études ont mis en évidence que les racines étaient capables d'exsuder des éléments dont des composés organiques de faible poids moléculaire (sucres, acides organiques, acide phénolique) et des polymères organiques de haut poids moléculaire comme les polysaccharides et l'acide polygalactique (Shann, 1995). D'autres recherches sont en cours pour examiner la qualité et la quantité d'exsudat fourni par les racines des plantes.

Quant au rôle de cet exsudat, il est suggéré qu'il puisse influencer la dégradation par altération directe de la communauté microbienne et ainsi stimuler la dégradation du xénobiotique (Schnoor et al, 1995).

Le sort de nombreux xénobiotiques introduits dans cette zone du sol dépend des constituants eux-mêmes (plantes, sol, micro-organismes) et de leurs interactions. Ces constituants sont clairement soumis à des fluctuations externes de leur environnement physique et chimique, mais ils sont aussi capables de modifier cet environnement. Les mécanismes proposés pour expliquer l'augmentation de la dégradation observée dans les systèmes végétatifs ou dans la rhizosphère supposent qu'ils soient en relation avec l'introduction de constituants carbonés par les racines des plantes.

Ces constituants peuvent être alors :

- Le support d'un grand nombre d'organismes, les dégradeurs inclus
- Fournisseur de substrat de croissance pour un co-métabolisme

Les plantes libèrent des exsudats qui stimulent les transformations bactériennes et accroissent le carbone organique dans la rhizosphère.

De plus, la rapide dégénérescence de la biomasse des fines racines peut représenter un apport important de carbone organique dans les sols. Cet apport de carbone organique augmente le taux de minéralisation microbienne et provoque un retard dans le transport des composés chimiques dans l'eau du sol. D'ailleurs, des études menées sur l'atrazine ont montré que la minéralisation de ce pesticide était directement en rapport avec la fraction de carbone organique dans le sol (Schnoor et al, 1995).

## **2. La phytoremédiation des composés organiques**

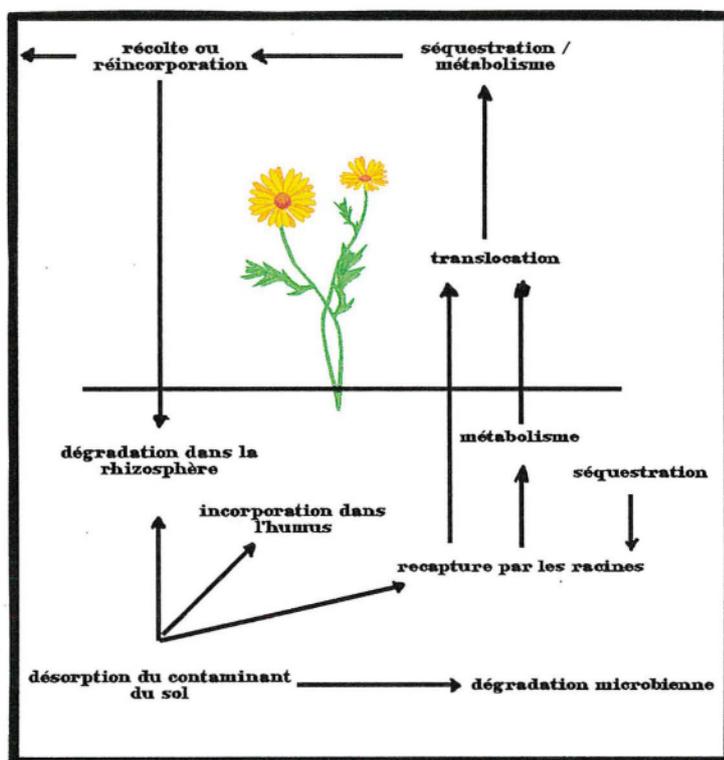
Le mouvement d'un composé organique dans le sol dépend de sa solubilité dans l'eau, de sa pression de vaporisation, de son poids moléculaire, de sa charge et de la présence d'autres composés organiques dans le sol.

La capacité d'une plante d'absorber et de séquestrer les composés organiques est directement associée à la quantité de matière organique contenue dans le sol, au type et à la quantité d'argile présente, à la structure du sol, et au pH.

En effet, les contaminants qui sont fortement adsorbés aux particules du sol sont difficilement recaptés par les plantes et font de piètres cibles pour la phytoremédiation. Par exemple, la biodisponibilité des pesticides est diminuée dans les sols contenant une grande quantité de matière organique. D'autre part, la biodisponibilité de nombreux autres contaminants organiques décroît avec le temps ; on peut donc s'attendre à ce que les «vieux» contaminants soient plus difficilement la cible de procédés de phytoremédiation que ceux résultant d'une contamination plus récente (Cunningham et Ow, 1996 ; Cunningham et al, 1995).

La translocation de composés organiques est dépendante des propriétés de lipophilie comme le coefficient de partage octanol-eau ( $K_{ow}$ ).

Figure 3 : Les procédés de phytoremédiation qui éliminent les contaminants organiques du sol : (d'après Cunningham et al. 1995)



a) Une fois absorbé, ce composé peut être consigné dans les tissus de la plante (sous forme de métabolites non phytotoxiques) via la lignification sous une forme qui n'est pas biologiquement disponible. C'est la phytoextraction ou la phytoaccumulation.

La capture directe de composés organiques par les plantes est un mécanisme de transport étonnamment efficace pour des composés chimiques modérément hydrophobes sur des sites contaminés superficiellement. Ceci concerne les solvants chlorés, les composés chimiques aliphatiques à chaînes courtes, le benzène, le toluène, l'éthylbenzène et le xylène (Schnoor and al, 1995).

Les composés hydrophobes ( $\text{Log } K_{ow} < 2.1$ ) quant à eux, sont fortement liés à la surface des racines ils ne sont donc pas facilement transloqués à l'intérieur de la plante (Bruken et Schnoor, 1996).

La capture directe d'un composé chimique par les racines dépend de l'efficacité de la capture de la plante, du taux de transpiration mais aussi de la concentration du composé chimique dans l'eau du sol. L'efficacité de la recapture dépend, quant à elle, des propriétés physiques et chimiques du contaminant et de la plante elle-même. La transpiration est une variable clé qui détermine le taux de recapture d'un composé chimique pour un schéma de phytoremédiation donné.

Ce taux est dépendant du type de plante, de la surface de ses feuilles, des nutriments, de l'humidité du sol, des conditions de vent et de l'humidité relative (Schnoor et al, 1995).

Dans les sols sableux avec peu de matière organique, les schémas d'absorption par les racines puis la récolte peuvent être mis à l'essai. Un procédé breveté utilise les carottes pour absorber le dichloro-diphényl-trichloroéthane. Les carottes sont ensuite récoltées, séchées au soleil et incinérées pour détruire le contaminant. Dans ce procédé, le contaminant lipophile se retrouve dans les lipides contenus dans les racines des carottes (Cunningham et al, 1996).

- b) Le contaminant organique peut être directement extrait du sol et s'accumuler dans les racines des plantes puis, subir une translocation par le xylème pour être ensuite volatilisé à la surface des feuilles. C'est le procédé dit de phytovolatilisation.

Il est à noter que ces deux destins ont des limites physiques et logistiques potentielles significatives qui réduisent leurs applications à seulement quelques situations.

- c) A la différence des polluants inorganiques qui sont inaltérables à l'état fondamental, les polluants organiques peuvent être dégradés ou même minéralisés par les plantes ou leur association avec des micro-organismes car les plantes ont une activité métabolique significative dans les racines et dans les pousses (Cunningham and Ow, 1996). Quelques-unes de ces enzymes métaboliques peuvent être utilisées en phytoremédiation.

Les plantes peuvent libérer des exsudats dans le sol environnant qui aide à la dégradation des produits chimiques organiques. Cet exsudat (composé de sucres, d'alcool et d'acides) de la plante peut représenter 10 à 20% de la photosynthèse annuelle de base (Schnoor et al, 1995).

Après avoir examiné les réactions enzymatiques dans les plantes poussant dans des sédiments, les plantes du sol, et les systèmes d'exsudats, il a été mis en évidence une activité naturelle significative dans la transformation de contaminants mélangés à des sédiments ou au sol. Des enzymes ont été isolées des plantes et sont reconnues comme étant responsables de cette transformation.

Une étude menée dans des laboratoires grecques a permis d'identifier cinq systèmes enzymatiques : déhalogénase, nitroréductase, peroxydase, laccase et nitrilase. Ceci nous montre que, naturellement, les plantes ont un potentiel de phytoremédiation et l'on peut penser que les développements futurs seront axés sur la découverte d'autres systèmes enzymatiques capables de dégrader des composés chimiques intéressants.

Le tableau 1 présente quelques plantes et leurs enzymes associées dégradant les composés chimiques organiques (Schnoor et al, 1995).

C'est par l'utilisation rigoureuse des balances de masses et d'analyses que l'équipe de Schnoor a pu mettre en évidence que les nitroréductases et les laccases décomposent les résidus d'explosifs (comme le 2,4,6, trinitrotoluène ou TNT) et incorporent les structures décomposées dans le nouveau matériel de la plante ou dans les détritiques organiques qui formeront un dépôt de matière organique. Une autre enzyme dérivée d'une plante, la déhalogénase, aide à réduire les solvants chlorés comme le trichloroéthylène (TCE) en ion chlorure, dioxyde de carbone et en eau.

Cette capacité naturelle des plantes peut être augmentée par l'activité de la communauté microbienne qui se situe autour des racines, mais aussi dans les tissus racinaires, des pousses et des feuilles ainsi qu'à la surface de ces dernières.

Les micro-organismes du sol et de la rhizosphère peuvent jouer un rôle majeur dans la décomposition de nombreux contaminants organiques. Récemment, la recherche en rémédiation, originellement centrée sur les activités microbiennes, s'est intéressée à la capacité de dégradation des plantes. L'isolement d'enzymes de sédiments qui avaient un potentiel de dégradation du TNT a permis de découvrir que les enzymes avaient pour origine des plantes et non des bactéries.

**Tableau 1: Les systèmes enzymatiques isolés de plantes (d'après Cunningham et Ow, 1995).**

Les systèmes enzymatiques ont montré une efficacité dans la rémédiation de composés nitroaromatiques (comme le TNT), d'hydrocarbures halogénés (comme les solvants chlorés et les pesticides) et les anilines (comme le 2,4,6, triaminotoluène).

Plantes	Demi vie (h) du composé organique		
	Nitroréductase du TNT	Déhalogénase du hexachloroéthane	Laccase du 2,4,6,- triamino-toluène
<i>Algae Nitella</i> (stonewort)	10-50	90	70.
<i>Eleocharis</i> sp.	20-110		
<i>Anthrocerotae</i> sp.	10-67	120	
<i>Algae Spirogyra</i>	4-100	95	
<i>Potamogeton pusillus</i>	8-57		
<i>Myriophyllum spicatum</i> (plume de perroquet)	20-240	120	70
<i>Lemna minor</i>	20		
<i>Hydrilla verticilata</i>	12		
<i>Sagittaria</i> sp.	35		
<i>Nostoc</i> sp. (algue bleue-verte)	60		
<i>Chara</i> sp.	75		
<b><i>Populus</i> sp.</b>	<b>&lt;10</b>	<b>50</b>	

Il est à noter que les valeurs de demi-vie dépendent de la concentration initiale du contaminant et de la proportion d'eau.

### **2.1. Les herbicides**

Les herbicides sont économiquement essentiels pour l'agriculture. La production de maïs (*Zea Mays*), de coton (*Gossypium hirsutum*), soja (*Glycine max*) et d'autres plantes cultivées qui était autrefois un travail intensif, est devenue plus efficace avec un contrôle chimique sur les mauvaises herbes.

Les herbicides persistants (c'est à dire récalcitrants à la dégradation) sont utilisés préférentiellement pour une protection prolongée.

La persistance de ces herbicides fait d'eux un problème environnemental s'ils sont filtrés ou transportés, car ils peuvent polluer les eaux de surface et du sous-sol.

Il y a aux Etats-Unis, 26.3 millions d'hectares sur lesquels du blé est produit, 4 millions d'hectares de coton et 21 millions d'hectares de soja. En 1993, l'utilisation globale d'herbicides chimiques sur ces terres (51 millions d'hectares) est estimée à 117 millions de kg (Stoeckel et al, 1997). La littérature scientifique indique que la plupart de ces herbicides ne quittent pas le champ, une partie est éliminée par lavage dû à l'écoulement de surface ou filtrée, une autre partie est dégradée par la lumière du soleil par photolyse et une autre fraction peut être volatilisée. Parmi ces herbicides persistants on trouve entre autre l'atrazine (utilisée sur le maïs) et le fluométuron.

L'eau du sol et les sols associés à des aménagements agrochimiques ont été trouvés contaminés par des pesticides variés et par des solvants organiques. Afin de prévenir la dégradation de la qualité de l'environnement, ces sites doivent être nettoyés.

#### 2.1.1. L'atrazine [2-chloro-4-(éthylamino)-6-(isopropylamino)-s-triazine]

L'atrazine est un herbicide de la famille chimique des triazines. Il est absorbé par les racines et les feuilles. Il est très efficace sur les graminées adventices et de nombreuses herbes faisant parties de la famille des dicotylédones. Sa demi vie est de 2 semaines à 4 mois après son application.

La moyenne des valeurs pour la demi-vie est de 2 mois. L'atrazine n'est pas très soluble dans l'eau ce qui limite sa mobilité dans le sol, cependant, malgré sa faible mobilité, elle est souvent trouvée comme contaminant des eaux du sous-sol (surtout dans l'Est des USA).

L'atrazine est très peu volatilisée dans l'atmosphère, et les mécanismes principaux d'élimination de l'atrazine sont des dégradations chimiques et biologiques (Stoeckel et al, 1997).

La translocation de composés organiques est dépendante des propriétés de lipophilie comme le coefficient de répartition octanol-eau ( $K_{ow}$ ).

Pour des composés de structure similaire et de même poids moléculaire, la recapture et la translocation est la plus importante pour un composé dont le log  $K_{ow}$  a des valeurs comprises entre 1 et 3.

Quant aux composés très hydrophobes ( $\log K_{ow} > 2,1$ ), ils vont se lier aux lipides membranaires avant d'entrer dans le xylème. Pour les composés très peu hydrophobes ( $\log K_{ow} < 2,1$ ), ils ne passeront pas les lipides membranaires associés aux couches épidermiques des racines (Bruken et Schnoor, 1996). L'atrazine a un  $\log K_{ow}$  de 2,56 à 25°C. On peut donc penser que la recapture et la translocation de l'atrazine du sol vers la plante est possible.

Une équipe de chercheurs s'est posée la question de savoir si le devenir de l'atrazine pouvait être influencé par un mélange de plusieurs pesticides. Les résultats montrent que la demi vie de l'atrazine (45 jours) n'est pas significativement modifiée par l'apport de multiples herbicides comme du trifluraline et/ou du métolachlore (2-chloro-N-(2-éthyl-6-méthylphényl)N-(2-méthoxy-1-méthyléthyl)acétamide) (Kruger et al, 1997).

L'équipe de Kruger a ensuite cherché à déterminer si l'apport de hautes concentrations d'herbicides mélangés ne pouvait pas supprimer la minéralisation de l'atrazine.

Quatre traitements ont été évalués : atrazine seule, atrazine et métolachlore, atrazine et trifluraline, atrazine, métolachlore et trifluraline. Il ressort de cette expérience que la minéralisation de l'atrazine n'est pas supprimée par de hautes concentrations d'herbicides mélangés. Le taux de minéralisation de l'atrazine dans les sols traités par des mélanges d'herbicides (200µg/ g de chaque) est approximativement deux fois plus élevé que celui obtenu lorsque l'on applique 50µg/g d'atrazine seule. Après 9 semaines, il n'y a plus de différences significatives des pourcentages d'atrazine totale minéralisée entre les quatre traitements (Kruger et al, 1997).

#### ***2.1.1.1. La recapture de l'atrazine par les peupliers***

Une étude menée par Burken et Schnoor montre que les peupliers ont un potentiel de phytoremédiation. En effet, les peupliers sont capables de capter, d'hydrolyser, et de déalkyler l'atrazine en métabolites moins toxiques (Bruken et Schnoor, 1997).

Dans des bioréacteurs contenant du sable ou du terreau de vase, les chercheurs ont transplanté des plants de *Populus deltoides x nigra* (le peuplier hybride de Caroline impérial) de taille standard.

Les bioréacteurs sont ensuite traités par une quantité d'atrazine marquée au  $^{14}\text{C}$  équivalente à trois fois la dose appliquée classiquement par les agriculteurs pour une surface donnée, puis la croissance des peupliers se fait au laboratoire où les paramètres d'éclairage, d'apport de nutriments, de température sont constants.

La quantité de radioactivité est ensuite mesurée au niveau des racines, des tiges et des feuilles des plants de peupliers à des intervalles de temps prédéfinis (Bruken et Schnoor, 1996).

Les résultats montrent que les peupliers permettent la diminution des concentrations d'atrazine dans le sol contaminé. La recapture directe de l'atrazine est plus importante dans le sable que dans le terreau de vase. En effet, la recapture totale, déterminée en pourcentage de  $^{14}\text{C}$  appliqué, est de 30% en 80 jours pour les arbres poussant dans le terreau et récoltés et de plus de 90% en 9 jours pour les peupliers poussant dans le sable (Bruken et Schnoor, 1996).

Ce pourcentage ne progresse plus même si l'on prolonge la période de croissance dans le sable (Bruken et Schnoor, 1997). La différence de recapture des arbres en fonction du type de sol sur lequel ils poussent est due au fait que le terreau est riche en matières organiques tandis que le sol sableux est pauvre en matières organiques. Or, cette dernière fait souvent l'objet d'une sorption d'une fraction organique (qui est ici l'atrazine).

Ainsi, un haut degré de sorption dans un sol organique limite la mobilité du contaminant. Ce qui explique la meilleure efficacité de recapture des plants de peupliers poussant dans le sol sablonneux (Bruken et Schnoor, 1996).

#### *2.1.1.2. La minéralisation de l'atrazine par les peupliers*

La minéralisation de l'atrazine par les plants de peupliers plantés dans les bioréacteurs est beaucoup plus importante pour les peupliers poussant dans le terreau que ceux poussant dans le sable. Ceci peut s'expliquer par un plus petit nombre de micro-organismes associés au sol sableux contrairement au terreau agricole. Les taux de minéralisation sont observés au cours du temps.

Les résultats montrent que dans les bioréacteurs contenant le terreau, après 25 jours, le taux de minéralisation de l'atrazine commence à diminuer par rapport au taux de minéralisation de l'atrazine mesuré dans les bioréacteurs de contrôle (c'est à dire non plantés). Ceci s'explique par la diminution de la concentration de l'atrazine résultant de sa recapture par les peupliers. Il y a une diminution de  $^{14}\text{C}$  extractible et mobile au fur et à mesure que se prolonge l'expérience (Burken et Schnoor, 1996).

Dans les bioréacteurs contenant du sable, on ne note pas différence de baisse du taux de minéralisation de l'atrazine entre ceux qui sont plantés et ceux qui ne le sont pas (les témoins). Mais ce n'est pas le cas pour les bioréacteurs contenant du terreau.

Car dans les bioréacteurs plantés, on mesure un plus haut taux de minéralisation de l'atrazine que dans ceux non plantés mais cette différence disparaît quasi totalement après 6 jours car 90% de l'atrazine apportée a déjà été éliminée du sol. Il ne reste donc que très peu d'atrazine susceptible d'être biominéralisée les jours suivants (Burken et Schnoor, 1996).

Des études ont également été menées dans des microcosmes où la minéralisation est là aussi plus importante dans un terreau que dans le sol ce qui est cohérent avec la minéralisation mesurée lors des études de la recapture de l'atrazine par les peupliers hybrides. Dans le microcosme contenant du terreau, la minéralisation est modérément accrue (+ 23%) lors de l'ajout d'exsudat racinaire en comparaison au microcosme témoin dans lequel on ajoute de l'acétate.

Les données sur les microcosmes sableux révèlent également une augmentation (+16%) de la minéralisation de l'atrazine lors d'un apport d'exsudat par rapport au microcosme témoin. Cependant, l'augmentation dans le sol sableux est plus faible que dans le terreau.

Une troisième expérience qui consistait à ajouter des tissus racinaires dans un microcosme sableux a montré un très fort accroissement de la minéralisation (+165%).

Il a été ensuite supposé que des enzymes identifiées dans les tissus racinaires des peupliers avaient des capacités catalytiques dans la déhalogénéation et la dégradation de l'atrazine (Burken et Schnoor, 1996).

Tous les résultats nous poussent à croire que l'apport de composés organiques (exsudat racinaire ou biomasse) aux peupliers stimule la minéralisation de l'atrazine aussi bien dans un sable sans composé organique que dans un sol agricole contenant des composés organiques.

Ainsi, l'utilisation de peupliers hybrides présente l'avantage de voir rapidement diminuer la concentration d'atrazine du sol et à long terme, de profiter de l'augmentation de la minéralisation microbienne par apport naturel d'exsudats racinaire provenant des peupliers.

Des peupliers ont d'ailleurs été déjà plantés en bordure de champ se trouvant à coté de petits ruisseaux. Le but recherché été alors d'intercepter et déplacer l'atrazine et les nitrates avant qu'ils ne soient déversés dans le ruisseau et dans les eaux de surface. Les quantités de nitrate dans l'eau de surface passent de 50 –100 mg. L<sup>-1</sup> à moins de 5 mg.L<sup>-1</sup>.

Quant à l'atrazine, suite à cette étude on a montré que 10 à 20 % de l'atrazine appliquée été captée par les peupliers (Schnoor et al, 1995).

### 2.1.1.3. Influence des plantes sur la dégradation de l'atrazine

Les plantes facilitent la prolifération des micro-organismes à la surface du sol en exsudant des hydrates de carbone et des aminoacides dans la région des racines. Cette région paraît fournir un environnement favorable à un co-métabolisme, conduisant à l'augmentation de la dégradation de composés organiques xénobiotiques dans la rhizosphère. Ainsi, les interactions synergiques de la communauté microbienne de la rhizosphère facilitent la dégradation de composés récalcitrants.

Sur les sites contaminés par des pesticides, la végétation peut être inhibée par la présence d'herbicides.

Les plantes qui survivent sur ces sols contaminés ont fait l'objet de recherches qui ont montré que les sols rhizosphériques de ces plantes avaient la capacité de dégrader des mélanges d'herbicides. L'une de ces plantes est *Kochia scoparia*, qui permet une augmentation de la minéralisation de l'atrazine au niveau de sa rhizosphère (Perkovich et al, 1996).

Une expérience menée par l'équipe de Kruger (1997) a tenté d'évaluer l'influence des espèces de plantes sur la minéralisation de l'atrazine.

Dans des échantillons de sol contenant déjà 0.3µg/g de l'herbicide métolachlore et des traces d'atrazine, on ajoute une solution de ces deux herbicides afin d'apporter au total 50µg/g de chaque (seule l'atrazine est marquée au <sup>14</sup>C). Après 165 jours, les bocaux d'incubation sont ouverts, certains sont alors plantés avec *Kochia scoparia* ou *Brassica napus* tandis que d'autres restent tels quels (c'est à dire non plantés). Puis ces bocaux sont placés dans des conditions constantes afin d'être sûr que l'incorporation de <sup>14</sup>C dans la plante soit uniquement due à sa capture dans le sol.

Vingt sept jours après la plantation, les plantes de *Brassica napus*, semblent perdre de leur vigueur, ainsi tous les échantillons plantés avec des plants de *Brassica napus*, une partie des échantillons plantés avec *Kochia scoparia* et certains échantillons non plantés sont analysés.

Les plants de *Kochia scoparia* étant en bonne santé, l'expérience se poursuit pour des échantillons plantés et non plantés.

Au bout de 240 jours après l'apport d'herbicides (soit 75 jours après la plantation), l'expérience prend fin et tous les échantillons restant sont alors analysés. Les résultats montrent qu'après 27 jours de plantation, il y a significativement moins d'atrazine extractible dans les sols plantés avec *Kochia scoparia* (4,3% de l'atrazine marquée extractible de ce sol) en comparaison avec des sols plantés avec *Brassica napus* (9,8%).

On constate également une quantité de  $^{14}\text{C}$  significativement plus grande dans les tissus de *Kochia scoparia* (10% du  $^{14}\text{C}$  apporté) que dans les tissus de *Brassica napus* (moins de 1%).

Après 75 jours de plantation (240 jours après l'apport d'herbicide), on constate qu'il y a significativement moins d'atrazine extractible des sols plantés avec *Kochia scoparia* (5,3% de l'atrazine apportée) que dans les échantillons non plantés (8,3%) (Kruger et al, 1997).

Les plantes ont donc une influence positive sur la dissipation de l'atrazine avec notamment *Kochia scoparia* qui peut être utilisée pour faciliter la dégradation de l'atrazine (Perkovich et al, 1996) et ainsi aider à la dépollution des sols contaminés par cet herbicide.

#### 2.1.2. Le fluométuron : N, N-diméthyl-N-[trifluorométhyl (phényl)]urée.

Le fluométuron est un herbicide très utilisé dans la culture du coton au Sud Est des Etats-Unis. Les mécanismes principaux d'élimination du fluométuron sont des dégradations biologiques et sa filtration. C'est un herbicide moyennement persistant dans l'environnement avec une demi-vie dans le sol de 49 à 364 jours (Stoeckel et al, 1997).

La biostimulation est une méthode qui est efficace pour la rémédiation des sols contaminés par une grande variété de xénobiotiques. L'utilisation de modifications du sol appropriées, peut accroître le potentiel de dégradation des populations microbiennes telluriques indigènes. Les plantes ont été étudiées en tant que biostimulatrices de sols contaminés par différents herbicides.

Dans leur étude, Wagner et Zablutowicz ont apporté dans un sol très contaminé par du fluométuron (500 moles/kg de sol) différents résidus de plantes : *Vicia villosa* Roth (la vesce velue), *Oryza sativa* L. (le riz) et *Lolium multiflorum* L. (l'ivraie).

Les résultats montrent que de fortes concentrations de fluométuron dans le sol sont significativement diminuées par l'apport de résidus de plantes par rapport au sol non modifié.

Tous les résidus de plantes étudiés, permettent une augmentation de la dégradation du fluométuron mais le riz a le plus grand effet. D'autre part, les trois résidus de plantes étudiés accroissent de façon significative les populations microbiennes telluriques ainsi que l'activité de leurs enzymes. Cependant à court terme, l'ivraie permet la plus grande stimulation de la dégradation du fluométuron.

Les résidus des plantes ont également une grande capacité de sorption des herbicides. En réduisant le niveau de concentration du pesticide dans le sol ceci peut réduire le potentiel de toxicité pour les micro-organismes. Cependant, si les contaminants restent trop fortement fixés aux plantes, ils peuvent être ainsi rendus indisponibles pour les dégradations microbiennes (Wagner et Zablotowicz, 1997).

La biostimulation par les plantes est une approche très prometteuse de la biorémediation des sols contaminés par des herbicides. C'est un principe qui ne coûte pas cher, qui tient compte de l'environnement, et dont la mise en œuvre ne nécessite pas l'utilisation de hautes technologies.

### 2.1.3. Les herbicides de la famille des chloroacétamides :

La contamination de certains sols avec des herbicides pose un problème environnemental. Les herbicides chloroacétamidés comme alachlore [2-chloro-N-(2,6-diéthylphényl)-N-(méthoxyméthyl)acétamide] et le métolachlore [2-chloro-N-(2-éthyl-6-méthylphényl)N-(2-méthoxy-1-méthyléthyl)acétamide] sont des contaminants courants dus à des apports d'herbicides chimiques agricoles.

Robert Hoagland et son équipe ont testé un système de phytoremédiation utilisant des grains de maïs (*Zea mays* L.), un phytoprotecteur spécifique (c'est à dire une matière active qui va protéger la plante de maïs contre l'action de l'herbicide en dégradant celui-ci au niveau de la plante seulement) pour chloroacétamides (bénoxacor : 4-(dichloroacétyl)-3,4-dihydro-3-méthyl-2H-1,4-benzoxazine), et un inoculum d'une souche de *Pseudomonas fluorescens* (UA5-40rif) capable de cataboliser cet herbicide. Cette équipe a montré que le maïs peut être utilisé pour accélérer la dissipation de très hauts niveaux d'alachlore (36 kg.ha<sup>-1</sup>) et de métolachlore (54 à 162 kg.ha<sup>-1</sup>) dans le sol. Bien que cette étude soit courte dans le temps et basée sur un système modèle avec des conditions de croissance en laboratoire.

Cette espèce de plante domestique que représente le maïs peut être modifiée chimiquement et microbiologiquement pour augmenter sa tolérance aux herbicides (Hoagland et al, 1997).

Les phytoprotecteurs chimiques sont bien utilisés par les producteurs agricoles pour minimiser le préjudice fait par les herbicides appliqués à la plante cultivée et les recherches continuent afin de trouver des composés plus efficaces. Mais ces mêmes phytoprotecteurs chimiques peuvent être utilisés dans le développement de la phytoremédiation comme une technologie de rémediation des sols contaminés par des herbicides qui permettra l'utilisation de cultures traditionnelles pour la phytoremédiation. De plus, les résultats de l'expérience montrent que l'inoculation d'une bactérie augmente encore le catabolisme des herbicides du sol et peut aussi jouer le rôle de phytoprotecteur.

En effet, après avoir traité le sol par un taux de métolachlore dilué 36 fois (par rapport à la solution initiale pure), on constate que les quantités de résidus dans les sols traités sont de 89%, 80%, 75%, respectivement, pour les sols non plantés, le maïs seul, le maïs traité par du bénoxacor. Mais le meilleur résultat est obtenu pour les plants de maïs traités par du benoxacor et inoculés par la souche de *Pseudomonas fluorescens* UA5-40 pour lequel on ne retrouve que 54% de résidus de métolachlore du départ.

Ces résultats indiquent que l'utilisation combinée de phytoprotecteurs chimiques et biologiques est une approche nouvelle et utile pour augmenter la tolérance aux herbicides des plantes inoculées par une bactérie dégradant les herbicides. Ce qui permet donc d'accroître ainsi la phytoremédiation des sols surchargés en herbicides (Hoagland et al, 1997).

## **2.2. Le trichloroéthylène (TCE) :**

Le trichloroéthylène est un contaminant majeur du sol et des eaux d'écoulement aux Etats-Unis. Il est utilisé dans de nombreux domaines depuis le XIX siècle. En effet, il est largement utilisé comme solvant.

De récentes études indiquent une possible activité carcinogène du TCE ce qui donne la priorité à la rémediation immédiate des sites contaminés par du TCE (Donnelly et al. 1994).

La principale méthode pour rémédier les eaux d'écoulement contaminées par du TCE est de pomper l'eau et de la débarrasser du TCE par absorption sur charbon. Ce procédé peut nécessiter plusieurs années voire une dizaine d'années et coûte très cher.

D'autres techniques utilisent des bactéries pour dégrader le TCE, mais elles demandent des inducteurs du procédé comme du toluène ou du phénol (qui ne sont pas très bénéfiques pour l'environnement) (Gordon et al, 1997).

Une expérience utilisant cinq plantes différentes : *Pinus taeda*, *Lespedeza cuneata*, *Paspalum notatum*, *Solidago* sp. et *Glycine max* a montré que la disparition du TCE était proportionnelle à la solubilité dans l'eau du composé organique (Stomp et al, 1994).

Les plantes sont capables de capturer 1 à 21% du TCE total appliqué au sol, et il a été mis en évidence une forte corrélation entre la recapture de TCE et le taux de transpiration. Plus de 10% du TCE appliqué se retrouve dans les gaz effluents émis par les feuilles de la plante. Les résultats obtenus à la fois pour les plantes herbacées et les végétaux ligneux suggèrent que les paramètres augmentant le taux de transpiration pourraient accroître la mobilisation des composés solubles dans l'eau à l'intérieur des plantes. Ainsi, il a été montré que la minéralisation du TCE du sol était augmentée par la présence de plantes. En effet, la minéralisation du TCE dans un sol non planté (utilisé comme témoin) voit la quantité initiale de carbone du TCE augmenter de 5 à 20% sur une période de 18 jours.

Tandis que pour un sol planté l'augmentation est située entre 20 et 30% (Stomp et al, 1994). Ceci met en évidence le rôle des plantes dans la minéralisation des composés toxiques.

Des travaux antérieurs indiquaient que le TCE était oxydé plus rapidement dans les rhizosphères de quelques plantes comme le pin ou les légumes en comparaison avec des sols sans végétation mais que cette minéralisation était limitée. D'autre part ces études montraient que la recapture du TCE par les racines des plantes était corrélée avec la recapture de l'eau, mais que la recapture totale était très faible et que la translocation dans les tissus des plantes était quasi insignifiante.

L'équipe de Newman a entrepris de déterminer si une plante différente, comme le peuplier hybride, était capable de métaboliser le TCE (Newman et al, 1997).

## 2.2.1. Phytorémédiation du trichloroéthylène par des peupliers hybrides :

### 2.2.1.1. *Pourquoi utiliser les peupliers hybrides (Populus trichocarpa x Populus deltoides) ?*

Les peupliers sont les plantes de choix pour cette étude pour différentes raisons : d'une part leur distribution géographique est large (du sud de l'Alaska à l'Amérique centrale), d'autre part il est facile d'introduire dans leur génome des gènes exogènes, par ailleurs l'université de Washington a beaucoup travaillé avec les peupliers les 20 dernières années et possède de très nombreuses données notamment sur la physiologie et la culture de ces arbres sont disponibles, ils ont déjà utilisés dans plusieurs essais en plein champ pour des projets de phytorémédiation. Sur ces sites, les peupliers ont été choisis car ils ont une croissance rapide et un développement extensif de leur système racinaire. Le clone de peuplier hybride utilisé dans l'étude de Newman, peut grandir de 3m ou plus par an et à 5 ans, il a un diamètre de 13 cm ou plus à un mètre du sol. Le taux de transpiration à 5 ans varie entre 100 et 200 L d'eau par jour selon les conditions. De plus, les plants de peupliers hybrides sont résistants aux effets toxiques du TCE aux doses testées et ils avaient montré leur capacité de transpirer et de dégrader le TCE (Gordoon et al, 1997 ; Newman et al, 1997).

### 2.2.1.2. *Transformation du TCE par des cultures de cellules de peuplier :*

Cette expérimentation a pu mettre en évidence que les cellules de peupliers étaient capables de transformer et de minéraliser le TCE sans la participation d'un métabolisme microbien. Dans cette culture cellulaire, le TCE est transformé en trichloroéthanol et en acide di- et tri-chloroacétique. Il a également été montré grâce à un apport de TCE ( $^{14}\text{C}$ ) radioactif qu'il y avait formation de  $^{14}\text{CO}_2$ . Ainsi, la totalité des produits du métabolisme du TCE sont identiques à ceux produits par l'oxydation du TCE par le cytochrome hépatique P450 du rat ou de la souris.

Cette constatation suggère que le métabolisme oxydatif du TCE chez le peuplier est similaire au procédé utilisé par les mammifères (Gordon et al, 1997 ; Newman et al, 1997).

### 2.2.1.3. La transpiration du TCE par les plants de peupliers :

Une étude de balance des masses du TCE chez des peupliers hybrides a été menée dans un bioréacteur. Le feuillage, la tige et les racines ont été isolés les uns des autres afin que la transpiration de chaque organe puisse être déterminée sans interférence de la part de composés volatils émis par les tissus des plantes ou par le sol.

Du TCE radioactif est appliqué au niveau des racines (5 ppm). Après 7 jours, approximativement, 0,8% du  $^{14}\text{C}$  ajouté se retrouve dans les éléments transpirés par les tissus de la plante de peuplier (Gordon et al. 1997).

D'autre part, une autre expérience a été réalisée, elle consistait à enfermer chaque feuille de peuplier dans un sac plastique afin de mesurer la transpiration éventuelle de TCE par les feuilles. Les résultats de cette étude faite sur différents clones de peupliers hybrides montre qu'après seulement une demi heure, les quantités de TCE mesurées dans les sacs sont comprises entre 0,053 et 0,811  $\mu\text{g}$ . Cependant, ces résultats ne reflètent pas exactement la réalité car il y a une partie du TCE qui est adsorbée sur les parois du sac et il y a une perte par volatilisation (Newman et al, 1997).

Plusieurs conclusions peuvent être tirées de ces expériences réalisées en laboratoire. Tout d'abord que le TCE est absorbé par les peupliers lorsqu'il est présent à de faibles concentrations dans le sol (car à forte concentration, il est toxique pour les peupliers et empêche la croissance des arbres).

Deuxièmement, une partie du TCE est transpirée par les plants de peupliers, et une autre partie est métabolisée en des métabolites extractibles connus. Et enfin, quelques éléments non extractibles sont fixés dans les tissus ; la nature de l'incorporation dans les tissus est en cours d'investigation. Il est également à noter que la contribution de chacune de ces possibilités pour le transport du TCE, dépend de différents paramètres comme la concentration en TCE, la taille des arbres, le type de sol, la température, l'intensité lumineuse, l'humidité relative, la force du vent, etc. (Gordon et al, 1997).

Les résultats obtenus en laboratoire avec des peupliers hybrides montrent un réel potentiel de recapture et de transformation du TCE et on peut penser raisonnablement qu'ils puissent être utilisés dans le futur, *in situ*, pour la rémédiation de sols pollués par du TCE.

## 2.3. Les explosifs

### 2.3.1. La nitroglycérine :

Il devient de plus en plus clair que les plantes possèdent quelques capacités pour recapter, transformer, conjuguer, et stocker ou immobiliser les xénobiotiques comme la nitroglycérine (autrement appelée le glycérol trinitrate ou GTN) d'une manière analogue que le fait le foie chez les mammifères.

Ainsi, l'équipe de Goel a montré que des cultures de cellules de plantes étaient capables de dégrader du GTN.

Une expérience sur cellules de plantes saines récoltées puis lavées par une solution de phosphate tamponnée, a permis l'étude de la dégradation du GTN par ces cellules. Un premier témoin sans cellule de plantes ne montre pas de diminution de la quantité de GTN dans la solution. De même un deuxième témoin pour lequel les cellules sont passées à l'autoclave avant leur incubation avec le GTN, ne met pas en évidence de dégradation du GTN (le taux de GTN restant stable au cours du temps).

Lorsque les cellules saines sont incubées avec du GTN, une perte substantielle de GTN est observée. En supposant que cette diminution soit due à la dégradation, le taux spécifique de dégradation sur les neuf premières heures a été calculé : Il est de 0.02 mmole /g de cellules /h. Après 35 h, le GTN est indétectable dans la suspension de cellules, indiquant que les cellules de plantes peuvent être capable de dégrader totalement le GTN (Goel et al, 1997).

Des études antérieures ont montré que le GTN pouvait être dégradé par des populations microbiennes isolées de champignons ou de bactéries. Dans ces systèmes microbiens, la dégradation du GTN suit une suite de dénitratisation avec tout d'abord formation de glycérol di nitrate (GDN) puis plus tard la formation de glycérol mononitrate (GMN). Il paraissait plausible que les plantes soient également capables de dégrader de la même façon le GTN, c'est ce que Goel et son équipe ont cherché à mettre en évidence en mesurant l'apparition et la disparition des composés de dégradations intermédiaires. Il a pu ainsi mesurer que la quantité de GTN initiale disparaissait après 30 h d'incubation. Au cours de la période de dégradation du GTN, une accumulation rapide de GDN est observée qui atteignant son maximum après 20 h d'incubation. Puis la teneur en GDN diminue légèrement avec simultanément une accumulation du produit de dégradation final le GMN (Goel et al, 1997).

Les plantes sont donc capables de dégrader le GTN d'abord en GDN puis en GMN en un temps relativement court. Il paraît intéressant d'approfondir les recherches sur ces plantes afin de pouvoir utiliser ce principe de phytoremédiation pour épurer des sols contaminés par de la nitroglycérine.

### 2.3.2. Le TNT (2,4,6-trinitrotoluène) :

Une mauvaise manipulation d'explosifs puissants comme le TNT a conduit à la contamination du sol dans de nombreux pays. La recapture du TNT par des plantes terrestres a été étudiée au cours de la dernière décennie.

#### *2.3.2.1. La recapture du TNT par les plantes :*

Une recherche a étudié le taux de [ $^{14}\text{C}$ ] TNT dans les haricots blancs et le blé en utilisant les balances des masses dans des systèmes de sols et des solutions hydroponiques. La conclusion de l'étude est que les deux espèces de plantes ont une grande capacité d'absorption du TNT. Il a également été mis en évidence que les plantes de haricots blancs ont le plus haut taux de recapture de TNT (Thompson et al, 1998).

Deux expériences ont été menées de front afin d'étudier la recapture du [ $^{14}\text{C}$ ] TNT par des plants de peupliers hybrides, l'une est menée dans un sol et l'autre sur une solution hydroponique. Après 20 jours de recapture, le pourcentage moyen de radioactivité retrouvé dans la plante est de 83,6% pour l'expérience menée dans le sol et de 87,6% pour celle menée sur la solution hydroponique. Les mesures montrent que la quantité totale de radioactivité recaptée par les arbres est différente entre les deux expériences. En effet, il a été mis en évidence que la radioactivité était plus biodisponible dans l'étude avec la solution hydroponique. Ceci s'explique aussi par le fait que le TNT se lie aux éléments du sol (comme l'argile) ce qui rend plus difficile sa recapture par les plantes.

Il a également été montré que le temps avait un effet sur la biodisponibilité du TNT. En effet, il y a une diminution de la biodisponibilité du TNT dans un sol qui est contaminé depuis longtemps par rapport à un sol récemment contaminé par la même quantité de TNT.

Ceci s'explique par la formation de liaisons irréversibles avec les composants du sol (Thompson et al, 1998).

D'après l'expérience de Thompson (1998), pour la culture sur solution hydroponique, une large majorité de la radioactivité reste dans les tissus des racines après 20 jours d'exposition de plants de peupliers cultivés sur un sol contaminé par du [ $^{14}\text{C}$ ] TNT, et seulement 8,4% de la radioactivité absorbée est détectée dans les tissus des feuilles. Mais une comparaison entre la culture sur sol et celle sur solution hydroponique montre que la distribution de la radioactivité absorbée (c'est à dire la translocation) n'est pas affectée par les conditions de culture.

#### 2.3.2.2. *La translocation du TNT*

La translocation du [ $^{14}\text{C}$ ] TNT a été évaluée par le monitoring de l'accumulation du [ $^{14}\text{C}$ ] TNT dans les tissus des racines, des tiges, et des feuilles de peupliers pour des périodes de 2, 4, 7, 20, et 42 jours. Les résultats montrent qu'après 2 jours, 78% de la radioactivité recaptée par les peupliers reste dans les tissus des racines et seuls 13% et 9 % de la radioactivité recaptée est transloquée respectivement dans les tiges et les feuilles. Après 20 jours, la radioactivité totale transloquée dans les tiges et les feuilles augmente tandis que les teneurs diminuent dans les tissus des racines.(Thompson et al. 1998).

#### 2.3.2.3. *La transformation du TNT par les plantes :*

En 1986, Leggett et Palazzo publient leur étude sur la recapture de [ $^{14}\text{C}$ ] TNT par *Cyperus esculentus*. Le TNT et ses produits de transformation: le 4-amino-2,6-dinitrotoluène (4-ADNT) et 2-amino-4,6-dinitrotoluène (2-ADNT) sont détectés dans tous les tissus de la plante (feuilles, racines, rhizome, tubercule) avec le 4-ADNT qui apparaît comme le composé prépondérant. Il a été proposé que le 4-ADNT et le 2-ADNT soient formés au sein de la plante, car aucun des métabolites n'étaient dans la solution nutritive hydroponique (Thompson et al, 1998).

Une autre recherche a étudié le taux de [ $^{14}\text{C}$ ] TNT dans les haricots blancs et le blé en utilisant les balances de masses dans des systèmes de sols et des solutions hydroponiques.

La conclusion de l'étude est que les deux espèces de plantes ont une grande capacité d'absorption du TNT (les plantes de haricots blancs ont le plus haut taux de recapture du TNT).

Après 60 jours d'exposition, les plants de haricots blancs ont accumulé dans les tissus de leurs racines plus de 77% du TNT radioactif avec moins de 20% de cette fraction qui est retrouvée sous forme de TNT. Le restant est composé de 4-ADNT, de 2-ADNT, de composés très polaires inconnus, et de résidus non extractibles. Il a également été montré que près de 15% de la radioactivité appliquée se retrouve dans les tiges des plantes et que l'accumulation de la radioactivité dans les feuilles se situe entre 6 et 13%, tandis que l'on ne retrouve que 1% de cette radioactivité dans les gousses et les graines des plantes (Thompson et al, 1998).

L'équipe de Hughes a étudié la capacité des plantes aquatiques de recapter et de transformer le TNT. Les plantes testées sont : *Myriophyllum spicatum*, *Myriophyllum aquaticum*, et *Catharanthus roseus*. Les résultats de cette étude montrent que ces trois plantes aquatiques sont également capables de transformer le TNT avec ou sans la présence de périphyton. Les produits de transformation ne sont pas tous identifiés mais le 2-ADNT et le 4-ADNT ont été détectés dans les plantes et dans les extraits de plantes. Dans cette expérience le procédé de minéralisation du TNT n'a pas été mis en évidence (Hughes et al, 1997).

### **3. La phytoremédiation des composés inorganiques**

A la différence des composés organiques qui peuvent être minéralisés, la rémédiation d'une contamination par un contaminant inorganique doit déplacer physiquement le contaminant du système ou le convertir en une forme biologiquement inerte.

Ainsi, certains contaminants inorganiques peuvent être volatilisés comme par exemple le sélénium (Se) dont la recherche sur certains sols de l'ouest des Etats-Unis a permis de proposer des systèmes de gestion de la végétation qui encouragent la volatilisation du Se. Cette dernière paraît être l'action d'une plante et /ou une interaction plante /microbe (Banuelos et al, 1993).

Certaines bactéries, champignons, algues et systèmes de plantes sont capables de concentrer quelques toxiques inorganiques. L'extraction de contaminants inorganiques par tous ces organismes est théoriquement possible. Cependant, le coût effectif pour récupérer ces nombreux organismes de la matrice après qu'ils aient séquestré les ions inorganiques, n'est pas actuellement connu, ni d'ailleurs la façon de procéder.

Au cours de leur croissance, les plantes acquièrent deux douzaines d'éléments dans leurs pousses. Pour une grande partie, les plantes captent les éléments nécessaires à leur croissance et ne captent qu'une faible quantité d'éléments pouvant lui faire du tort. Quelques éléments non essentiels relativement bénins (comme par exemple le sodium et le silicium) peuvent être en grande quantité, mais généralement, les taux de polluants sont faibles : 0,1 à 100 mg/kg de poids sec de la plante (Cunningham and Ow, 1996).

Penser découvrir et développer des plantes capables d'acquérir des quantités élevées de métaux contaminants dans des tissus récoltables, était impossible jusqu'à la découverte d'un petit groupe de plantes remarquables appelé les hyperaccumulateurs. Quelques-uns de ces hyperaccumulateurs sont mentionnés dans le tableau 2.

**Tableau 2 : Quelques plantes hyperaccumulatrices :**

Le métal accumulé	Les plantes accumulant ce métal
Cadmium (Cd)	<i>Thlaspi caerulescens</i> <i>Brassica juncea</i>
Cuivre (Cu)	<i>Ipomoea alpina</i>
Cobalt (Co)	<i>Haumaniastrum robertii</i>
Manganèse (Mn)	<i>Macadamia neurophylla</i>
Nickel (Ni)	<i>Alyssum bertolonii</i> <i>Sreptanthus polygaloides</i>
Zinc (Zn)	<i>Thlaspi caerulescens</i> <i>Brassica juncea</i>
Plomb (Pb)	<i>Thlaspi rofundifolium</i>
Sélénium (Se)	<i>Brassica juncea</i>
Radionucléide	<i>Pinus radiata</i>

### 3.1. Le plomb

Le plomb (Pb) fait partie des métaux lourds qui polluent l'environnement et qui posent de sérieux problèmes de santé aux animaux mais aussi aux hommes (surtout chez les jeunes enfants). Le Pb est un des métaux lourds le plus souvent rencontré dans l'environnement et fait l'objet de nombreuses recherches. La contamination de la surface du sol résulte des activités industrielles comme l'extraction de métaux par fusion, la production et la mise en place de Pb dans les batteries, l'utilisation de Pb dans les peintures, dans l'essence, mais aussi cette contamination résulte de l'activité agricole notamment, autrefois, par l'utilisation de certains pesticides (comme le PbHAs O<sub>4</sub>).

On estime que depuis 1910, c'est approximativement 11.4 millions de tonnes de Pb qui ont été utilisées aux Etats-Unis (dont 43% sous forme de peinture, et 57% sous forme d'additif de l'essence).

L'étendue et la sévérité des contaminations des sols notamment urbains a fait du Pb un problème de santé publique.

La phytoremédiation des sols contaminés par du Pb utilise deux stratégies : la phytostabilisation et la phytoextraction. La phytostabilisation consiste en l'utilisation de modifications du sol pour réduire la biodisponibilité du Pb au niveau du sol contaminé. La phytoextraction quant à elle utilise des plantes pour extraire le Pb du sol contaminé. Ainsi, par la culture en continue de certaines espèces de plantes le sol pourra être éventuellement décontaminé (Huang et al<sup>1</sup>, 1997).

Le Pb n'est pas un nutriment essentiel connu pour les plantes supérieures, cependant, dans certaines circonstances il a été observé que certaines espèces de plantes avaient la capacité d'absorber le Pb par les racines puis de le transloquer des racines vers les pousses. Il existe un petit nombre d'espèces endémiques des sols métallifères qui peuvent tolérer et accumuler de forts taux de Pb, ce sont des plantes dites hyperaccumulatrices (Huang et al<sup>2</sup>, 1997).

Le plomb est le polluant le plus important du point de vue de l'environnement mais sa solubilité dans les sols est faible car le Pb est un acide faible (d'après la classification de Lewis) ce qui signifie qu'il forme des liaisons covalentes très fortes avec d'autres ions du sol (Chen et al, 1997). De même sa disponibilité pour la recapture est limitée par la complexion du Pb avec des matières organiques, une sorption sur les oxydes et les argiles, et une précipitation (Blaylock et al, 1997).

### 3.1.1. Les plantes capables d'accumuler le Pb :

Parmi les 400 plantes hyperaccumulatrices de métaux recensées dans le monde, cinq d'entre elles sont hyperaccumulatrices de Pb (tableau 3).

Bien que ces espèces soient très efficaces dans l'accumulation de Pb, elles ont cependant un très faible taux de croissance et ne sont pas adaptées pratiquement à la phytoextraction du Pb contenu dans des sols contaminés (Huang et al<sup>2</sup>, 1997). C'est pourquoi, dans plusieurs laboratoires, les études se sont centrées sur la recherche de plantes capables d'accumuler du Pb tout en ayant une grande production de biomasse.

L'équipe de Kumar (1995) a mené une expérience afin de comparer, dans un premier temps, la capacité d'accumulation du plomb dans les racines et les pousses de 12 espèces de plantes ayant grandi dans un mélange sable/Perlite contenant 625 µg de Pb/g de poids sec (tableau 4).

**Tableau 3 : Les plantes hyperaccumulatrices de Pb (d'après Huang et al<sup>2</sup>, 1997)**

Espèces de plantes	[Pb] dans les pousses (mg kg <sup>-1</sup> de poids sec)
<i>Polycarphaea synandra</i>	1040
<i>Minuartia verna</i>	1400
<i>Armeria maritima</i>	1600
<i>Thlaspi alpestre</i>	2740
<i>Thlaspi rotundifolium</i>	130-8200

Le coefficient de phytoextraction (c'est à dire le rapport entre les µg de métal/g de poids sec des tissus et les µg de métal/g de poids sec de substrat) au niveau des racines est nettement supérieur pour les plantes faisant partie de la famille des *Brassica* que pour les plantes d'autres espèces et les taux de plomb dans les racines sont compris entre 0.82 à 10.9% de poids sec (tableau 4).

**Tableau 4: Teneur en plomb dans les racines et les pousses de quelques variétés de *Brassica* et d'autres plantes (d'après Kumar et al, 1995).**

Espèces de plantes	Mg de Pb/g de poids sec		Coefficient de phytoextraction	
	pousses	racines	pousses	racines
<i>Brassica juncea</i> (L.) Czern.	10.3 +/- 2.9	103.5 +/- 12.3	16.5	164.8
<i>B. nigra</i> (L.) Koch	9.4 +/- 2.5	106.6 +/- 10.7	15	169.6
<i>B. campestris</i>	7.2 +/- 2.2	103.4 +/- 7.7	11.5	165.4
<i>B. carinata</i> A. Br	4.6 +/- 2.6	108.9 +/- 13.9	7.36	174.2
<i>B. napus</i> L.	3.4 +/- 1.0	61.2 +/- 11.9	5.44	97.9
<i>B. oleracea</i> L.	0.6 +/- 0.2	52.7 +/- 3.8	0.96	84.3
<i>Helianthus annuus</i> L.	5.6 +/- 1.3	61.6 +/- 3.3	8.9	98.5
<i>Nicotiana tabacum</i> L.	0.8 +/- 0.3	24.9 +/- 7.8	1.3	39.8
<i>Sorghum bicolor</i> L.	0.3 +/- 0.0	8.2 +/- 0.6	0.5	13.1
<i>Amaranthus hybridus</i> L.	0.3 +/- 0.04	8.7 +/- 0.7	0.5	13.9
<i>A paniculata</i> L.	0.4 +/- 0.04	8.9 +/- 0.3	0.6	14.2
<i>Zea mays</i> L.	0.2 +/- 0.1	14.7 +/- 0.9	0.3	23.5

Bien que le coefficient de phytoextraction au niveau des pousses soit globalement plus faible que celui au niveau des racines (car tout ce qui est capté par les racines n'est pas entièrement transloqué dans les parties aériennes de la plante), cette étude a montré que la famille des *Brassicaceae* présente une plus grande capacité d'accumulation de Pb dans les tissus que les autres familles étudiées.

Le coefficient de phytoextraction au niveau des pousses de *B. juncea* (souche Rcb) est de 16,5 avec un total d'accumulation dans les pousses de 1,03% de plomb (tableau 4). *B. nigra* et *B. campestris* sont, elles aussi, capables de transporter et de concentrer efficacement le Pb du substrat dans leurs pousses (Kumar et al, 1995).

Après avoir observé que *B. juncea* accumulait une grande quantité de Pb dans ses pousses, les chercheurs ont alors testé 106 de ces souches pour leur capacité d'accumulation de Pb dans leurs racines et de transport vers les pousses.

La concentration de Pb dans les racines et les parties aériennes varie grandement selon les souches de *B. juncea*, ceci suggère que cette espèce a une grande variabilité génétique dans sa capacité d'accumuler du Pb.

En effet, les résultats montrent que la souche la plus efficace est capable d'accumuler 34,5 mg de Pb/g de poids sec dans ses pousses (soit un coefficient de phytoextraction de 55,2) alors que la souche la moins efficace accumule seulement 0,4mg de Pb/g de poids sec dans ses pousses (soit un coefficient de phytoextraction de 0,70.) Il est à noter également que la concentration de Pb au niveau des racines n'est pas identique pour toutes les souches testées. En effet, même si la variation est plus faible, elle varie tout de même de 70 à 190 mg de Pb/g de poids sec.

Si les plantes sont réduites en cendres, les métaux extraits pourraient être concentrés au moins encore 10 fois (Kumar et al, 1995).

De plus, *B. juncea* produit 18 tonnes/ha de biomasse et sa culture peut facilement s'adapter à différentes conditions climatiques. Il a été calculé que la souche la plus efficace de *B. juncea* peut extraire 630 kg de Pb/ha en une seule récolte. Si les racines sont également récoltées, l'extraction de Pb est alors plus importante.

Cependant, ces chiffres ne sont que des extrapolations de données obtenues en cultivant des plantes en pots, et à moins que des pratiques agricoles spéciales permettant aux métaux d'être plus disponibles pour les plantes soient découvertes et employées, les coefficients de phytoextraction pour les plantes poussant en plein champ se révèlent significativement bas. La fraction de plomb indisponible à la recapture par les racines des plantes est représentée par le plomb fixé à l'argile ou aux matières organiques du sol et à celui qui est inclus dans des précipités insolubles (Kumar et al, 1995).

*Arabidopsis thaliana* n'est pas une plante de choix pour la phytoextraction du Pb car c'est une petite plante. Mais elle est cependant, un très bon modèle pour étudier la tolérance et l'accumulation du Pb. *A. thaliana* fait partie de la famille des Brassicaceae dans laquelle des plantes hyperaccumulatrices de métaux ont été identifiées. *A. thaliana* est une plante diploïde qui se pollinise elle-même, et dont le génome est formé de cinq paires de chromosomes (le plus petit génome parmi les plantes supérieures). De plus, *A. thaliana* est une petite plante qui peut rapidement grandir en laboratoire (Chen et al, 1997). Une expérience a montré qu'il existait une variation intraspécifique dans les 74 écotypes d'*Arabidopsis* testés en ce qui concerne l'accumulation et la tolérance du Pb par les plantes.

De plus les résultats indiquent qu'il n'y a pas de relation directe entre la capacité d'accumulation et de tolérance du Pb chez *Arabidopsis*. Ceci suggère que des mécanismes séparés sont impliqués dans l'accumulation et la tolérance du Pb par les plantes (Chen et al, 1997).

#### **3.1.1.1. Influence des agents chélatant sur la recapture du Pb :**

Une autre étude a mis en évidence que l'addition de chélates synthétiques à un sol contaminé pouvait augmenter l'accumulation de Pb chez *B. juncea* de façon plus efficace que l'augmentation de la concentration totale en Pb dans le sol (Blaylock et al, 1997).

L'étude initiale consistait en l'évaluation de l'augmentation potentielle de la recapture du Pb et des autres métaux contaminant le sol, due à l'application au sol de chélates à différentes concentrations. Les études qui ont été ensuite faites avaient pour but d'utiliser de faibles concentrations d'EDTA afin d'optimiser l'addition de chélates pour des applications futures en plein champ. Les résultats ont montré que l'application sur le sol d'EDTA, DTPA, CDTA, EGTA, et d'acide citrique pour solubiliser le Pb dans le sol permet ainsi d'accroître la recapture du Pb et sa translocation dans les pousses. Suite à cette étude il a été mis en évidence que la concentration de Pb dans les pousses de *B. juncea* augmente avec la concentration appliquée au sol. Pour ce qui est de l'efficacité de la mise en solution du Pb dans le sol, les résultats indiquent que l'EDTA et le DTPA sont les deux chélates les plus efficaces. Cependant, lors de l'application d'EDTA la concentration de Pb dans les pousses de *B. juncea* est de 1,6% alors qu'elle n'est que de 1% si l'on applique du DTPA. L'EDTA est donc le chélate le plus efficace pour solubiliser le Pb dans le sol et donc pour augmenter la concentration du Pb dans les pousses (Blaylock et al, 1997 ; Huang et al<sup>1</sup>, 1997).

#### **3.1.1.2. L'influence du pH sur la concentration du Pb dans les pousses :**

Un autre mécanisme possible pour augmenter la solubilité des métaux pourrait être l'acidification des sols susceptible d'accroître un tant soit peu la recapture du métal. Mais pour observer des concentrations supérieures à 1000 mg de Pb/kg dans les pousses, il faut ajouter un chélate (Blaylock et al, 1997).

En effet, la recapture du Pb par *B. juncea* augmente légèrement lorsque l'on fait varier le pH de 7,5 à 5,0 en l'absence d'EDTA (445 mg/kg), mais on observe une très nette augmentation de cette recapture (4000 mg/kg) lors de l'ajout d'EDTA à pH 5 qui n'est que de l'ordre de 1000 mg/kg à pH 7,5 (Blaylock et al, 1997).

Ainsi l'addition au sol d'agent acidifiant, comme l'acide acétique, a un effet additif à l'augmentation de l'accumulation de métaux dans les pousses provoquée par l'EDTA.

Une expérience en milieu hydroponique confirme que l'acidification stimule le mouvement du Pb des racines vers les pousses. La diminution du pH de 5,5 à 3,5 en présence d'EDTA augmente très fortement l'accumulation du Pb dans les pousses et diminue la rétention du Pb dans les racines (Blaylock et al, 1997).

### ***3.1.1.3. Les mécanismes de la recapture du Pb par les plantes :***

La recapture du Pb par les racines des plantes a été étudiée lors d'une expérience utilisant un système hydroponique. Les résultats montrent que le Pb est rapidement accumulé dans les cellules des racines. Par exemple, un essai à court terme (60 min) mesurant l'accumulation au niveau des racines du Pb d'une solution nutritive contenant 20  $\mu\text{M}$  de Pb, montre que les racines de maïs accumulent 500 mg de Pb  $\text{kg}^{-1}$ , tandis que les racines de tournesol accumulent 1500 mg de Pb  $\text{kg}^{-1}$ . La concentration en Pb dans les racines est alors plus de 100 fois supérieure à celle trouvée dans des racines à croissance moyenne. Une période de désorption de 30 min suivant les 60 min de recapture du Pb élimine 60% du Pb absorbé par les racines. Mais la différence de recapture entre le maïs et le tournesol est indépendante de la solution de désorption utilisée (Huang et al<sup>2</sup>, 1997).

Ces résultats suggèrent que le Pb est rapidement transporté à l'intérieur des cellules des racines. Le transport du Pb dans les cellules des racines utilise sans doute les canaux transmembranaires à cations, comme les canaux à  $\text{Ca}^{2+}$ .

En effet, l'inhibition de l'activité des canaux calciques peut résulter d'un blocage de ces canaux par le Pb, ou d'une compétition entre Pb et Ca. Mais si les racines absorbent rapidement le Pb, seule une petite partie du Pb absorbé est transloquée des racines aux pousses (Huang et al<sup>1et2</sup>, 1997).

Ainsi, deux facteurs majeurs limitent la phytoextraction du Pb : la faible biodisponibilité de Pb dans le sol et la faible translocation du Pb des racines vers les parties aériennes.

#### ***3.1.1.4. Influence de la transpiration sur l'accumulation du Pb dans les pousses***

Les plantes pompent une grande quantité d'eau dans les sols. Le ratio de transpiration des plantes se situe entre 300 et 850 kg d'eau (utilisée) /kg de matière sèche produite. Une étude a montré que le blocage de la transpiration bloquait également la recapture du Cd par des plants de *B. juncea*. Il a été alors observé que lorsque les plants de *B. juncea* étaient plantés sous un ventilateur qui augmente la transpiration, il y avait une augmentation de 30% de la recapture du Pb médiée par EDTA, tandis que lorsque les plants étaient placés sous un sac plastique (limitant la transpiration) il y avait une diminution de la recapture du Pb de 35% (Blaylock et al, 1997). Ainsi la transpiration est une force majeure qui conduit à l'accumulation du Pb dans les pousses.

#### **3.1.2. La translocation du Pb :**

L'équipe de Kumar s'est également attachée à observer la capacité de transport du plomb des racines aux pousses c'est à dire la translocation.

Le Pb est très fixé aux composants du sol et aux plantes, ce qui explique la faible mobilité de ce métal dans les plantes et le sol. Bien que des plantes soient connues pour leur capacité de concentrer dans leurs racines du Pb, la translocation de ce dernier dans les pousses est normalement très lente (Kumar et al, 1995). Les plantes ayant une forte translocation du Pb auront une concentration en Pb au niveau des parties aériennes élevées. Par conséquent, il est important de sélectionner des espèces de plantes avec une forte translocation des racines vers les pousses car elles seules seront cultivées et donc utilisées dans les procédés de phytoextraction (Huang et al<sup>2</sup>, 1997).

##### ***3.1.2.1. Les racines responsables de la faible translocation du Pb ?***

Parce que la translocation du Pb des racines vers les parties supérieures des plantes est faible, les racines ont été considérées comme la principale barrière pour la translocation du Pb. Pour tester si les racines pouvaient altérer la translocation du Pb, des investigations ont été faites sur l'accumulation de Pb dans les pousses de tournesol et de maïs excisées.

Dans cette expérience, les plantes sont cultivées sur une solution nutritive en l'absence de Pb, et les parties aériennes sont coupées au dessus de la surface de la solution à la jonction entre les racines et les pousses. Les parties aériennes coupées sont transférées dans une solution contenant 20µM de Pb. La concentration en Pb dans la portion des pousses coupées immergées dans la solution contenant du Pb est beaucoup plus élevée que la portion des pousses coupées qui ne sont pas en contact avec la solution plombée. Les concentrations en Pb mesurées au niveau des pousses coupées et immergées dans la solution plombée atteignent des valeurs similaires à celles observées pour les racines intactes (Huang et al<sup>2</sup>, 1997).

La translocation du Pb observée dans les plants intacts de maïs est la plus élevée de toutes les espèces cultivables testées.

Cependant, dans les pousses coupées, la translocation est la plus faible pour le maïs en comparaison avec les autres espèces testées. Pour le même taux de Pb et la même période d'exposition, la concentration du Pb dans les pousses de maïs coupées est 35% plus faible que celle mesurée dans les pousses de maïs intactes.

Ce résultat indique pour les plantes intactes, une forte capacité du maïs à transloquer le Pb qui est contrôlée physiologiquement par les racines, et dont le contrôle est perdu lorsque les racines sont éliminées. Mais les mécanismes physiologiques impliqués restent encore inconnus (Huang et al<sup>2</sup>, 1997).

### ***3.1.2.2. Le temps d'exposition au Pb influence sa translocation dans la plante***

Les chercheurs ont observé la translocation du Pb chez *B. juncea* en la soumettant à des concentrations relativement hautes de Pb dans une solution hydroponique (au dessus de la saturation partielle de la capacité de fixation du Pb aux racines). Les résultats démontrent que *B. juncea* a une exceptionnelle capacité de translocation.

Le temps d'exposition au Pb est un autre facteur qui peut affecter les taux de Pb dans les racines de la plante. Le taux de recapture de Pb dans les racines ralentit en fonction du temps d'exposition mais le taux de translocation dans les pousses présente une augmentation avec le temps. Ceci peut suggérer que les mécanismes physiologiques et biochimiques impliqués dans le transport du Pb des racines vers les pousses nécessitent du temps pour se développer et devenir fonctionnels (Kumar et al, 1995).

### 3.1.2.3. Les effets des chélates sur la translocation du Pb :

Huang et son équipe ont étudié l'effet de l'EDTA sur la concentration du Pb dans la sève du xylème des pousses de maïs. L'application d'EDTA à des sols contaminés par du Pb, augmente significativement le transport du Pb dans le xylème des plants de maïs. Par exemple, dans les 24h suivant l'application de la solution d'EDTA aux plants de maïs grandissant dans un sol contaminé par du Pb, la concentration en Pb dans la sève du xylème des pousses est augmentée de 46 fois lors d'un traitement par 0,5g d'EDTA (kg de sol)<sup>-1</sup> et de 140 fois pour un traitement par 1g d'EDTA (kg de sol)<sup>-1</sup> en comparaison avec la concentration en Pb de la sève du xylème témoin (tableau 5).

**Tableau 5 : les effets de l'addition d'EDTA à un sol contaminé par du Pb (dont la teneur totale en Pb est de 2500 mg kg<sup>-1</sup>) sur le transport du Pb chez un plant de maïs de 21 jours grandissant sur le sol contaminé (d'après Huang et al<sup>1</sup>, 1997).**

<i>EDTA ajouté au sol (g kg<sup>-1</sup>)</i>	<i>[Pb] dans la sève du xylème (mg L<sup>-1</sup>)</i>	<i>Pb transloqué vers les pousses (µg plant<sup>-1</sup> jour<sup>-1</sup>)</i>
0,0	0,2	0,8
0,5	6,9	28,0
1,0	21,3	99,8

L'addition d'EDTA conduit également à une très forte augmentation de la translocation du Pb vers les pousses. En comparaison au témoin, l'addition d'EDTA peut augmenter jusqu'à 120 fois la translocation du Pb en 24h (tableau 5).

### 3.1.3. Les différents moyens d'augmenter la phytoextraction du Pb :

#### 3.1.3.1. Le phosphore (P) :

Pour la plupart des sols contaminés par du Pb, la biodisponibilité du P est très faible due à sa précipitation avec le Pb dans le sol. Les plantes qui poussent dans des sols contaminés par du Pb dont la teneur est supérieure à 1000 mg kg<sup>-1</sup>, montrent des symptômes sévères de déficience en P après une à deux semaines de plantation ou de transplantation dans un tel sol. Il s'en suit un quasi arrêt de la production de biomasse si les symptômes de déficience en P ne sont pas corrigés. Pour corriger cette déficience, l'application foliaire de P a été testée. Il a été montré qu'une pulvérisation sur les parties aériennes d'une solution contenant 10 mM de P permet de corriger la déficience en P en quelques jours pour la plupart des espèces de plantes Huang et al<sup>2</sup>, 1997). Lors d'une expérience en pots, il a été mis en évidence que le phosphore foliaire permet un accroissement du poids sec de plus de 4 fois pour les pousses et les racines de la plante testée (*Solidago virgo-aura*, la verge d'or) dans le mois qui suit l'application du P (tableau 6).

**Tableau 6 : effet du P foliaire sur la production de biomasse et la phytoextraction du Pb chez la verge d'or cultivée sur un sol contaminé par une teneur totale en Pb de 3500 mg kg<sup>-1</sup> (d'après Huang et al<sup>2</sup>, 1997).**

paramètres	pousses		Racines	
	témoin	avec P foliaire	témoin	avec P foliaire
Poids sec (g plant <sup>-1</sup> )	3,2	14,8	2,1	8,8
[Pb] (mg kg <sup>-1</sup> )	340	155	2260	1830
Teneur en Pb total mg plant <sup>-1</sup>	1,1	2,3	5,2	16,7

L'apport de P foliaire provoque une diminution de la concentration du Pb dans les pousses de 55% et une baisse dans les racines de 20%, cependant, l'accumulation totale de Pb est globalement augmentée de 115% dans les pousses et de 300% dans les racines. Ceci s'explique par le fait que l'apport de P foliaire provoque une énorme augmentation de la biomasse (tableau 6).

A la suite de cette observation, des études ont été faites pour évaluer les effets de l'apport de P au niveau du sol ( par apport de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) pour des teneurs allant de 0 à  $1000 \text{ mg de P.kg}^{-1}$  de sol, sur la phytoextraction du Pb par des plants de maïs. Les résultats montrent que la concentration de Pb dans les pousses est significativement diminuée pour toutes les teneurs de P testées (0, 50, 150, 300, 500, et  $1000 \text{ mg de P.kg}^{-1}$  de sol). Cependant, la biomasse des pousses est très fortement augmentée avec un apport de  $500 \text{ mg P.kg}^{-1}$  de sol, et devient constante pour des teneurs en P supérieures. L'addition de  $500 \text{ mg P.kg}^{-1}$  accroît l'accumulation totale de Pb dans les parties aériennes d'un facteur 2 par rapport au témoin. Ces résultats indiquent que le contrôle de la teneur en P est nécessaire pour obtenir un maximum de transfert du Pb du sol vers les pousses (Huang et al<sup>2</sup>, 1997, et Laperche et al, 1997).

### 3.1.3.2. Les effets de l'électroosmose sur l'accumulation du Pb

L'électroosmose est le transport de particules chargées dans un champ électrique. Le potentiel d'application de technologies électroosmotiques a été évalué pour une rémédiation *in situ* d'un sol contaminé par du Pb.

Il a été mis en évidence qu'une quantité significative de Pb du sol pouvait être transportée dans le sol, cependant, le Pb précipite ou est réabsorbé sur le sol adjacent à la cathode. Etant donné que le facteur limitant pour la recapture du Pb est la faible disponibilité du Pb en solution dans le sol, un essai couplant l'électroosmose à la phytoextraction du Pb, a été tenté (Huang et al<sup>2</sup>, 1997). L'hypothèse était que l'électroosmose pouvait augmenter la mobilité du Pb dans le sol et donc accroître l'accumulation du Pb dans les plantes. Dans cette expérience un courant électrique direct est appliqué dans le sol par des anodes et cathodes insérées verticalement dans le sol.

Il a été montré que l'application d'un courant électrique à des plants de maïs et de l'ambrosie permettait de doubler la concentration de Pb dans les pousses des deux plantes. Cependant, la concentration de Pb dans les racines n'est pas significativement affectée par ce traitement.

L'augmentation de la concentration de Pb dans les pousses pourrait résulter d'un accroissement de la mobilité de Pb dans le sol et/ou d'une augmentation de la translocation du Pb dans les plantes (Huang et al<sup>2</sup>, 1997).

### *3.1.3.3. Le rôle des chélates synthétiques dans l'augmentation de la phytoextraction du Pb :*

Le but de la phytoextraction du Pb est de réduire la teneur en Pb du sol contaminé à un niveau acceptable dans un intervalle de temps défini (3 à 20 ans). Pour atteindre ce but, les chercheurs ont utilisé des plantes capables d'accumuler plus de 1% de Pb dans leurs pousses et capables de produire plus de 20 tonnes de biomasse  $\text{ha}^{-1} \text{an}^{-1}$  (au niveau des pousses) D'après des expériences en pots et en plein champ, il est clair que les concentrations en Pb dans les pousses sont largement en dessous des niveaux fixés pour la phytoextraction du Pb (Huang et al<sup>2</sup>, 1997). A la suite d'expériences menées sur les solutions hydroponiques, il a été clairement établi que les concentrations en Pb augmentaient fortement si la teneur en Pb de la solution nutritive augmentait. Ceci a permis de penser qu'une augmentation significative de la teneur en Pb en solution dans le sol pourrait aboutir à une concentration en Pb dans les pousses significativement plus haute. Pour tester cette hypothèse, les chercheurs ont évalué les effets de l'apport de chélates synthétiques à un sol contaminé par du Pb sur la désorption du Pb du sol (afin de le mettre en solution) et sur l'accumulation du Pb dans les plantes.

Les résultats montrent que 24h après l'application d'un chélate (HEDTA) au sol, la concentration de Pb en solution dans le sol passe de 17  $\mu\text{M}$  pour le témoin (sans ajout de HEDTA) à 19 000  $\mu\text{M}$  pour le sol traité (2 g  $\text{kg}^{-1}$  de sol) (Huang et al<sup>2</sup>, 1997).

Une semaine après avoir transplanté les plantes dans un sol contaminé par du Pb, la concentration en Pb dans les parties aériennes passe de 40  $\text{mg kg}^{-1}$  pour les plantes poussant dans un sol contaminé mais non traité par le chélate, à 10 600  $\text{mg kg}^{-1}$  pour les plantes poussant sur un sol contaminé et traité par le chélate (HEDTA) (Huang et al<sup>2</sup>, 1997). Donc l'accroissement de la concentration du Pb en solution dans le sol est bien en relation étroite avec la concentration en Pb dans les plantes.

Pour trouver le chélate idéal capable d'augmenter la phytoextraction du Pb des sols contaminés, une étude a été faite pour évaluer l'efficacité relative de cinq chélates synthétiques (HEDTA, EDTA, EGTA, EDDHA, et DTPA) pour l'augmentation de la désorption du Pb du sol mais aussi de l'accumulation de Pb chez le pois et le maïs. De tous les chélates testés, l'EDTA est le plus efficace dans l'augmentation de la désorption du Pb et l'accumulation du Pb dans les plantes. Pour le sol testé, l'ordre d'efficacité des différents chélates sur la désorption du Pb du sol est : EDTA > HEDTA > DTPA > EGTA > EDDHA.

Les effets de ces chélates sur l'accumulation du Pb chez le pois et le maïs sont parallèles à leur effet sur la désorption du Pb du sol (Huang et al<sup>1</sup>, 1997).

L'observation de la corrélation entre les concentrations du Pb dans les plantes et les teneurs du Pb en solution dans le sol, montre que les concentrations du Pb dans les plantes augmentent de façon linéaire avec l'augmentation des teneurs du Pb en solution dans le sol. Ainsi les résultats démontrent que la clef de la phytoextraction du Pb se situe dans l'augmentation de la désorption du Pb du sol et que les chélates synthétiques peuvent jouer un rôle important dans ce processus (Huang et al<sup>1</sup>, 1997).

#### 3.1.4. La phytostabilisation du Pb :

Berti et Cunningham ont porté une attention toute particulière à l'utilisation de modifications du sol et de plantes dans le but de rémédier un sol contaminé par du Pb. Une de ces techniques est l'inactivation du Pb *in situ*. Cette inactivation du Pb permet de réduire les risques associés à la contamination des sols en utilisant des composés chimiques qui changent la forme du Pb pour ainsi stabiliser le Pb du sol chimiquement et physiologiquement *in situ* (Berti et Cunningham, 1997).

Des preuves expérimentales et théoriques sont à la base de l'hypothèse que les phosphates de Pb sont les formes les plus stables et les plus insolubles du Pb du sol. Il peuvent se former rapidement en présence d'une quantité adéquate de Pb et de phosphate (Ma et al. 1995).

De tous les minéraux Pb-P, le chloropyromorphite ( $[Pb_{10}(PO_4)_6Cl_2]$ ), obtenu par précipitation du Pb avec du P, est celui qui possède la plus faible solubilité, ainsi il est le plus stable dans des conditions environnementales favorables. Des études en laboratoire, montrent que la solubilité du Pb dans les sols diminue avec l'augmentation de la concentration du P.

En effet, les concentrations de Pb sont réduites de 1503 à 277, 143, ou 33 nmol L<sup>-1</sup> après une réaction avec respectivement 1, 2 ou 4g de P/10g de sol.

Il a été également mis en évidence que l'hydroxyapatite ( $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ ) est efficace dans l'immobilisation du Pb dans des solutions aqueuses (par dissolution du Pb) mais aussi dans les sols contaminés par du Pb. Ainsi, les interactions Pb et P en permettant la formation de chloropyromorphite et d'hydroxyapatite aboutissent à un contrôle de la migration du Pb dans l'eau et les sols en réduisant la solubilité aussi bien que la biodisponibilité du Pb (Ma et al, 1995).

Berti et Cunningham ont également changé de façon significative la chimie du Pb dans les sols de façon à modifier la forme chimique du Pb en une forme faiblement ou pas du tout disponible. Les sols étudiés avaient une quantité totale de Pb comprise entre 1200 et 3500 mg kg<sup>-1</sup>. La filtration du Pb du sol est dans tous les cas réduite de façon significative à des valeurs allant de 30 mg de Pb L<sup>-1</sup> au maximum à des valeurs au dessous de 5 mg de Pb L<sup>-1</sup> (limite réglementaire) après le traitement du sol (Berti et Cunningham, 1997).

Une étude différente a examiné l'effet du temps d'incubation (entre le Pb du sol et l'apport de P) sur l'immobilisation du Pb par le P. Il a été mis en évidence que l'apport de P réduisait les concentrations de Pb dans les sols indifféremment du temps d'incubation (Ma et al, 1995).

L'équipe de Laperche a montré que l'apport d'apatite (c'est à dire du phosphate de calcium) à un sol contaminé par du Pb peut diminuer sa biodisponibilité et accroître sa stabilité géochimique (Laperche et al, 1997).

L'apport de phosphore est donc un moyen de diminuer la biodisponibilité du Pb dans les sols contaminés, donc de réduire les risques de migration du contaminant. Il favorise ainsi la phytostabilisation du Pb.

### **3.2. Le cadmium et le zinc :**

La contamination des sols par des métaux lourds est liée à l'équilibre des écosystèmes naturels. En particulier, l'excès de cadmium (Cd) dans le sol a des répercussions sur la santé humaine (il est mis en cause dans certains dysfonctionnements des tubules rénaux, dans des cas d'emphysème pulmonaire, et dans des cas d'ostéoporose) et le zinc (Zn) en excès nuit aux plantes et cause parfois la mort des animaux.

Un petit nombre d'espèces de plantes a été identifié comme étant non seulement capable de grandir dans des sols contenant des taux élevés de métaux lourds, mais aussi comme étant capable d'accumuler ces polluants à de hautes concentrations dans leurs pousses.

Les espèces hyperaccumulatrices peuvent contenir plus de 10 000 mg kg<sup>-1</sup> de Zn et plus de 100 mg kg<sup>-1</sup> de Cd dans la biomasse de leurs parties aériennes. Par récoltes successives de ces plantes, les métaux peuvent être transloqués, du sol vers les tissus de la plante, et extraits. Il est ainsi possible de recycler les métaux du sol (Brown et al, 1994).

### 3.2.1. Les plantes hyperaccumulatrices de Cd et Zn :

Le cadmium et le zinc sont des métaux dont l'accumulation par les plantes est souvent associée, car leur structure chimique est semblable.

Pour identifier des populations accumulatrices de ces métaux, 30 espèces de plantes ont été étudiées pendant 4 semaines en culture hydroponique dont la composition était approximativement celle d'un sol modérément contaminé par du cadmium (Cd), du cuivre (Cu), et du zinc (Zn). Les résultats indiquent que chez plusieurs *Brassica* spp. il y a une augmentation modérée de l'accumulation de Cd et de Zn (Ebbs et al, 1997).

En effet, chez ces plantes du genre *Brassica*, les concentrations approximatives de Cd et Zn sont respectivement 40 et 2000 mg kg<sup>-1</sup> du poids sec. Il est à noter que le fait d'avoir simultanément plusieurs métaux potentiellement accumulables (le Zn et le Cu), diminue la quantité de Cd concentrée dans les racines de la plante.

Après 4 semaines, toutes les plantes du genre *Brassica* testées sont chlorotiques et rabougries ce qui est symptomatique de la toxicité des métaux lourds. Deux autres espèces de plantes ont également été testées : *Ipomea purpurea* et *Vicia villosa* ; elles sont certes moins hyperaccumulatrices que les plantes du genre *Brassica* mais leur croissance est normale et elles ne présentent pas ou quasiment pas de signes de toxicité dus à la présence de métaux lourds (Ebbs et al, 1997).

#### 3.2.1.1. *Thlaspi caerulescens* :

*Thlaspi caerulescens* est une plante de la famille des Brassicaceae qui a été plusieurs fois étudiée (Brown et al, 1994 ; Brown et al, 1995). Sur un sol riche en Cd et Zn, elle est capable d'accumuler dans les parties aériennes plus de 3% du poids sec de la plante de Zn et 0,1% de Cd (Baker et al, 1994). L'équipe de Ebbs a comparé sa capacité de concentration de Cd et de Zn à celle de trois autres Brassicaceae : *Brassica juncea*, *Brassica rapa*, et *Brassica napus*. Les résultats montrent que dans les conditions expérimentales, la concentration en Cd dans les racines de *T. caerulescens* est 10 fois supérieure à celle des trois autres *Brassica* spp. et la quantité de Zn accumulée par les racines de *T. caerulescens* est 2,5 fois plus importante que celle des trois *Brassica* spp.

Il y a une variabilité considérable dans les données pour *T.caerulescens* avec des valeurs comprises entre 7,4 et 33,5 mg kg<sup>-1</sup> de poids sec pour les concentrations en Cd et 1320 à 2100 mg kg<sup>-1</sup> de poids sec pour les concentrations racinaires de Zn (Ebbs et Kochian, 1997).

L'équipe de Baker a également cherché à comparer la capacité de concentration de 6 espèces différentes, plantées dans trois sols différents (un sol pollué par les vidanges d'effluents contaminés provenant d'activités industrielles, un sol non contaminé composé de fumier d'étable et un mélange des deux). Six espèces de Brassicaceae cultivées sous serre sont comparées : *Brassica oleracea* (le chou), *Raphanus sativus* (le radis), *Thlaspi caerulescens* (un hyperaccumulateur du nord ouest de l'Europe), *Arabidopsis thaliana*, *Alyssum lesbiacum* et *Alyssum murale* qui sont des hyperaccumulateurs de nickel des serpentines grecques.

Après 5 semaines, les parties aériennes sont récoltées et les quantités de métaux contenues sont déterminées. Les résultats montrent que *T. caerulescens* accumule des quantités similaires de Zn quel que soit le sol et elle est 10 fois plus efficace que le chou ou le radis. Les concentrations en Cd, Cu et Ni sont également plus élevées. Les deux espèces du genre *Alyssum* révèlent comme prévu une grande capacité d'accumulation du Ni, mais aussi de façon inattendue, présente un fort taux de Zn et une certaine capacité d'accumulation de Cd, Cu et Cr. Et on note chez *Arabidopsis thaliana* une légère accumulation de Zn (Baker et al, 1991).

En supposant que les mêmes concentrations de métaux soient maintenues dans les plantes matures identiques à celles mesurées dans les jeunes plants de cinq semaines (de l'essai de Baker et al, 1991), on peut extrapoler pour des situations de cultures en plein champ.

L'efficacité de la recapture de *T. caerulescens* peut être estimée par comparaison du surplus de métaux dans le sol pollué par rapport au sol non pollué. Si l'on considère que les concentrations en métaux sont uniformes sur une profondeur de 20 cm, les pourcentages de métaux transportés dans une récolte pourraient atteindre 4,8% de Zn, 0,7% de Cd, 0,4% de Ni, 0,1% de Pb, 0,2% de Cu, 0,1% de Cr, et 0,9% de Co (Baker et al, 1991).

Une autre étude en pots conduit à déterminer la recapture de métaux par deux métalophytes : *T. caerulescens* et *Silene vulgaris* dans différents sols sous des conditions contrôlées. *Lycopersicon esculentum* est pris comme plante de référence car la recapture et la croissance de cette plante ont été beaucoup étudiées.

Les résultats de cette étude montrent que *T. caerulescens* a un plus grand potentiel de phytoremédiation des sols contaminés par du Cd et du Zn que *Silene vulgaris* car elle présente une meilleure tolérance aux sols contaminés par des métaux et une plus grande capacité de concentration du Cd et du Zn dans ses parties aériennes. Cependant, dans le sol le moins contaminé par du Cd et Zn, les concentrations en Cd et Zn au niveau des pousses de *T. caerulescens* ne sont pas plus élevées que pour *Silene vulgaris* (Brown et al, 1994). Ceci a été expliqué par le fait que si *T. caerulescens* est un hyperaccumulateur de Zn reconnu, elle n'est que tolérante au Cd. Ainsi, *T. caerulescens* n'est pas capable d'accumuler du Cd à de faibles concentrations de cet élément dans le sol. Cependant à de fortes concentrations de Cd dans le sol, *T. caerulescens* est capable de capter et de tolérer de plus fort taux de cet élément dans ses tissus par rapport aux autres espèces testées. La plus grande concentration en Cd mesurée dans les parties aériennes de *T. caerulescens*, sans noter de diminution de la production de biomasse (signe de la phytotoxicité) est  $1020 \text{ mg kg}^{-1}$  (Brown et al, 1994).

La plus importante concentration en Zn mesurée chez *T. caerulescens* par rapport à *Silene vulgaris* s'explique par les différences apparentes dans les mécanismes de tolérance utilisés par les deux plantes. L'hyperaccumulation est un procédé évoluant en trois phases : la capture par les racines, le transport dans les tissus et enfin la séquestration du métal dans les parties aériennes. Il a été suggéré que *T. caerulescens* pouvait avoir accès à une portion du pool de Zn non phytodisponible aux espèces traditionnelles (Brown et al, 1994).

Une autre caractéristique des espèces hyperaccumulatrices est qu'elles présentent un ratio : métal contenu dans les pousses / métal contenu dans les racines plus grand que 1 (Brown et al, 1995). Il a été également observé que pour des concentrations élevées de Zn en solution dans le sol, le ratio pousses/racines de concentration de Zn devient alors inférieur à 1.

Ceci suggère que certains mécanismes de l'hyperaccumulation sont moins efficaces lorsque la concentration de Zn en solution augmente (Brown et al, 1995).

Donc *T. caerulescens* est plus efficace que *Silene vulgaris* pour la phytoremédiation de sols contaminés. Ceci est dû à deux facteurs : tout d'abord, *T. caerulescens* tolère des niveaux plus élevés de Cd et de Zn dans les sols et dans les tissus des parties aériennes de la plante, puis les ratios pour le Zn et le Cd pousses/racines sont plus hauts pour *T. caerulescens*. Une grande proportion de métaux est donc séquestrée dans les tissus de la plante qui sont récoltables (Brown et al, 1994).

Malheureusement, *T. caerulescens* n'est pas appropriée à des efforts de phytoremédiation à grande échelle car les plantes sont petites et poussent très lentement, ce qui pose des problèmes de récolte mécanique (Brown et al, 1995 ;Ebbs et Kochian, 1997). De récentes études ont apporté la preuve que d'autres plantes de la même famille, particulièrement du genre *Brassica*, peuvent être plus efficaces. Les espèces comme *Brassica juncea* (L.) Czern, *B. napus* L., et *B. rapa* L. par exemple, ont montré qu'elles étaient capables d'accumuler des quantités modérées de métaux lourds (Ebbs et Kochian, 1997).

### 3.2.1.2. *Brassica juncea*

De récentes observations suggèrent que des espèces produisant beaucoup de biomasse, comme *Brassica juncea* (moutarde indienne), pourraient être plus efficaces dans la phytoextraction du Zn que *T. caerulescens* (Ebbs et Kochian, 1997).

Par exemple, quand *Brassica juncea* et *T. caerulescens* sont plantées sur un sol contaminé par du Zn ( $> 11\ 000$  mg de Zn (kg de sol)<sup>-1</sup>), il a été mesuré qu'après 6 semaines, *Brassica juncea* avait capté 4 fois plus de Zn que *T. caerulescens* (Ebbs et Kochian, 1997). Ceci s'explique par le fait que *Brassica juncea* produit 10 fois plus de biomasse que *T. caerulescens*. Ces résultats indiquent qu'une plus grande production de biomasse au niveau des pousses, permet de compenser une faible capacité de concentration de métal et que les plantes appropriées pour la phytoremédiation ne se limitent pas aux plantes hyperaccumulatrices (Ebbs et Kochian, 1998).

C'est pourquoi une étude sur l'accumulation de Zn, de Cd et Cu par différentes espèces a été menée par Ebbs et Kochian (1998). Sur les vingt-deux espèces étudiées et cultivées sur des cultures hydroponiques, plusieurs deviennent chlorotiques. La plupart des espèces répondent favorablement à un apport de micronutriments sous forme de pulvérisation foliaire, et retrouvent rapidement leur couleur verte. Cependant, même avec un traitement foliaire, l'impact des métaux lourds sur la production de biomasse au niveau des parties aériennes est variable selon les espèces (Ebbs et Kochian, 1998). En effet, quelques espèces testées (*Elymus angustus*, *Panicum virgatum*, *Poa sandbergii*, *Paspallum notatum*, *Sorghum bicolor* et *Festuca longifolia*) ne se sont pas développées dans les conditions de contamination de l'expérience.

Ceci peut être du soit à la toxicité des métaux lourds sur les plantes, soit à une faible capacité de croissance de la plante dans une solution hydroponique. D'autres espèces grandissent en présence de métaux lourds et produisent plus de biomasse que les plants témoins. Cette augmentation de biomasse n'est significative que pour *Elymus curvula*.

En terme de recapture des métaux, l'avoine (*Avena sativa*) et l'orge (*Hordeum vulgare*) sont étonnamment très performants. L'orge capture plus de 20 fois plus de Zn que la meilleure espèce testée (mis à part l'avoine et l'orge) : *Agropyron elongatum* car elle produit presque 10 fois plus de biomasse (Ebbs et Kochian, 1998).

A la suite d'une culture hydroponique, les plantes de *B. juncea* montraient des signes de toxicité sévère et de déficience en nutriments lorsqu'elles poussaient en présence de concentrations élevées de Zn. De faibles teneurs en fer et en manganèse (Mn) dans les pousses sont typiquement associées à cet état (*B. juncea* montrait plus de 80% de réduction de sa production de biomasse au niveau des pousses). Par contre les plants d'avoine et d'orge paraissent assez bien tolérer les métaux lourds et ne montrent que très peu de chlorose et une très faible diminution de leur biomasse (respectivement 16% et 29%).

On constate que si la teneur en Mn dans les pousses est déficitaire pour l'avoine, les teneurs en fer dans les pousses d'avoine et d'orge sont quasiment identiques aux plants témoins (Ebbs et Kochian 1998).

Cependant, l'accumulation de Zn dans les parties aériennes de l'orge et de l'avoine n'est pas significativement différente de celle mesurée chez *B. juncea* en l'absence d'apport de nutriment par une pulvérisation foliaire (Ebbs et Kochian, 1998).

Une expérience en pot utilisant un sol contaminé en Zn, a montré que l'ajout de EDTA au sol provoquait l'augmentation de l'accumulation de Zn par *B. juncea* mais pas pour l'avoine et l'orge. Par ailleurs, l'accumulation de Zn par les plants d'orge était > 2mg de Zn par plant, soit 2 à 4 fois plus que ce que l'on pouvait observer chez *B. juncea* en présence d'EDTA (Ebbs et Kochian 1998).

Les résultats de cette étude suggèrent que l'orge possède un potentiel de phytoremédiation au moins égal sinon supérieur à celui de *B. juncea*.

Une étude menée par l'équipe de Blaylock a montré que la recapture de Cd par *B. juncea* était augmenté par l'addition d'agents chélatants dans le sol. En effet, l'addition de EGTA au sol, accroît la concentration en Cd des pousses de *B. juncea*.

Pour un traitement par 10 mmol/kg d'EGTA, la concentration en Cd dans les pousses est approximativement de 2800 mg/kg tandis qu'elle n'est que de 220 mg/kg pour les plants poussant sur un sol non traité. Les autres agents chélatants testés (CDTA, DTPA, et EDTA) sont moins efficaces que EGTA, mais ils augmentent tout de même la concentration en Cd dans les pousses (1500 mg/ kg pour 10 mmol de chélates appliqué) (Blaylock et al, 1997).

Une étude semblable a permis de montrer que l'apport d'agents chélatants sur un sol contaminé par plusieurs métaux (dont le zinc), pouvait accroître leur concentration dans les parties aériennes de *B. juncea* (Blaylock et al, 1997).

### ***3.2.1.3. Récapitulatif de quelques plantes hyperaccumulatrices de Cd et de Zn poussant en plein champ :***

Le tableau n°7 compare la capacité d'accumuler du Cd dans les parties aériennes des plantes hyperaccumulatrices sauvages et cultivables. D'après ce que l'on peut lire dans la littérature, quelques plantes sont connues comme étant hyperaccumulatrices de Cd.

Parmi ces plantes hyperaccumulatrices on trouve par exemple, *A. murale*. Mais les meilleurs résultats obtenus au cours de cette étude sont ceux d'un arbre : *Salix viminalis* avec au maximum 222 g de Cd extrait par hectare en un an, tandis que ceux mesurés pour *T. caerulescens* ne sont seulement que de 192 g de Cd extrait par hectare et par an.

Ainsi, si l'on suppose que la recapture du Cd par les plantes est linéaire dans le temps, on peut calculer le temps qu'il faudra pour réduire la concentration en Cd du sol de 6,6 mg /kg de sol (qui est la concentration moyenne mesurée dans les champs) à 0,8.mg / kg (qui est la valeur seuil souhaitée en Suisse), soit 77 années pour *S. viminalis* et 89 années pour *T. caerulescens*.

Il est à noter que pour les plantes dites non hyperaccumulatrices comme *Chenopodium album* il faudra patienter environ 5500 années pour obtenir le même résultat.

**Tableau 7 : accumulation de Cd dans des plantes poussant en plein champ (d'après Hansuedi Felix 1997).**

plantes	Nombre d'essais	Années des l'essais	Cd extrait g/ha/an	Nombre d'années nécessaire pour obtenir 0,8 mg/kg de Cd
---------	-----------------	---------------------	--------------------	---

**Les plantes hyperaccumulatrices sauvages :**

<i>Alyssum murale</i>	10	1993-96	22-44	389-777
<i>Thlaspi caerulescens</i>	15	1993-96	92-192	89-186

**Les plantes hyperaccumulatrices cultivables :**

<i>Nicotina tabacum</i>	6	1994	92-115	149-186
<i>Zea mays</i>	9	1994-95	11-47	231-1555
<i>Brassica juncea</i>	13	1996	59-80	214-288
<i>Salix viminalis</i>	6	1995-96	83-222	77-206

**Les autres plantes (non hyperaccumulatrices) :**

<i>Miscanthus sinensis</i>	6	1994	4.6	3717
<i>Raphanus sativus</i>	3	1993	5.0	3420
<i>Brassica napa</i>	3	1993	23.0	743
<i>Chenopodium album</i>	6	1993-94	2.0-2.2	7773-8550

Le tableau n°8 compare la capacité d'accumulation du Zn dans les parties aériennes des plantes hyperaccumulatrices de Zn, cultivables et sauvages. Dans la littérature, il ressort que *T. caerulescens* est hyperaccumulatrice de Zn.

Ceci est confirmé par l'étude de Hansuedi où cette plante apparaît comme étant la plus efficace dans l'accumulation du Zn des plantes testées (34 kg de Zn extrait par hectare et par an). Le coefficient de phytoextraction pour les pousses de *T. caerulescens* est de 3,1. Dans ces conditions, si l'on suppose que l'accumulation de Zn sera toutes les années la même, il faudra 54 années pour réduire la concentration en Zn du sol de 810 mg/kg de sol (qui est la concentration moyenne mesurée dans les champs) à 200 mg/ kg de sol (qui est la valeur seuil souhaitée en Suisse).

De la même façon que pour les plantes hyperaccumulatrices de Cd, on peut remarquer également pour les plantes hyperaccumulatrices de Zn une grande disparité entre les plantes hyperaccumulatrices et celles qui ne le sont pas. En effet, parmi les plantes non hyperaccumulatrices de Zn, *Raphanus sativus* n'extrait que 0,34 kg de Zn / ha / an et demandera 5380 années pour réduire la concentration de Zn dans le sol de 810 à 200 mg / kg (Hansuredi, 1997).

**Tableau 8 : les plantes hyperaccumulatrices de Zn poussant en plein champ (d'après Felix 1997) :**

plantes	Nombre d'essais	Zn extrait kg/ha/an	Nombre d'année nécessaire pour obtenir 200 mg/kg
---------	-----------------	---------------------	--

**Les plantes hyperaccumulatrices sauvages :**

<i>Alyssum murale</i>	3	0.40	4575
<i>Thlaspi caerulescens</i>	3	34.1	54

**Les autres plantes (non hyperaccumulatrices) :**

<i>Raphanus sativus</i>	3	0.34	5382
<i>Brassica napa</i>	3	1.94	943
<i>Solanum nigrum</i>	3	0.51	3588

Ces résultats montrent que plusieurs plantes ont une capacité importante d'accumuler le Cd et/ou le Zn à partir de substrats solides. Les espèces sauvages comme *A. murale* et *T. caerulescens* aussi bien que l'espèce cultivable *S. viminalis* ont les plus grandes capacités d'accumulation de métaux des espèces testées. Et il est vraiment flagrant que cette accumulation de métaux est rigoureusement plus élevée chez les plantes hyperaccumulatrices que chez les autres plantes.

### 3.3. Le nickel

#### 3.3.1. Des taux de nickel (Ni) naturellement élevés chez différentes plantes.

Les concentrations en Ni dans les feuilles des plantes se situent normalement entre 0.5 et 10  $\mu\text{g g}^{-1}$  de matière sèche. Sur les serpentines et les autres sols riches en magnésium ou en fer (ultrabasiques), qui contiennent généralement de 500 à 5000  $\mu\text{g g}^{-1}$  de Ni, il a été constaté que les plantes présentaient des concentrations en Ni légèrement élevées par rapport aux valeurs normales : entre 5 et 100  $\mu\text{g}$  de Ni par g de matière sèche. Cependant, une petite proportion de ces plantes tolérant les sols riches en Ni (pas plus de 1 à 2% dans le monde entier) présentent une accumulation extrême de Ni atteignant plus de 10 000  $\mu\text{g g}^{-1}$  (soit 1%) dans certains cas.

Les études du métabolisme des plantes hyperaccumulatrices de Ni en sont à leur début, et les processus biochimiques par lesquels le Ni est absorbé, transporté et séquestré ne sont pas encore très bien compris.

#### 3.3.2. Les plantes hyperaccumulatrices de nickel :

Les hyperaccumulateurs de Ni sont prédominants dans la famille des *Brassicaceae* notamment dans le genre *Alyssum* (45 espèces), dans les familles *Flacourtiaceae*, *Violaceae*, *Euphorbiaceae*, et *Sapotaceae* de Nouvelle Calédonie (40 espèces). Les espèces de Nouvelle Calédonie incluent une plante remarquable : *Serbertia acuminata* dont le latex contient plus de 20% de Ni par rapport à son poids sec.

##### 3.3.2.1. La famille des *Brassicaceae*

###### 3.3.2.1.1. Le genre *Alyssum*

*Alyssum bertolonii* est une plante de la famille des *Brassicaceae* que l'on retrouve confinée dans les serpentines riches en nickel des alentours de Florence en Italie.

Dès 1948, il avait été mis en évidence que cette plante avait une teneur en Ni extraordinairement élevée : environ 10000  $\mu\text{g}$  de  $\text{Ni}\cdot\text{g}^{-1}$  de matière sèche, soit 1% de la matière sèche et l'on retrouve environ 10% de Ni dans les cendres de cette matière sèche.

Depuis, de nombreux travaux ont été effectués et l'on connaît aujourd'hui 400 plantes dites hyperaccumulatrices de Ni. Il est à noter ici que l'on considère qu'une plante accumule le Ni dès lors que l'on retrouve 1000  $\mu\text{g}$  de Ni /g de matière sèche (soit 0,1%) pour une plante poussant dans son habitat naturel.

L'équipe de Robinson (1997) a calculé les concentrations moyennes de Ni dans les tissus reproductifs et les tissus végétatifs de 40 spécimens de *Alyssum bertolonii* poussant sur un sol contenant 0,16 % de Ni. Les résultats montrent que les concentrations dans les cendres des plantes sont en moyenne 60 fois la concentration en Ni du sol et dans quelques cas ce facteur est de 160.

Ainsi il est possible d'utiliser des plantes pour extraire des minerais de qualité inférieure dont l'extraction ne serait pas rentable autrement. C'est ce que l'on peut appeler la phytoextraction. Ces minerais de Ni de qualité inférieure se retrouvent sur une grande surface de la terre notamment à l'ouest de l'Australie, en Italie, au Canada, au Brésil, et en Russie (Robinson et al, 1997).

Mais il faut ici bien faire la différence entre la phytoextraction et la phytoremédiation qui utilisent toutes les deux la capacité des plantes d'accumuler certains métaux mais à des fins différentes. La phytoextraction se caractérise par l'utilisation des plantes pour extraire des minerais du sol à des fins commerciales tandis que la phytoremédiation permet d'épurer les sols pollués dans le but de réhabiliter ce sol.

Expérimentalement, Robinson (1997) a montré qu'il y avait une corrélation hautement significative entre la recapture de Ni dans les tissus reproductifs de *A. bertolonii* et la teneur en Ni extractible du sol.

Ainsi, l'addition de fertilisants qui augmentent la disponibilité du Ni pourraient augmenter la teneur en Ni dans les plantes. L'extractibilité à pH 7 de différents métaux des sols a été testée sous 6 régimes de fertilisation différents. Les résultats montrent que l'extraction du Ni ne varie pas avec la nature du traitement sauf dans le cas où l'on apporte du carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ) seul, ou associé à N+K+P. Dans ce cas on constate que l'extractibilité du Ni est diminuée de moitié.

Les expériences de l'équipe de Robinson ont démontré que les arbrisseaux endémiques des serpentines Italiennes (*Alyssum bertolonii*) ont un potentiel de phytoextraction pour le Ni, en Italie et ailleurs, notamment dans les zones méditerranéennes. Cependant, il y a des limites économiques en termes de production de biomasse et de teneur naturelle en Ni des plantes.

#### 3.3.2.1.2. Le genre *Streptanthus*

Une étude menée par l'équipe de Reeves s'est intéressée aux genres *Streptanthus* et *Caulanthus* que l'on retrouve en Californie. Les espèces du genre *Caulanthus* ne sont pas typiques des sols riches en Ni (serpentine) et aucune de ces espèces n'est répertoriée comme étant prédominante sur un tel sol. Cependant, 80 espèces de ces deux genres ont été analysées par l'équipe de Reeves. Les résultats montrent qu'à l'exception de deux espèces du genre *Caulanthus* (*C. inflatus* et *C. amplexicaulis*), aucune n'a de teneur en Ni significative.

Pour ce qui est des espèces du genre *Streptanthus*, toutes les espèces connues pour être endémiques ou tolérantes des serpentines ont des teneurs en Ni typiques des plantes poussant sur des sols riches en Ni (10 à 100 µg/g). Cependant, *S. polygaloides* apparaît comme étant le meilleur hyperaccumulateur de Ni du genre (Reeves et al, 1981).

En effet, *Streptanthus polygaloides* est capable d'accumuler 14800 µg de Ni / g de matière sèche (soit 1,48%) c'est à dire environ 100 fois plus que les autres espèces endémiques des serpentines du même genre. C'est la seule plante hyperaccumulatrice de Ni véritablement naturelle que l'on ait découvert jusqu'ici en Amérique du Nord (Robinson et al, 1997).

#### 3.3.2.2. La famille des *Buxaceae*

Cette famille est fortement représentée à Cuba où l'on retrouve plusieurs zones de serpentines. En effet, on compte 37 espèces dont 30 sont des espèces qui ne poussent que sur des serpentines.

Reeves et al ont analysé 34 des espèces de la famille des *Buxaceae* que l'on trouve à Cuba parmi lesquels 4 poussaient sur un sol calcaire et les 30 autres étant les espèces endémiques des serpentines.

Les résultats ont montré que les 4 espèces qui poussaient sur du calcaire n'accumulaient que très peu de nickel (de 1 à 17 µg g<sup>-1</sup> de matière sèche).

Les plantes poussant sur les serpentines montrent une gradation dans leur capacité d'accumuler le Ni. En effet, certaines espèces ne concentrent que très peu le Ni (2 à 50  $\mu\text{g g}^{-1}$ ) comme par exemple *B. acunae* ou *B. leoni*, par contre d'autres espèces, en particulier celles que l'on retrouve dans les forêts humides ou moussues (*B. marginalis* ou *B. muelleriana*), présentent des concentrations en Ni comprises entre 50 et 100  $\mu\text{g g}^{-1}$  ce qui est normal compte tenu du fait qu'elles poussent sur des sols riches en Ni. Et puis il y a 17 espèces hyperaccumulatrices concentrant au moins 1000  $\mu\text{g g}^{-1}$  de Ni avec *B. vaccinioides* qui a une concentration en Ni de 25420  $\mu\text{g g}^{-1}$  de matière sèche soit 2,5% (Reeves et al, 1996).

### 3.3.2.3. La famille des Euphorbiaceae

#### 3.3.2.3.1. Le genre *Leucocroton* :

C'est un genre endémique de Cuba et de Haïti. 28 des 30 espèces analysées par l'équipe de Reeves (1996) sont endémiques des serpentines Cubaines.

Les résultats montrent que toutes les espèces endémiques des serpentines sont accumulatrices de Ni tandis que les deux espèces non endémiques des serpentines présentent des concentrations en Ni très faibles (< 6  $\mu\text{g}$  de Ni / g de matière sèche). Dans de nombreux cas les concentrations en Ni sont supérieures à 10 000  $\mu\text{g g}^{-1}$  et *L. linearifolius* est l'espèce qui accumule le plus de Ni (27 240  $\mu\text{g g}^{-1}$ ).

D'autre part, il apparaît que la spéciation et l'accumulation de Ni évoluent avec l'âge des serpentines. Ceci a bien été mis en évidence sur l'île de Cuba qui possède des zones vieilles (à l'est de l'île) et des zones de serpentines plus jeunes (coté ouest). Ainsi, parmi les 28 espèces endémiques analysées par Reeves, 24 proviennent de vieilles zones de serpentines (Reeves et al. 1996). Ainsi, au plus la serpentine vieillit, au plus il y a de chances de voir s'y développer des espèces hyperaccumulatrices de Ni.

### 3.3.2.3.2. Le genre *Phyllanthus* :

C'est l'un des plus grands genres de la famille des *Euphorbiaceae* avec plus de 600 espèces dans les régions tropicales et subtropicales. En Nouvelle Calédonie, ce genre est très représenté sur les serpentines qui supportent 76 des 110 espèces de l'île dont 14 sont des hyperaccumulatrices de Ni. A Cuba il y a 53 espèces et sous espèces dont la moitié pousse obligatoirement sur des serpentines.

L'équipe de Reeves a également analysé 45 espèces de ce genre provenant de Cuba, de la république Dominicaine et de Puerto Rico.

Les résultats montrent que là aussi, les plantes poussant sur des sols calcaires n'accumulent quasiment pas de Ni. Les hyperaccumulateurs de Ni sont surtout représentés par le sous-genre *Xylophylla* et tout particulièrement la section *Orbicularia* qui sont exclusivement des accumulateurs de Ni.

Pour de nombreuses espèces, l'hyperaccumulation est extrême (>1%) et les concentrations de Ni chez l'hybride *P. pallidus* sont les plus élevées avec un record à 60000 µg de Ni /g de poids sec (soit 6%) (Reeves et al, 1996).

Comme pour les genres *Leucocroton* et *Buxus*, les espèces accumulant le Ni du genre *Phyllanthus* sont centrées sur les vieux sols contenant des serpentines (sur les 24 hyperaccumulateurs Cubains, 20 sont trouvés exclusivement sur les sols anciens de l'est de Cuba).

Dans le mécanisme de spéciation de la flore des îles et particulièrement celle de Cuba, le mouvement génétique peut jouer un rôle important. Ce procédé est conditionné par de nombreuses petites espèces de plantes à fleurs (dont les arbrisseaux des serpentines) pollinisées par des insectes de très petite taille.

Généralement, ces insectes ne sont pas capables de voler sur de grandes distances et ils préfèrent se mettre à l'abri du vent en restant proches des plantes. Ainsi, le passage de gènes entre des plantes éloignées (du point de vue géographique) est difficile voire impossible.

Cette barrière a dû contribuer significativement à l'isolement de populations sujettes à un mouvement génétique, et il en résulte l'apparition d'un grand nombre d'espèces endémiques (Reeves et al, 1996).

On peut conclure que globalement, une plante hyperaccumulatrice de Ni a des sols de prédilection : ils sont ultrabasiques (de type des serpentines) et riches en Ni.

### **3.4. Le sélénium**

La qualité de l'eau spécialement en ce qui concerne les contaminants, est une priorité émanant de l'ouest des USA. En particulier pour le sélénium (Se), dont on a retrouvé une haute concentration au refuge national de la faune de Kesterson en Californie.

Avec l'irrigation agricole en continue, le sélénium et le sel sont filtrés dans les eaux d'écoulement. Comme l'eau est retirée du sol par évapotranspiration, les concentrations de Se et de sel dans les eaux d'écoulement peuvent voir leur taux s'élever. C'est approximativement 160 000 ha de terre agricole dans la vallée de San Joaquin (Californie) où l'on estime avoir des taux élevés de sel et de Se. (Terry, et al, 1992).

Des mesures de la quantité en Se contenue dans les eaux d'écoulement du côté Ouest de la vallée de San Joaquin, ainsi que dans des champs agricoles de la Californie centrale, ont montré que les concentrations peuvent atteindre des valeurs élevées comme 3,8 mg de Se L<sup>-1</sup>. Par ailleurs, l'excès d'irrigation agricole du centre de la Californie accélère la mise en solution et la fuite du Se, du bore (B) et d'autres éléments traces du sol. Bien que le Se soit un élément trace essentiel à l'homme et aux animaux, sa bioconcentration dans les chaînes alimentaires provoque des déformations dont les premières ont été observées chez le gibier d'eau fréquentant le refuge national de la faune de Kesterson en Californie (Banuelos, et al, 1997). De plus, plusieurs autres sites dans l'ouest des USA sont aussi contaminés par du Se. Des problèmes toxicologiques similaires avec le gibier sauvage dans ces régions doivent être prévenus à moins que des stratégies soient développées pour atténuer le mouvement du Se des sols riches en Se.

Plusieurs stratégies pour réduire la charge de Se entrant par l'effluent ont été évaluées. L'une d'elle améliore les pratiques d'exploitation et l'efficacité d'irrigation de l'agriculture pour réduire le volume d'effluent.

Conjointement à l'irrigation et au maniement du système d'écoulement des eaux, un laboratoire de recherche a évalué la phytoremédiation comme une approche pour réduire les hautes concentrations de Se dans le sol. Dans cette approche, les plantes utilisées sont celles capables d'accumuler et de volatiliser le Se contaminant le sol et les sédiments.

En effet, avec ces plantes, le Se peut être extrait et/ou volatilisé du sol, transloqué dans les tissus des pousses et éliminé si le matériel de la plante est chargé en Se (Banuelos, and al,1997).

#### 3.4.1. Les plantes hyperaccumulatrices de Se :

Plusieurs espèces de plantes, classées comme des accumulatrices de Se, possèdent la capacité d'extraire et/ou d'accumuler des milliers de milligrammes de Se par kilogramme de poids sec. Parmi elle on trouve les espèces comme *Astragalus* et *Stanleya*, malheureusement leur utilisation en phytoremédiation est limitée parce qu'elles ont une croissance faible, produisent une faible biomasse et ont des exigences de croissance mal connues.

Banuelos et Meek ont montré en 1990 que les membres de la famille *Brassicaceae*, des plantes accumulant le soufre (S), absorbaient de grandes concentrations de Se car elles ne sont pas capables de distinguer les sélénates ( $\text{SeO}_4^{2-}$ ) des sulfates ( $\text{SO}_4^{2-}$ ).

A partir de cette donnée, l'équipe de Banuelos a évalué la capacité des plantes de la famille des *Brassicaceae* (par rapport aux plantes ne faisant pas partie de cette famille), à recapter ou volatiliser le sélénium du sol. Leurs résultats montrent que les plantes de la famille des *Brassicaceae* accumulent non seulement de hauts taux de Se, mais elles peuvent contribuer également à la volatilisation du Se par les plantes et/ ou les micro-organismes. Parmi les différentes espèces de la famille des *Brassicaceae*, il a été montré que *Brassica juncea* (moutarde indienne) est l'espèce qui accumule le plus de Se (Banuelo et al, 1997).

Par ailleurs, une autre étude a mis en évidence que *Brassica juncea* accumule plus de Se que quatre autres espèces : *Atriplex semibaccata*, *Astragalus incanus*, *Atriplex nummularia* et *Festuca arundinaceae* (Banuelos et Meek, 1990).

#### 3.4.2. L'efficacité des plantes hyperaccumulatrices de Se :

La disponibilité du Se pour l'absorption par la plante dépend de sa forme dans les sols, et d'autres facteurs (trouvés dans quelques sols contenant une grande concentration de Se). Parmi eux, on peut citer : les transformations d'oxydation et de réduction dans le sol, les réactions d'adsorption, les hautes concentrations en bore et la salinité (Banuelos, et al,1997).

L'équipe de Banuelos a mené une autre étude qui consiste à évaluer, sur une période de un an dans une serre, le transport de Se dans les pousses des plantes et la diminution du Se dans le sol. Deux sols sont utilisés :

- un sol sélénifère (collecté à Kesterson), qui contient environ  $40 \text{ mg kg}^{-1}$  de sol, du bore (B) extractible par l'eau :  $10 \text{ mg B.L}^{-1}$ .
- un terreau sableux non sélénifère collecté à l'emplacement d'un champ agricole qui joue le rôle de témoin.

Trois espèces de plantes sont testées : *Brassica napus* cv. Westar (canola), *Hibiscus cannabinus* L. cv. Indian (kenaf), et *Festuca arundinacea* Schreb. Cv. Alta (la grande fétuque).

Les résultats montrent que les trois plantes plantées dans le sol sélénifère présentent 7 ou 10 jours de retard de croissance par rapport à ces mêmes plantes plantées cette fois dans le sol non sélénifère. Et, seules *Brassica napus* et *Hibiscus cannabinus* poussant dans le sol sélénifère montrent une significative baisse de production des pousses (par rapport au sol non sélénifère).

Cependant, bien que les plantes produisent moins de biomasse, on constate que sur un sol sélénifère, la quantité de Se dans les feuilles atteint :

- $470 \text{ mg de Se kg}^{-1}$  de matière sèche chez *Brassica napus*
- $45 \text{ mg de Se kg}^{-1}$  de matière sèche chez *Hibiscus cannabinus*
- $50 \text{ mg de Se kg}^{-1}$  de matière sèche chez *Festuca arundinacea*

Cependant, il y a une significative diminution de la quantité de Se dans les tissus avec les plantations et coupes consécutives sur le même sol pour toutes les espèces grandissant dans le sol sélénifère. Si l'on compare les concentrations en Se dans les tissus de la première plantation, on constate que *Brassica napus* accumule en moyenne 40 % de moins de Se et *Hibiscus cannabinus* 20% de moins de Se avec les plantations successives sur le même sol. Pour *Festuca arundinacea*, les concentrations en Se dans les tissus au cours des coupes successives sont en moyenne 60% plus faibles que celles de la première coupe.

En ce qui concerne les concentrations de Se au niveau des racines, les résultats montrent une diminution des concentrations seulement pour une espèce : *Brassica napus* (Banuelos et al, 1997).

La culture de toutes ces espèces différentes permet une réduction significative de la quantité de Se total dans le sol.

En effet, après trois plantations successives de *Brassica napus* dans le même sol la quantité totale de Se dans le sol est 47% plus faible qu'avant la plantation, après deux plantations de *Hibiscus cannabinus* la quantité de Se totale dans le sol est 23% plus faible et après une plantation et sept coupes de *Festuca arundinacea* la teneur en Se du sol est 21% plus faible qu'avant la plantation (Banuelos et al, 1997).

Ainsi ces trois espèces présentent un potentiel de réduction de la quantité totale de Se dans le sol chargé en Se. Mais parmi ces trois, *Brassica napus* est la plus efficace pour réduire la concentration de Se et a probablement une chance raisonnable de succès dans un schéma de phytoremédiation.

Parce que le taux d'extraction de Se du sol obtenu par les plantes cultivées en serre est plus efficace que celui obtenu chez des plantes cultivées en plein champ (due à une plus grande densité racinaire pour des cultures en serre), l'extrapolation des données obtenues en serre à des conditions de culture en plein champ doit être faite avec précaution. En effet, dans des conditions de plein champ, les racines des plantes s'étendent vraisemblablement en dessous de la profondeur contenant la plupart du Se contaminant. Ceci pourra diminuer réellement la recapture du Se.

Bien que la phytoremédiation nécessite plusieurs années avant que les concentrations en Se du sol soient significativement diminuées, les végétaux peuvent réduire les concentrations de Se totales avec un minimum de coût.

#### 3.4.3. Les plantes capables de volatiliser le Se :

La flore microbienne est capable de former des composés volatils sélénifères, principalement du dimethylsélénide. Le sélénium inorganique aussi bien que le sélénium organique ajouté par des résidus de plantes ou d'animaux, peut être converti en ce métabolite volatil. La volatilisation du Se est grandement influencée par la composition chimique du sol et par les conditions physiques incluant la disponibilité du Se, la température la teneur en eau mais aussi les paramètres microbiologiques.

En effet, aucune volatilisation ne se produit lorsque le sol est stérilisé à la vapeur et que toute activité microbiologique est éliminée (Zieve et Peterson, 1984).

La gestion de l'agriculture sur le problème du Se est une préoccupation majeure. Ainsi, déjà en 1988, Frankenberger et Karlson avaient proposé l'utilisation de la volatilisation du Se par les micro-organismes comme un moyen d'éliminer le Se du sol (Terry et al, 1992). Mais les plantes sont elles aussi capables de volatiliser le Se, et la gestion de la végétation peut être considérée comme une méthode potentiellement importante pour réduire la quantité de Se dans le sol. En effet, les plantes sont efficaces dans le transport du Se depuis les zones profondes du sol. Zieve et Peterson ont mesuré la totalité de Se volatilisé d'un sol non planté versus un sol dans lequel ils ont planté un jeune plant d'orge (Zieve et Peterson, 1984). Ils ont mis en évidence que le sol avec le jeune plant d'orge élimine 15% de plus de Se que le sol non planté. Un peu plus tard, deux autres chercheurs (Biggar et Jayaweera) ont obtenu des résultats indiquant que l'orge volatilisait 19,6 fois plus de Se que dans un sol non planté. Ainsi, les plantes peuvent avoir un rôle clé dans la gestion du Se dans les sols en volatilisant l'excès de Se dans l'atmosphère (Norman Terry et al. 1992). Pour volatiliser le Se, la plante possède des systèmes enzymatiques qui transforment les ions sélénates en sélénocysteine puis en sélénométhionine et enfin en sélénium diméthylé qui est volatil (Zayed et Norman, 1992).

Zieve et Peterson ont étudié deux espèces de plantes : des jeunes plants d'orge (*Hordeum vulgare*) âgés d'une semaine et des plants de *Agrostis tenuis* vieux de six semaines. Ces plantes grandissent dans des conditions contrôlées et le développement de leurs racines se fait dans un sol ou dans une solution hydroponique contenant une faible concentration de  $^{75}\text{Se}$ . Pour les deux espèces, la volatilisation des composés sélénifères commence très peu de temps après l'application de  $^{75}\text{Se}$  comme solution nutritive et la majorité de la radioactivité peut être détectée dans les premières 24h. Etant donné qu'une très faible quantité de  $^{75}\text{Se}$  est apportée ( $7\mu\text{g l}^{-1}$ ), il est possible d'en déduire que la volatilisation du Se peut avoir lieu naturellement même si le sol n'est pas très contaminé (Zieve et Peterson, 1984).

L'étude des relations entre l'accumulation de Se dans les racines et les pousses et l'évolution de la quantité de  $^{75}\text{Se}$  retrouvée dans l'atmosphère montre que l'accumulation de Se dans les racines est au départ très rapidement augmentée. Ceci est considéré comme étant dû principalement à un processus d'échange d'ions. La volatilisation du Se dans l'atmosphère est maximale seulement 10 heures après l'application du Se radioactif.

Ceci coïncide avec l'accumulation de concentrations appréciables de Se dans les racines (Zieve et Peterson, 1984).

Des études en serre montrent que les sols plantés avec de jeunes plants d'orge dégagent plus de Se que les sols non plantés, ce qui appuie l'hypothèse que les plantes jouent un rôle dans le procédé de volatilisation (Zieve et Peterson, 1984).

Une expérience menée par Terry et ses collègues (1992) avait pour but de mesurer le taux de volatilisation de Se par 15 espèces de plantes cultivées dans des conditions standardisées (tableau 9). Par souci de simplification, les 15 plantes ont été réparties en trois groupes :

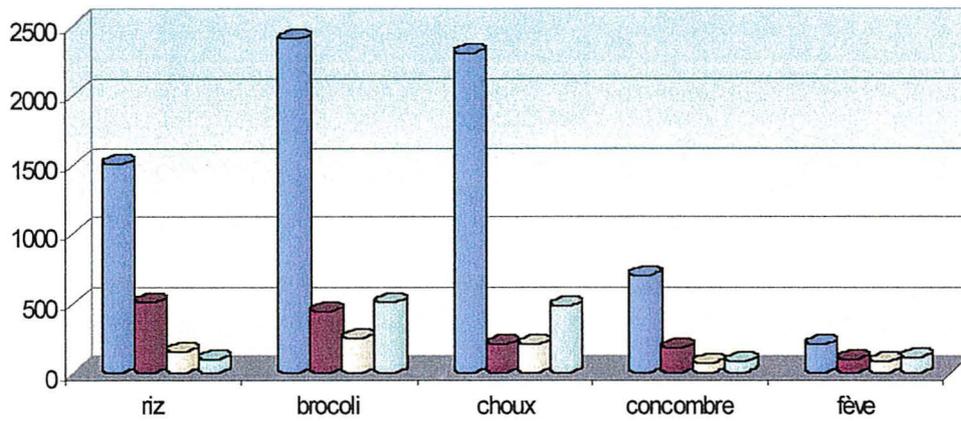
- Les plantes à fort taux de volatilisation du Se (riz, brocoli, et choux).
- Les plantes à moyen taux de volatilisation du Se (carotte, orge, luzerne, tomate, concombre, cotonnier, aubergine, et maïs ).
- Les plantes à faible taux de volatilisation du Se (betterave à sucre, fève, laitue, et oignon).

Les résultats montrent que le groupe des plantes à fort taux de volatilisation du Se présente des taux de volatilisation significativement plus élevés (environ 10 fois plus de  $\mu\text{g}$  de Se/kg de poids sec/jour et 30 fois plus de  $\mu\text{g}$  de Se/m<sup>2</sup> de feuille/jour) que les plantes appartenant aux deux autres groupes. La différence entre les deux derniers groupes est moindre.

Les plantes qui ont de hauts taux de volatilisation de Se ont tendance à avoir des fortes concentrations de Se dans leurs tissus. Ainsi, le riz, le brocoli, et le choux, qui sont les trois meilleures plantes volatilisatrices, présentent de fortes concentrations de Se dans leurs tissus (tableau 10).

Lorsque les 15 espèces sont comparées ensemble, les taux de Se volatilisés paraissent fortement corrélés avec les concentrations de Se dans les tissus des pousses (tige et feuille), mais il y a une moins bonne corrélation avec les concentrations en Se des tissus racinaires. Ainsi, la capacité pour une plante d'absorber et de transloquer le Se dans les tissus des pousses pourrait être un important facteur contribuant à un fort taux de volatilisation. En effet pour le riz, le fort taux de volatilisation est associé à une forte concentration de Se dans les pousses, la concentration au niveau des racines est par contre faible (Figure 4). De même pour le concombre, (faisant parti du groupe des plantes modérément volatilisatrices) et pour la fève (faisant partie du groupe de plantes faiblement volatilisatrices), on constate que le faible taux de volatilisation est corrélé avec de faibles concentrations de Se dans les tissus des plantes.

**Figure 4: Corrélation entre le taux de volatilisation du Se et les concentrations dans les tissus des plante (D'après les données de N. Terry et al. 1992).**



- Taux de volatilisation du Se ( $\mu\text{g}$  de Se/kg de poids sec/jour)
- Concentration de Se dans les feuilles (mg Se/kg de poids sec)
- Concentration de Se dans les tiges (mg Se/kg de poids sec)
- Concentration de Se dans les racines (mg Se/kg de poids sec)

**Tableau 9 : les taux de volatilisation du Se chez 15 plantes cultivées dans des conditions standardisées (d'après Terry et al, 1992)**

Les plantes	$\mu\text{g}$ de Se/kg de poids sec/jour	$\mu\text{g}$ de Se/m <sup>2</sup> de feuille/jour
-------------	--	--

**Plantes à haut taux de volatilisation du Se**

riz	1500	350
brocoli	2400	280
choux	2300	220

**Plantes à moyen taux de volatilisation du Se**

carotte	510	100
orge	500	100
luzerne	300	70
tomate	700	70
concombre	700	50
cotonnier	500	40
aubergine	450	40
maïs	350	30

**Plantes à faible taux de volatilisation du Se**

betterave à sucre	200	20
fève	200	10
laitue	150	10
oignon	200	10

L'une des raisons de faire cette étude est d'explorer la capacité des plantes à réduire les taux de Se dans les sols contaminés.

Les résultats de cette étude ont montré que le riz a un taux de volatilisation du Se de 350  $\mu\text{g}$  de Se m<sup>-2</sup> de surface de feuille jour<sup>-1</sup>. D'autre part, le riz a un index de surface de feuille maximum (c'est à dire la surface des feuilles totale par surface de sol) de 11,8 ainsi, le riz a un potentiel maximum de volatilisation du Se de 4,01 mg de Se jour<sup>-1</sup> m<sup>-2</sup> de surface de sol.

Il est intéressant de calculer le taux potentiel de volatilisation du Se en utilisant les données comparatives obtenues dans cette étude. Il faut cependant noter que ces taux potentiels sont estimés seulement en se basant sur des données obtenues sur des plantes grandissant sur un milieu hydroponique et cultivées en laboratoire. Il faut donc interpréter avec précaution l'extrapolation à la croissance des plantes dans des conditions de plein champ.

En ce qui concerne le brocoli et le chou, la valeur de leur index de surface de feuille est de 5. Le brocoli volatilise  $280 \mu\text{g de Se m}^{-2} \text{ jour}^{-1}$  et le chou  $220 \mu\text{g de Se m}^{-2} \text{ jour}^{-1}$ . Ils peuvent donc respectivement avoir un taux de volatilisation maximum de 1,3 et 1,1 mg de Se  $\text{jour}^{-1}\text{m}^{-2}$  de surface de sol (Terry et al, 1992).

**Tableau 10 : Concentrations moyennes en Se dans les tissus des plantes (d'après Terry et al, 1992).**

Les plantes	Concentrations de Se dans les tissus des plantes (mg/kg de poids sec)		
	feuilles	tige	Racines
Riz	500	150	100
Brocoli	440	250	500
Choux	200	200	475
Carotte	100	50	100
Orge	380	100	140
Luzerne	275	50	50
Tomate	225	75	100
Concombre	175	70	75
Cotonnier	125	60	125
Aubergine	175	110	100
Maïs	75	50	50
Betterave à sucre	25	25	125
Fève	100	80	110
Laitue	75	40	60
Oignon	175	150	175

### 3.4.3.1. Interaction sulfate / sélénium

L'équipe a comparé des résultats pour l'orge avec ceux de Biggar et Jayaweera, qui ont mesuré la volatilisation de Se par l'orge poussant sur les sols fortement contaminés de Kesterson. Ils ont obtenu un taux de  $22 \mu\text{g de Se jour}^{-1} \text{ m}^{-2}$  de surface de sol tandis que l'équipe de Terry a estimé ce taux à  $102 \mu\text{g de Se jour}^{-1} \text{ m}^{-2}$  de feuille d'orge ; en considérant que l'index maximum de surface de feuille par surface de sol ait une valeur de 5, dans les conditions de plein champ, le taux que l'on devrait obtenir serait de  $510 \mu\text{g de Se jour}^{-1} \text{ m}^{-2}$  de surface de sol. Ce dernier est considérablement plus haut que celui obtenu par mesure directe à Kesterson. Une raison possible de cette différence entre les valeurs expérimentales estimées pourrait être que le haut niveau de sulfate constaté dans le sol de Kesterson diminue le taux de volatilisation du Se (ce qui a d'ailleurs été montré en laboratoire).

En effet, les sols qui ont une grande quantité de Se disponible, sont également souvent riches en sulfate. Il est maintenant connu qu'une haute concentration de sulfate dans un sol diminue par compétitivité la recapture du sélénium des plantes (Zayed et Norman, 1992).

C'est pourquoi, afin de mieux comprendre comment le sulfate interagit pour affecter la volatilisation du Se, Zayed et Norman ont mesuré les effets des sulfates sur les concentrations de Se et de soufre (S) dans les tissus d'une plante ayant un fort taux de volatilisation du Se (le brocoli) et les effets sur sa croissance.

Les résultats montrent que le taux de volatilisation du Se mesuré au niveau des feuilles de brocoli diminue significativement avec l'augmentation des taux de sulfate dans la solution nutritive. En effet le taux de volatilisation est de  $96,7$  et  $13,8 \mu\text{g de Se par jour et par mètre carré de surface de feuille}$  pour des concentrations respectives en sulfate de  $0,25$  et  $10 \text{ mM}$  (Zayed et Norman, 1992). Ceci s'explique par le fait que l'absorption et la translocation des ions sélénates dans les plantes sont étroitement liées à celles des ions sulfates. Leggett et Epstein (1956) avaient déjà montré que les ions sélénate étaient absorbés au niveau des cellules racinaires par le même transporteur responsable de l'absorption des ions sulfate et ce, avec une affinité similaire. Ainsi sélénate et sulfate sont en compétition pour le même transporteur membranaire au niveau des racines. Cependant, il faut noter qu'il n'y a pas de diminution significative de la concentration en Se dans les tissus de la plante lorsque la quantité de sulfate passe de  $0,25$  à  $1 \text{ mM}$ . Ceci porte à croire qu'il n'y a pas de compétition de recapture (entre sulfate et sélénate) par le brocoli pour de faibles niveaux de sulfate ( $< 1 \text{ mM}$ ). La supplémentation en sulfate a un effet sur la croissance des plants de brocoli.

En effet, la quantité totale de matière sèche de plante croît progressivement avec l'augmentation de la supplémentation en sulfate. Cette augmentation de masse sèche n'est en fait pas très importante puisqu'elle n'est que de 52% au maximum pour un apport de sulfate allant de 0,25 à 10 mM (soit un facteur 40). (Zayed et Norman, 1992).

#### 3.4.3.2. *Extraction simultanée du bore et du sélénium :*

Les éléments traces comme le bore (B) et le sélénium se trouvent dans de nombreux sols de la Californie. Le climat aride et l'altération des sédiments formés de grès et d'argile schisteuse aboutissent à l'accumulation de bore et de sélénium solubles dans les sols. Des décennies d'irrigation extensive et d'évaporation de ces sols alcalins ont été des facteurs majeurs de la transformation, de la mobilité et de la concentration du B et du Se, qui menacent éventuellement aujourd'hui la qualité des eaux de surface et d'écoulement ainsi que les écosystèmes agricoles (Banuelos et al, 1993).

La mobilité du bore dans le sol peut se faire par un transport du bore vers la surface du sol ou vers la profondeur du sol.

Le bore est extrêmement toxique pour certaines plantes à des concentrations seulement légèrement au dessus de la concentration optimale pour d'autres. La quantité de B nécessaire pour les plantes est faible et la différence entre la concentration minimale et toxique est très faible (Banuelos et al, 1993).

Plusieurs facteurs ont été décrits comme pouvant influencer l'adsorption de B dans le sol. Parmi eux on trouve : le pH, la texture, le degré de sécheresse, la température, la composition ionique du sol en solution. Le B fixé au sol peut être désorbé par un lessivage du sol avec de l'eau mais ceci est d'autant plus difficile qu'il y a longtemps que le bore est fixé au sol. Mais réhabiliter un sol par cette méthode demande une grande quantité d'eau, c'est pourquoi d'autres méthodes ont été recherchées. Ainsi pour éliminer le bore du sol, la végétation a été utilisée. En 1991, une équipe de chercheurs a mis en évidence qu'il existait de fortes teneurs en bore dans des sols également riches en Se. De cette observation découle l'idée d'utiliser des herbes vivaces tolérantes au bore ou des légumes pour capter le Se des sols aussi chargés en bore (Banuelos et al, 1993).

L'équipe de Banuelos a étudié quatre espèces tolérantes à la fois des hautes concentrations de Se et de B : *Brassica juncea*, *Festuca arundinacea*, *Lotus corniculatus*, et *Hibiscus cannibinus*.

Deux expériences ont été menées séparément pour étudier la capacité de recapture du B et du Se de ces quatre espèces de plantes poussant dans un sol contenant de fortes concentrations de B extractible par de l'eau (de 1 à 10 mg kg<sup>-1</sup> de sol) et de Se (quantité totale de Se dans le sol allant de 0,1 à 1,2 mg kg<sup>-1</sup> de sol).

Dans la première expérience (1990) il n'y avait pas de différence entre les espèces pour les concentrations en B ou en Se dans les tissus des plantes. La concentration moyenne dans les tissus était de 105 mg de B kg<sup>-1</sup> de matière sèche et 0,75 mg de Se kg<sup>-1</sup> de matière sèche.

Dans la deuxième expérience (1991), la concentration moyenne en B dans les tissus des pousses allait de 96 mg kg<sup>-1</sup> de matière sèche pour *Festuca arundinacea* à un maximum de 684 mg de B kg<sup>-1</sup> de matière sèche dans les feuilles de *Hibiscus cannibinus* (Banuelos et al, 1993).

Il a été également observé que *Brassica juncea* accumulait la plus grande quantité de Se (> 1 mg de Se kg<sup>-1</sup> de matière sèche) tandis que la concentration moyenne des autres espèces était de 0,36 mg de Se kg<sup>-1</sup> de matière sèche.

Pour les deux expériences (1990 et 1991), des échantillons de sols ont été prélevés avant la plantation des différentes plantes et après leur récolte, sur une profondeur de 0 à 30cm et de 30 à 60cm. Dans chacun de ces sols, des analyses ont été faites pour déterminer la teneur en Bore (extractible par de l'eau) et la teneur totale en Se. Les résultats montrent que les concentrations en Se et en B du sol ont diminué respectivement de 48% et 52% sur une profondeur de sol de 60cm (Banuelos et al, 1993).

Ainsi la plantation de l'une de ces quatre espèces sur un sol chargé en bore peut conduire à la réduction simultanée des concentrations en bore et en sélénium.

Lors d'une recherche de plantes capables d'accumuler du Se, Banuelos a mis en évidence que trois espèces de plantes qu'il avait étudié étaient également capables d'accumuler du bore en quantité significative. En effet, les concentrations de bore (B) au niveau des feuilles sont de :

- 415 mg de B kg<sup>-1</sup> de poids sec chez *Hibiscus cannibinus*
- 180 mg de B kg<sup>-1</sup> de poids sec chez *Brassica napus*
- 117 mg de B kg<sup>-1</sup> de poids sec dans les coupes de *Festuca arundinacea*

Comme pour le Se, il y a une diminution significative de l'accumulation du bore dans les tissus des pousses avec les plantations ou les coupes successives pour toutes les espèces poussant sur le sol sélénifère. Par contre, les concentrations en bore au niveau des pousses varient également sur les plantes poussant sur le sol non sélénifère.

Les concentrations de bore au niveau des racines augmentent pour *Brassica napus* indépendamment du sol mais elles diminuent pour *Hibiscus cannabinus* poussant aussi bien sur le sol non sélénifère que sélénifère (Banuelos et al, 1997).

### **3.5. les radionucléides**

Lors d'essais nucléaires ou d'accident nucléaire, de grands territoires ont été contaminés par de faibles concentrations en radionucléides. Les principaux radionucléides contaminants sont le  $^{90}\text{Sr}$  et  $^{137}\text{Cs}$  dont la demi vie est d'une trentaine d'années ce qui pose un sérieux problème pour les populations vivant sur ou proche de ces sites contaminés. Car les radionucléides, spécialement le césium 137 ( $^{137}\text{Cs}$ ) et le strontium 90 ( $^{90}\text{Sr}$ ) peuvent être retrouvés dans les organismes humains ou animaux suite à une accumulation de ces radionucléides dans la chaîne alimentaire, ou bien suite à l'ingestion de nourriture contaminée par des retombées radioactives. L'exposition à ces radionucléides peut entraîner des effets nuisibles à la santé comme des cancers et des mutations génétiques (Entry et al, 1997).

C'est pourquoi, les scientifiques cherchent une méthode de rémédiation de ces immensités polluées par des radionucléides mais la tâche n'est pas simple car le transport et le traitement de grands volumes de sol sont difficiles du point de vue de la logistique et prohibitifs du point de vue du coût. Cependant, l'utilisation des plantes pour éliminer *in situ* de faibles concentrations de radionucléides du sol s'est révélée être moins chère que les méthodes mécaniques, physiques et chimiques qui sont d'ailleurs très traumatisantes pour les paysages et les écosystèmes, notamment pour le traitement de grandes zones (Lasat et al, 1998). De plus la phytoremédiation est applicable à de nombreux environnements terrestres et les plantes peuvent être sélectionnées par le sol et les conditions climatiques données (Entry et al, 1997).

A la différence des polluants organiques, les radionucléides sont des éléments qui ne sont pas dégradables. Il faut donc faire appel à des plantes capables de les accumuler.

### 3.5.1. Les plantes capables d'accumuler le $^{137}\text{Cs}$ et $^{90}\text{Sr}$ :

Les plantes accumulatrices de radionucléides sont réparties dans de nombreuses familles. Mais cette capacité d'accumuler des radionucléides n'est pas régulière dans le règne végétal, ni même au sein d'une famille. A titre d'exemple, une étude permet de mesurer la concentration de Cs dans les racines de 30 plantes différentes (et appartenant à des familles différentes : *Polygonaceae*, *Chenopodiaceae*, *Brassicaceae*, *Leguminosae*, *Gramineae*, et *Compositae* après une exposition des racines à 0,1  $\mu\text{g}$  de Cs radioactif / g de sol pendant 6h. Les résultats ont montré qu'il y avait une très grande différence de concentration de radiocésium dans les racines des différentes plantes testées. En effet, la plante la plus accumulatrice (*Chenopodium quinoa*) capte 20 fois plus de radiocésium au niveau de ses racines que la plante la moins accumulatrice (*Koeleria macrantha*). D'autre part, l'expérience a montré qu'il n'y avait pas de relation entre la famille à laquelle appartient la plante et sa capacité d'accumulation du radiocésium (Broadley et Willey, 1997).

Bien que la capacité d'accumuler des radionucléides s'adresse à un large éventail d'espèces de plantes occupant des habitats différents, de nombreuses plantes poussant sur des sols contaminés ont montré une grande capacité d'accumulation des radionucléides spécialement le  $^{137}\text{Cs}$  et le  $^{90}\text{Sr}$ .

Des expériences en laboratoire indiquent que certaines plantes sont capables de capter les radionucléides du sol surtout le  $^{137}\text{Cs}$  et le  $^{90}\text{Sr}$  sur une période de 5 à 20 ans (Entry et al, 1997).

D'autre part, il a été montré que certaines des plantes des forêts et des prairies des alentours d'une usine atomique de l'Oural (Russie) étaient capables d'accumuler entre 350 et 1500 Bq de  $^{137}\text{Cs}$  et entre 300 et 1100 Bq de  $^{90}\text{Sr}$  sur une période de 10 ans. De même, dans une partie du désert proche du site de test pour les essais nucléaires dans le Nevada (USA), il a été également trouvé des plantes capables d'accumuler des quantités substantielles de radionucléides (Entry et al, 1997).

### 3.5.1.1. Les arbres capables d'accumuler des radionucléides :

✓ *Acer rubrum*, *Liquidambar styraciflua* et *Liriodendron tulipifera* accumulent des quantités significatives de  $^{137}\text{Cs}$ ,  $^{90}\text{Sr}$ ,  $^{244}\text{Cm}$  (curium),  $^{238}\text{Pu}$  (plutonium), et  $^{226}\text{Ra}$  (radium).

✓ *Cocos nucifera* accumule du  $^{137}\text{Cs}$  des sols contaminés par les essais des armes atomiques sur l'atoll de Bikini.

✓ Des jeunes plants de *Eucalyptus tereticornis* mis en pot captent 31% de  $^{137}\text{Cs}$  et 11.3% de  $^{90}\text{Sr}$  dans la sphaigne après un mois d'exposition (Entry et al, 1997).

✓ Des jeunes plants de *Pinus radiata* et *Pinus ponderosa* sont également capables d'accumuler du  $^{90}\text{Sr}$ .

Le  $^{90}\text{Sr}$  est un radionucléide caractéristique des retombées suite à un accident au niveau d'un réacteur nucléaire (comme à Chernobyl) et suite à des essais d'armes atomiques. Ce radionucléide est particulièrement dangereux pour l'homme car il provoque entre autre des sarcomes et des leucémies. Des études avaient déjà montré que des plantes étaient capables de capter le  $^{90}\text{Sr}$  du sol et de le stocker dans leurs tissus. Et en 1994, Entry et al. ont montré que de jeunes plants (de 4 mois) non mycorhizés de *P. radiata* et de *P. ponderosa* étaient capables de capter 1,5 à 4,5% du  $^{90}\text{Sr}$  du sol sur une période de un mois.

Les ectomycorhizes sont des associations entre des champignons et des racines de plantes qui vivent en symbiose. Un des nombreux bénéfices est l'échange de carbone et de nutriments entre les deux protagonistes de la symbiose : la plante supplémente le champignon en carbone tandis que le champignon améliore la recapture des nutriments du système champignon/plante. De plus, la production et le maintien de l'association entre l'ectomycorhize et le réseau mycélien est énergétiquement moins cher que la production d'une multitude de racines pour une plante non associée à un champignon (Entry et al, 1994).

L'équipe de Entry a inoculé des jeunes plants de *P. radiata* et *P. ponderosa* avec cinq ectomycorhizes différents. Les jeunes plants ont grandi en laboratoire dans des tubes en verre contenant de la tourbière et de la perlite et le champignon inoculé (sauf dans les tubes témoins). Après trois mois, on rajoute dans les tubes 1ml d'eau distillée, stérile et déionisée contenant 5978 Bq de  $^{90}\text{Sr}$ . La récolte des plants étant effectuée un mois après. Les plants inoculés et non inoculés (c'est à dire les témoins) ont été ensuite comparés du point de vue de leur capacité d'accumuler le  $^{90}\text{Sr}$ . Les résultats sont donnés dans le tableau n°11.

**Tableau 11: Résultats de l'étude comparative de *P. radiata* et *P. ponderosa* inoculés ou pas par différents micorhizes (d'après Entry et al, 1994).**

	<i>P.radiata</i>	<i>P.ponderosa</i>	<i>P.radiata</i> non mycorhizé	<i>P.ponderosa</i> non mycorhizé
% de recapture du <sup>90</sup> Sr sans ectomycorhize associée.	-	-	0,7%	0,6%
%de recapture du <sup>90</sup> Sr avec ectomycorhize associée	3,0 à 6,0 %	6,0 à 6,9 %	-	-
Ratio de bioconcentration (Bq <sup>90</sup> Sr.cm <sup>-3</sup> de tissus de la plante/Bq <sup>90</sup> Sr.cm <sup>-3</sup> de bouillon de culture)	98 à 162	88 à 133	27	28

Ainsi on peut constater que de jeunes plants de *Pinus radiata* et *Pinus ponderosa* mycorhizés sont 3 à 6 fois plus efficaces dans la bioconcentration du <sup>90</sup>Sr que les jeunes plants non mycorhizés.

Les différents ectomycorhizes inoculés étaient les suivants :

- *Pisolithus tinctorius* 144
- *Pisolithus tinctorius* 101
- *Laccaria laccata*
- *Hebeloma crustuliniforme*
- *Cenococcum geophyllum*

Les résultats montrent que quelle que soit l'espèce d'arbre, si on inocule le *C. geophyllum* on constate que l'on obtient le pourcentage de recapture de <sup>90</sup>Sr et le taux de bioconcentration le plus faible (Entry et al, 1994).

Quand on inocule *P. radiata* avec l'un des quatre autres ectomycorhizes, on constate qu'il n'y a pas de différence significative au niveau des pourcentage de recapture de <sup>90</sup>Sr et des ratios de bioconcentration. Cependant, lorsque l'on inocule de jeunes plants de *P. ponderosa* avec *L. laccata* il y a une plus grande recapture de <sup>90</sup>Sr que si on l'inocule avec un autre champignon. Ainsi donc le choix de l'ectomycorhize inoculé a une espèce d'arbre peut accroître significativement sa capacité de capture du <sup>90</sup>Sr.

En effet, en admettant que les arbres puissent stocker la même quantité totale de  $^{90}\text{Sr}$  par  $\text{cm}^3$ , il a été calculé qu'en 20 ans, *P. radiata* et *P. ponderosa* pouvaient accumuler respectivement 187 341 et 295 365 kBq de  $^{90}\text{Sr}$ . Avec les résultats de Entry et al. on peut conclure que l'inoculation d'ectomycorhize spécifique permet d'accroître ces quantités d'un facteur 3,6 à 5,1 (Entry et al, 1994).

### 3.5.1.2. Les herbes capables d'accumuler du $^{137}\text{Cs}$ :

Plusieurs études ont montré que les plantes possédaient la capacité d'accumuler du  $^{137}\text{Cs}$  dans leurs pousses. Le ratio de bioconcentration c'est à dire  $[\text{}^{137}\text{Cs}]_{\text{pousses}} / [\text{}^{137}\text{Cs}]_{\text{solution}}$  est rapporté comme étant significativement supérieur à 1 dans les pousses de certaines herbes et d'espèces de dicotylédones variées grandissant sur des cultures hydroponiques. Cependant, l'accumulation de  $^{137}\text{Cs}$  du sol dans les pousses est usuellement assez limité *in situ*. En effet, les ratios de bioaccumulation sont fréquemment plus bas que 1 pour les plantes grandissant sur des sols contaminés par du radiocésium. Le facteur limitant majeur de la recapture du  $^{137}\text{Cs}$  est sa très forte fixation aux particules du sol. L'importance de la fixation du  $^{137}\text{Cs}$  dépend des propriétés physico-chimiques du sol (Lasat et al, 1998).

✓ *Festuca arundinacea* accumule 42 kBq de  $^{137}\text{Cs}/\text{m}^2$  en 8 mois dans une zone où la quantité totale de  $^{137}\text{Cs}$  (sur la terre et dans les sédiments) est de 444 kBq (Entry et al, 1997).

✓ *Lolium perenne*, *Festuca rubra*, *Trifolium repens* et *Cerastium fontanum* accumulent de 28 à 1040 Bq  $^{137}\text{Cs}/\text{g}$  de tissus de plante dans un pâturage ressemé en Ecosse (Entry et al, 1997).

✓ *Carex* spp a également une grande capacité d'accumulation du  $^{137}\text{Cs}$ . Ceci a été montré dans les montagnes de Grande Bretagne (J. A. Entry et al. 1997).

✓ Lasat a évalué la capacité de bioaccumulation de  $^{137}\text{Cs}$  de trois espèces de plantes cultivées en plein champ : *Amaranthus retroflexus* L.(amarante réfléchie), *Brassica juncea* (L.) Czern (moutarde indienne) et *Phaseolus acutifolius* A. Gray .

L'importance du transport de  $^{137}\text{Cs}$  du sol vers la plante est dépendant de la capacité de la plante de concentrer le  $^{137}\text{Cs}$  dans ses pousses et de produire une grande biomasse au niveau de celles-ci. Les résultats montrent que la concentration de  $^{137}\text{Cs}$  la plus grande dans les pousses est atteinte chez *Amaranthus retroflexus* (avec  $38 \text{ Bq g}^{-1}$  de poids sec), tandis que chez *Brassica juncea* cette concentration n'est que de  $5 \text{ Bq g}^{-1}$  de poids sec et  $2 \text{ Bq g}^{-1}$  de poids sec chez *Phaseolus acutifolius*. En plus d'avoir la concentration en  $^{137}\text{Cs}$  dans les pousses la plus élevée, *Amaranthus retroflexus* produit significativement plus de biomasse que les deux autres plantes testées. Ainsi, par sa capacité de concentrer dans ses pousses une grande quantité de  $^{137}\text{Cs}$  et de produire une forte biomasse, *Amaranthus retroflexus* peut épurer 30 à 60 fois plus de radiocésium que *Brassica juncea* et *Phaseolus acutifolius* (Lasat et al, 1998).

D'après des recherches antérieures effectuées en laboratoire, Lasat savait qu'une partie du radiocésium fixée aux minéraux du sol, pouvait être désorbée par un apport de  $\text{NH}_4^+$ . C'est pourquoi il a appliqué une solution de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  dans un sol contaminé où pousse ses trois espèces de plantes en espérant augmenter la biodisponibilité du  $^{137}\text{Cs}$  (dans les conditions de plein champ) et donc par la suite, accroître la quantité de  $^{137}\text{Cs}$  accumulée dans les pousses des plantes. Mais les résultats obtenus n'ont pas révélé une augmentation significative de l'accumulation du  $^{137}\text{Cs}$  dans les pousses des plantes. Deux hypothèses sont avancées pour expliquer ce résultat : soit le  $\text{NH}_4$  est filtré dans les couches profondes du sol avant qu'il ait pu interagir avec les sites de fixation du  $^{137}\text{Cs}$ , soit le radiocésium mobilisé par l'interaction avec le  $\text{NH}_4$  n'a pas le temps d'être absorbé par les racines avant de filtrer dans les couches plus profondes du sol (Lasat et al, 1998). On mesure ici les problèmes que pose l'extrapolation de résultats obtenus en laboratoire à des conditions de plein champ.

### 3.5.2. Limiter les effets écologiques découlant des pratiques de phytoremédiation

Les radionucléides comme le  $^{137}\text{Cs}$  et le  $^{90}\text{Sr}$  sont souvent accumulés dans la chaîne alimentaire (Hoffman et al. 1984). Ces radionucléides sont accumulés par les zooplanctons, les plantes aquatiques, les champignons et les invertébrés comme les lombrics.

Il a été rapporté que la bioaccumulation du  $^{137}\text{Cs}$  et du  $^{90}\text{Sr}$  dans les animaux aquatiques ou terrestres qui consomment les plantes, peut entraîner l'incorporation de ces radionucléides dans de nombreux aliments que mange l'homme.

Ainsi, si dans le choix des plantes accumulatrices de radionucléides on prend soin d'éviter celles qui nécessitent des insectes pollinisateurs (comme les abeilles, les papillons ou d'autres insectes) c'est à dire les plantes entomophiles, on réduit le risque de voir ces insectes accumuler des radionucléides. De même si l'on choisit des plantes de pâturage dont le goût n'est pas agréable pour les herbivores vertébrés ou invertébrés et dont la pollinisation se fait par le vent (anémophile) plutôt que par des insectes, on diminue le potentiel d'accumulation de radionucléides dans la chaîne alimentaire.

Il est également possible de réduire le potentiel de phytotoxicité en procédant à des coupes régulières des plantes accumulatrices minimisant ainsi le risque d'ingestion de ces plantes par les animaux (Entry et al, 1997).

### 3.5.3. Stratégie pour une phytoremédiation *in situ* de sol contaminé par des radionucléides :

#### 3.5.3.1. *La modification du sol*

Les conditions que l'on recherche dans le sol sont celles qui augmentent la recapture des radionucléides par les plantes sans accroître leur mobilité dans le sol. La réalisation de cette condition au niveau du sol peut être approchée, *in situ*, par deux propositions :

a) L'amélioration de la capacité de recapture des radionucléides par les plantes via des associations de mycorhizes ou par inoculation d'une rhizobactérie facilitant la croissance de la plante.

b) Modification de la forme chimique du radionucléide dans le sol afin d'augmenter sa disponibilité pour la recapture par les plantes.

L'inoculation de plantes ou de sols par des champignons mycorhiziques spécifiques ou d'autres microflores associées aux racines peut maximiser la recapture et l'accumulation des radionucléides par les plantes.

La disponibilité des radionucléides aux plantes peut être augmentée tandis que la mobilité dans le sol de ces radionucléides diminue, *in situ*, par des modifications organiques et par un apport parcimonieux d'agent chélateurs et de fertilisants.

Un chélateur comme l'acide diéthylénetriamine-pentaacétique (DTPA), altère la forme du radionucléide qui est alors biologiquement plus disponible pour la plante mais sans accroître sa mobilité (Entry et al. 1996). La matière organique forme un complexe avec le  $^{137}\text{Cs}$  et le  $^{90}\text{Sr}$  pour les déplacer de leurs sites de fixation des minéraux solides et réduire le pH du sol. De cette façon, la disponibilité des radionucléides pour les plantes est augmentée. De nombreux composés organiques aussi bien que des chélateurs synthétiques sont présents dans le sol et sont liés au sol argileux, à la surface des oxydes et des minéraux, prévenant ainsi leur progression vers les couches inférieures du sol. Les mécanismes proposés pour expliquer cette liaison incluent, les ponts cationiques et les ponts métalliques chélatants et les liaisons hydrogène (Wallace et al. 1983).

Les plantes moissonnées pourront subir des combustions ou des extractions à hautes températures afin de concentrer les radionucléides dans les cendres. Ces radionucléides pourront alors être récupérés ou stockés dans une décharge.

#### ***3.5.3.2. Stratégie de mise en valeur d'une zone ayant été épurée par un procédé de phytoremédiation :***

A long terme, les plantes indigènes de la zone sont celles qui seront préférées du point de vue écologique. Dans les terres non agricoles, la zone environnant le site cible de rémédiation peut être semée avec un mélange de graines provenant d'espèces indigènes. Le périmètre de plante est utile pour plusieurs raisons :

- ✓ Il réduit l'érosion et la dissémination du sol contaminé.
- ✓ Il est source de racines, stolons, rhizomes, graines... , qui peuvent pousser dans la zone phytoremédiée et faciliter la croissance et la dissémination d'inocula indigène ou de mycorhizes introduits (Entry et al, 1997).

Avec une sélection d'espèces appropriées on peut anticiper sur une période de plusieurs années, ainsi les plantes de la zone de phytoremédiation seront graduellement remplacées par des espèces indigènes. Les méthodes traditionnelles peu coûteuses comme le labour, le semis à la volée et le semis en sillon, ou les méthodes plus onéreuses de transplantation de jeunes plants peuvent être choisies en fonction de la surface de la zone qui est à rémédier.

### *3.5.3.3. Les recherches nécessaires pour améliorer la phytoremédiation des radionucléides :*

Des manipulations génétiques de certaines espèces de plantes et l'association aux plantes de certains éléments de la microflore de la rhizosphère peuvent être nécessaires pour maximiser l'efficacité tout en minimisant les risques écologiques. Par exemple, des techniques moléculaires sont au point pour permettre l'introduction de gènes afin d'augmenter la recapture, la séquestration, la bioaccumulation, ou la biotransformation de polluants organiques ou inorganiques donnés.

La culture et la récolte des plantes tend à réduire le pollen ou la dispersion des graines, et la sélection et le développement de lignées qui ont une fertilité réduite, peuvent être utilisés afin de minimiser la dissémination, la persistance et l'invasion des espèces introduites.

Des recherches sont aussi nécessaires sur la toxicité des parties des plantes qui se trouvent à la surface de la terre mais aussi dans la terre pour les herbivores vertébrés et invertébrés. En fonction des caractéristiques spécifiques radiologiques d'un radionucléide donné, les effets de la mutagenèse peuvent toucher les plantes cibles ou non cibles, les microbes, les vertébrés et les invertébrés (Entry et al, 1997).

#### 4. Amélioration de la phytoremédiation par des plantes génétiquement modifiées :

La connaissance croissante des facteurs importants pour la phytoremédiation peut servir de base pour la modification des plantes afin d'améliorer leurs performances. Depuis quelques années les plantes ont subi des modifications agronomiquement importantes où le rendement et l'esthétique sont souvent les critères de sélection. La phytoremédiation nécessite un nouveau modèle dans lequel les plantes sont évaluées sur la base de leur absorption, leur tolérance, et leur capacité de séquestration.

Plusieurs aspects de la structure des racines des plantes peuvent être améliorés :

- La profondeur des racines, qui permettrait une extraction du contaminant plus profonde par un procédé de phytoremédiation.

- La pénétration dans des zones anaérobies qui pourrait permettre l'utilisation de la phytoremédiation sur les sites contaminés par un contaminant organique biodégradable.

- La densité racinaire qui augmenterait l'efficacité de l'extraction par augmentation de la quantité d'enzymes dégradatives (comme les peroxydases, les laccases, les oxygénases) contenues dans les tissus et celles excrétées dans le sol (Cunningham et Ow, 1996).

Stomp et al (1994) se sont surtout intéressés aux peupliers hybrides et aux robiniers noirs. Ils ont étudié deux approches pour augmenter la rémédiation de ces espèces : accroître la détoxification de la rhizosphère par augmentation de la masse racinaire, et développer la détoxification par apport génétique de fonction de rémédiation directement au niveau de la plante.

Deux espèces de *Agrobacterium*, *A. tumefaciens* et *A. rhizogenes*, peuvent servir de médiateur pour le transfert d'ADN bactérien vers des cellules de plantes. L'apport de *A. rhizogenes* de type sauvage, conduit à la prolifération de racines à partir des cellules de plantes contaminées. Par des modifications dans les cultures de tissus, il est possible d'induire la formation de pousses à partir de ces cultures de racines chevelues. Les phénotypes de ces plantes peuvent être normaux ou bien être altérés de différentes façons : une masse racinaire plus importante, un taux de croissance augmenté, ou une augmentation à la tolérance à la sécheresse (Stomp et al, 1994).

Stomp a utilisé une souche de *A. rhizogenes* pour obtenir des arbres avec une masse de racines plus importante que la normale.

Ces arbres sont à l'étude afin de déterminer leur taux de croissance, la stabilité de leur phénotype dans le temps, et leur capacité de capter et de transloquer du 2,4 dichlorophénol, du trichloroéthylène, et du plomb.

L'équipe de Stomp a mis tout d'abord en évidence qu'une plus grande masse racinaire accroît le taux de croissance de ces arbres. Un plus grand taux de croissance des pousses peut conduire à un taux de transpiration plus important et potentiellement à une recapture des contaminants au sein de l'arbre accrue et ainsi augmenter le taux de rémédiation par ces arbres. Un taux de croissance augmenté peut également permettre à l'arbre de s'établir et de stabiliser plus vite un site contaminé.

Une modification de la morphologie des racines peut changer les associations microbiennes dans la rhizosphère ou peut augmenter la population microbienne impliquée dans la rémédiation. Par exemple une estimation a été faite pour le pin d'Ecosse adulte qui peut avoir 50 mètres de racines avec 5 millions d'extrémités de racines. Ces extrémités racinaires, abritent 5 kg de bactéries. Une transformation par *A. rhizogenes* permet de multiplier le nombre d'extrémités racinaires par 2 ou 4, ce qui conduit à l'augmentation des taux de rémédiation d'origine microbiologique (Stomp et al, 1994).

En ce qui concerne l'augmentation de la rémédiation directe des arbres par insertion de gènes, l'équipe de Stomp s'est intéressée à la minéralisation des composés phénoliques halogénés en utilisant deux gènes isolés de *Alcaligenes eutrophus*, *tfdB* et *tfdC*. Le premier, *tfdB* code une chlorophénol hydroxylase (spécifique des phénols halogénés), et *tfdC* code une chlorocatéchol 1,2-dioxygénase (ensemble ces deux enzymes transforment tout d'abord le chlorophénol hydroxylate en chlorocatéchol puis clive le noyau pour créer le chloro-cis,cis-muconate). L'équipe de Stomp a étudié la dégradation du trichloroéthylène (TCE) car la littérature il y rapportait un cométabolisme du TCE dans des bactéries induisant la dégradation des phénols halogénés comme par exemple le 2,4-dichlorophénol (Stomp et al, 1994).

*tfdB* et *tfdC* ont été clonés tous les deux puis transférés dans un clone de peupliers hybrides et de robinier noir. Des études sont actuellement en cours pour déterminer les niveaux de synthèse d'enzymes actives et de tolérance, de recapture, et le sort du TCE dans ces arbres en comparaison avec la recapture et le sort du TCE pour les peupliers hybrides non transformés. Les résultats montrent que chez des peupliers hybrides poussant sur un milieu hydroponique, 85% du <sup>14</sup>C du TCE marqué étaient captés de la solution hydroponique mais que seulement 10% étaient extractibles des tissus de la plante. L'identité du <sup>14</sup>C non extractible n'est pas encore déterminée cependant, TCE est converti en deux composés polaires non volatils dont la composition exacte est encore à l'étude (Stomp et al, 1994).

La phytoextraction d'ions inorganiques fait également l'objet de nombreux programmes d'études. Cette extraction est envisagée par le croisement de plantes hyperaccumulatrices à faible biomasse avec des variétés à haute biomasse et à croissance rapide. Alternativement, la capacité d'hyperaccumulation de métaux peut être introduite chez des plantes connues pour leur grande production de biomasse et leur croissance rapide (Cunningham et Ow, 1996).

L'analyse génétique de mutants a permis de mieux comprendre les mécanismes qui gouvernent l'accumulation des métaux. Par exemple, dans les pois, (*Pisum sativum*) une mutation récessive d'un seul gène est responsable d'une amélioration de l'accumulation du fer (50 à 100 fois plus) par rapport au pois de type sauvage. Ceci a été trouvé en association avec une plus grande activité réductase de l'ion ferrique chélaté. Ce caractère paraît s'étendre au-delà du phénotype d'accumulation du fer car l'accumulation du plomb dans les parties aériennes (feuilles et tige) est augmentée de 50% par rapport au génotype parent.

Cependant, les concentrations en Pb dans les racines ne sont pas significativement différentes entre le pois mutant (1,26%) et le pois de type sauvage (1,25%). Ces résultats suggèrent que ce seul gène muté permet une translocation du Pb plus efficace chez le pois muté par rapport au pois de type sauvage. Lorsque l'on transplante la plante de pois mutée dans un sol contaminé par du Pb (2500 mg kg<sup>-1</sup> de Pb total dans le sol), on constate qu'elle accumule 20% de Pb en plus dans ses parties aériennes que le type sauvage. Par conséquent, on peut en déduire que la translocation du Pb des racines vers les pousses est contrôlée génétiquement (Cunningham et Ow, 1996 ; Huang et al, 1997).

L'équipe de Howden a montré que des mutants de *A. thaliana* montrent une hypersensibilité aux combinaisons variées de Cd, Cu, Hg ou à d'autres métaux lourds. L'identification des fonctions des gènes affectés par ces mutations peut fournir une indication sur l'augmentation de l'hyperaccumulation de métaux. Dans la scissiparité de la levure de bière *Schizosaccharomyces pombe*, un système modèle pour la recherche sur les phytochélatines (des peptides agglomérant des métaux trouvés dans les plantes et quelques champignons), les investigateurs ont cloné le gène pour la pompe de transport membranaire vacuolaire qui facilite la séquestration vacuolaire du complexe peptide/Cd. L'hyperproduction de cette protéine dans *Schizosaccharomyces pombe*, augmente l'accumulation et la tolérance au cadmium.

Pour ce qui est des contaminants organiques, la prévalence de la minéralisation microbienne de nombreux composés organiques pose la question de savoir si les plantes peuvent jouer un rôle actif dans la rémédiation des sols ou si elles fournissent seulement un environnement rhizosphérique contribuant à la croissance microbienne. Une direction future possible pour la décontamination assistée par des plantes de composés organiques pourrait être l'utilisation de plantes génétiquement transformées qui exsudent des molécules spécifiques stimulant les bactéries rhizosphériques pour la dégradation de toxines. Alternativement, les plantes transgèniques peuvent héberger des gènes microbiens pour la biodégradation (cette pratique est réellement routinière dans la mise au point de nombreuses plantes résistantes aux herbicides).

L'avantage de la mobilité des gènes d'origine microbienne à l'intérieur de plantes supérieures pourrait se trouver dans un plus grand contrôle du processus de biodégradation (Cunningham, et Ow, 1996).

## **5. La rhizofiltration :**

### **5.1. Définition de la rhizofiltration :**

La rhizofiltration est technique très récente qui consiste à utiliser les racines des plantes pour absorber, concentrer, et précipiter les métaux lourds qui contaminent des effluents.

Dans de nombreux cas, il a été montré que l'efficacité de recapture des métaux lourds par les plantes était comparable à des techniques de traitement de l'eau.

La rhizofiltration est un procédé qui peut être appliqué au traitement des eaux de surface et souterraines, des effluents industriels et miniers, des fuites agricoles, des solutions contaminées par des radionucléides.

## **5.2. La rhizofiltration des radionucléides par des tournesols (*Helianthus annuus* L.) :**

Bien que les scientifiques avaient connaissance de la capacité des plantes d'accumuler des métaux, le choix de la plante capable de capter des radionucléides a pris quelque temps. En sélectionnant des centaines de plantes, il a été montré que les racines du tournesol cultivé, lorsque celui-ci était immergé dans l'eau, accumulaient rapidement les métaux lourds et les radionucléides (Cooney, 1996).

La plantation de rangées de tournesols pour capter des radionucléides du sol et de l'eau a été essayé secrètement par un entrepreneur comme une alternative efficace du point de vue du coût comparé à un procédé de traitement traditionnel. Des tests utilisant les tournesols pour extraire les radionucléides des étangs contaminés par l'accident de Chernobyl ont montré que la rhizofiltration est une voie possible pour traiter des eaux de surfaces chargées en uranium, césium et strontium (Cooney, 1996).

Ces dernières années, d'autres expériences ont été menées dans l'Ohio (USA) où des racines de tournesol étaient immergées dans de l'eau contaminée à l'intérieur d'un système de rhizofiltration miniature sous une serre mobile. Les résultats montrent que les concentrations en uranium (100-400 ppm) de l'eau diminuent de 95% au cours des premières 24h.

En 1994 une équipe de chercheurs, en collaboration avec l'institut international de biologie cellulaire a essayé d'évaluer quelles étaient les plantes qui pouvaient être utilisées pour traiter les étangs (situés à 1 km du réacteur de Chernobyl) contaminés par du strontium et du césium. Les chercheurs ont fait grandir des tournesols sur des systèmes flottants de 1 m<sup>2</sup> qu'ils ont déposé sur des mares ou des étangs. Les résultats montrent que le coefficient le plus élevé de Cs est mesuré dans les racines tandis que le plus haut coefficient de Sr est mesuré au niveau des pousses des tournesols.

Des estimations indiquent que le coût de la rhizofiltration de radionucléides par des tournesols est compris entre 2 et 6 \$ pour 4000 litres d'eau traités ( ce prix incluant les frais d'installation et de désinstallation ). Cependant, certains pensent que l'on n'a pas encore assez de connaissances et de données sur cette technologie pour que les gouvernements acceptent de l'employer. En effet, il n'y a pas encore d'étude faite à long terme et l'on ne connaît encore pas bien les mécanismes de recapture, les effets sur le cycle de vie de la plante et les variations saisonnières sur la recapture.

### 5.3. La rhizofiltration des métaux lourds :

La pollution de l'eau par des métaux lourds est un problème environnemental majeur qui est contemporain du monde moderne. Cette contamination de l'eau a des répercussions sur la santé publique (dommages au foie, au rein et des anémies à faible dose). Plusieurs méthodes de capture des métaux lourds de l'eau, basées sur des filtrations, des floculations, des échanges d'ions sur résine ont été développées et utilisées avec succès. Mais ces technologies sont très coûteuses notamment si l'on doit traiter de grands volumes ou si les concentrations en métaux sont faibles (Dushenkov et al, 1995).

Récemment, quelques recherches ont été menées sur l'utilisation de bactéries vivantes ou non et d'algues pour la biorémédiation des métaux lourds des cours d'eau. D'autre part, des cultures de cellules de *Datura innoxia*, une plante supérieure, ont été utilisées pour capter du  $Ba^{2+}$  d'une solution. Mais les applications commerciales de ces recherches sont encore limitées à cause du coût des cultures de cellules et de micro-organismes.

Des champignons accumulateurs de métaux et *Azolla filiculoides*, une fougère aquatique, sont capables de sorber des métaux rejetés dans des effluents industriels. Les plantes supérieures aquatiques ont été également utilisées pour la purification de l'eau.

Parmi ces plantes, il a été démontré que la jacinthe d'eau (*Eichhornia crassipes*), l'hydrocotyle (*Hydrocotyle umbellata*), la lentille d'eau (*Lemna minor*), et une azolla (*Azolla pinnata*) peuvent recapter différents métaux d'une solution. Cependant, à l'exclusion de la jacinthe d'eau, l'efficacité de recapture de ces plantes est faible à cause de leur petite taille, et de leur faible croissance (Dushenkov et al, 1995).

Contrairement aux plantes aquatiques, les plantes terrestres développent de plus longs systèmes racinaires qui sont, de plus, couverts par de très fines racines permettant ainsi de créer une très grande surface d'échange.

Ainsi, il a été montré que la luzerne (*Medicago sativa*) pouvait pousser sur des sols irrigués par des eaux contaminées par des métaux lourds. Il a été rapporté que *Medicago sativa* était capable d'accumuler des concentrations en métaux lourds bien supérieures à celles des autres plantes. Cette tolérance et cette capacité d'accumulation des métaux lourds sont dues à des groupes fonctionnels chimiques spécialisés.

Et c'est parce que la luzerne possède ces caractéristiques chimiques et parce que sa production est peu coûteuse et facile qu'elle a été utilisée pour la rémédiation d'eau polluée par des métaux lourds (Gardea-Torresdey et al, 1998).

Une expérience consistait à étudier la quantité de métaux lourds liée aux racines de la luzerne en fonction du pH. Les résultats montrent que lorsque le pH augmente, la quantité totale d'ions métalliques liée aux racines de la luzerne augmente aussi, avec un maximum de fixation de  $\text{Cd}^{2+}$ , de  $\text{Cr}^{3+}$  de  $\text{Zn}^{2+}$  pour un pH compris entre 5 et 6 (Gardea-Torresdey et al, 1998).

D'autre part, il a été mis en évidence que la recapture des métaux lourds par les pousses de luzerne est très rapide (en 5 min) pour tous les ions métalliques étudiés (sauf pour  $\text{Cr}^{6+}$  pour lequel aucune liaison n'est possible à la biomasse de *Medicago sativa* car il existe en solution sous forme de  $\text{Cr}_2\text{O}_4^{2-}$  ou  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  donc toujours avec une charge négative. Ainsi aucune interaction électrostatique n'est possible entre deux éléments chargés négativement : l'oxyde de chrome et les groupes carboxylates de la luzerne sont considérés comme étant les sites de fixation). La rapide recapture du  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ , du  $\text{Zn}^{2+}$  et du  $\text{Pb}^{2+}$  de la solution suggère que les sites de liaison font partie intégrante de la paroi cellulaire, et que les ions métalliques ne diffusent pas au travers de cette paroi cellulaire. Le tableau n°12 montre la quantité totale de chacun des métaux qui est absorbée de la solution à pH 5.

De plus, il est à noter qu'une fois fixés, les ions métalliques le restent sur une longue période de temps sans qu'il ne se produise une désorption des ces ions (Gardea-Torresdey et al, 1998).

**Tableau 12 : capacité de fixation de métaux lourds par les pousses de *Medicago sativa* (d'après Gardea-Torresdey et al. 1998).**

métal	Capacité de fixation (mg de métal/ g de biomasse)
$\text{Cd}^{2+}$	7,1
$\text{Cr}^{3+}$	7,7
$\text{Cr}^{6+}$	0,0
$\text{Pb}^{2+}$	43,0
$\text{Zn}^{2+}$	4,9

L'absorption des ions métalliques étudiés est comprise entre 0 mg de Cr<sup>6+</sup> et 43 mg de Pb / g de biomasse. Les capacités de fixation obtenues dans cette étude sont comparables à celles mesurées lors d'expériences antérieures.

L'équipe de Dushenkov a montré que les racines de certaines plantes terrestres, en croissance dans une solution hydroponique, avaient la capacité d'absorber et de précipiter les métaux lourds dans des solutions aqueuses. De ces expériences il a été supposé que les plantes utilisaient plusieurs mécanismes pour recapter les métaux. Ces mécanismes ne sont d'ailleurs pas nécessairement les mêmes pour tous les métaux. Dans le cas du Pb, l'absorption par les racines est le plus rapide de ces mécanismes. L'absorption de surface est une combinaison de processus chimiques et physiques comme la chélation, les échanges d'ions, et des précipitations chimiques d'ions métalliques. Des mécanismes biologiques sont probablement responsables de la recapture plus lente du Pb. Ces mécanismes biologiques incluent la recapture cellulaire et la translocation du Pb vers les pousses. La dernière composante de la recapture du Pb n'est observée qu'à forte concentration, il s'agit de la précipitation du Pb de la solution sous la forme de phosphate de Pb insoluble. Ce phénomène de précipitation serait produit par la libération d'exsudats racinaires (Dushenkov et al, 1995).

*B. juncea* a été choisi comme modèle de plante pour la rhizofiltration car elle accumule de hauts taux de Pb et d'autres métaux lourds. De plus, plusieurs membres de la famille des Brassicaceae sont capables d'accumuler des concentrations inhabituelles de métaux lourds dans leurs racines et leurs pousses. Dushenkov et son équipe ne se sont intéressés qu'au Pb, Cd, Cu, Cr, Ni, et au Zn car ces métaux lourds sont des polluants ubiquitaires de l'agriculture et de l'industrie.

### 5.3.1. La rhizofiltration du plomb (Pb) :

La capacité de *B. juncea* d'accumuler du Pb dans ses racines a été comparée à 24 espèces de plantes dont 4 dicotylédones, 3 monocotylédones (des céréales) et 17 espèces d'herbes cultivables. Les résultats montrent que toutes les espèces testées présentent une très bonne capacité à concentrer le Pb dans leurs racines (de 6% à 17% du poids sec). *B. juncea* apparaît comme étant l'un des meilleurs accumulateurs de Pb avec 14% du poids sec (Dushenkov et al, 1995).

Des plants de *B. juncea* ont été cultivés dans des solutions hydroponiques contenant des concentrations en Pb allant de 35 à 500 mg de  $Pb^{2+}$ /L pendant 4 semaines. Ainsi, il a été montré que le taux de recapture de Pb est dépendant de la concentration initiale en Pb de la solution et montre une diminution monotone avec le temps. Le  $\log_{10}$  du temps nécessaire pour réduire de 50% la concentration du Pb est linéaire en fonction de la concentration initiale en Pb.

En effet, pour des racines immergées dans une solution contenant 35 mg de Pb /L il faut 43 min pour réduire de moitié la concentration initiale et pour des racines immergées dans une solution contenant 500 mg de Pb/L il faut 43h pour réduire de moitié la concentration initiale (Dushenkov et al, 1995).

Une autre expérience a déterminé les effets des différentes masses de racines sur la recapture du Pb de la solution. Ainsi, différentes quantités de racines de *B. juncea* fraîchement coupées ont été immergées pendant 72 h dans une solution contenant 110 mg de Pb /L de solution. Les résultats ont montré que la vitesse de recapture du Pb de la solution est directement proportionnelle à la masse de racines immergées.

Cependant, il a été constaté que pour 0,78 g de racines immergées, la totalité du Pb de la solution était recapté en 72h, et que toutes augmentations de la quantité de racines immergées n'affectent pas la recapture du Pb (Dushenkov et al, 1995).

Le Pb n'est pas le seul métal qui puisse être recapté dans une solution par les racines de *B. juncea*. Ceci a été démontré par des racines de plants de *B. juncea* immergées dans une solution hydroponique contenant du  $Cd^{2+}$  (2 mg/L),  $Ni^{2+}$  (10 mg/L),  $Cu^{2+}$  (6 mg/L),  $Zn^{2+}$  (100 mg/L),  $Cr^{6+}$  (4 mg/L), et du  $Pb^{2+}$  (6 mg/L). En 8h, les concentrations de ces différents métaux en solution chutent de façon spectaculaire. Les coefficients de bioaccumulation des différents métaux sont variables (tableau n°13).

**Tableau 13 : Recapture des métaux lourds par *B. juncea* (d'après Dushenkov et al. 1995).**

métal	Concentration initiale (mg/L)	Coefficient de bioaccumualtion
Zn	100	131
Cd	2	134
Cr	4	179
Ni	10	208
Cu	6	490
Pb	2	<b>563</b>

Aux concentrations testées, le Pb a le plus grand coefficient de bioaccumulation (563) tandis que le Zn a le plus faible (131). Il est à noter que ces coefficients de bioaccumulation ne sont pas proportionnels à la concentration initiale de chaque métaux en solution. Ceci suggère que ces métaux sont non pas seulement absorbés par les racines mais aussi précipités dans la solution par les exsudats racinaires ou peut-être transportés dans les pousses.

Il est également à noter que l'équipe de Gardea-Torresdey a montré que les racines de la luzerne (*Medicago sativa*) étaient capables d'accumuler une grande quantité de  $Pb^{2+}$ .

### 5.3.2. La rhizofiltration du cadmium ( $Cd^{2+}$ ) :

La contamination de l'eau de boisson ou d'irrigation par du Cd pose un problème de santé publique. C'est pourquoi, des méthodes de rémédiation des métaux toxiques de l'eau sont en développement.

Une étude menée par l'équipe de Salt a mis en évidence que l'aquaculture de jeunes plants de *Brassica juncea* peut être utilisée pour la recapture de différents métaux (dont le Cd, Pb, Ni, Cr et les radionucléides) contaminant de l'eau. Par exemple, pour des concentrations en Cd des eaux contaminées comprises entre 0,1 et 7  $\mu M$ , les jeunes plants peuvent effectivement accumuler et recapter le Cd de la solution. L'aquaculture de jeunes plants de *B. juncea* âgés de 4 à 5 semaines montre une accumulation en Pb et en Cd au niveau des racines.

L'utilisation de jeunes plants de *B. juncea* présente l'avantage de ne pas nécessiter de lumière ni de nutriments pour leur développement. Ceci suggère que l'utilisation de systèmes de traitement des eaux mettant à profit la capacité de recapture du Cd par des jeunes plants sera plus simple et moins chère que l'emploi de plants matures de *B. juncea* (Salt et al, 1997).

D'autre part, la capacité des jeunes plants d'accumuler le Cd est 47 fois plus importante lorsque tous les ions en compétition (pour la recapture par les racines des plantes) sont éliminés de la solution. Ceci suggère qu'une meilleure compréhension des processus biologiques gouvernant la recapture et l'accumulation du Cd par les jeunes plants pourrait permettre l'application des techniques de modifications génétiques afin d'induire leur capacité et leur sélectivité d'accumulation du Cd des eaux contenant de forte teneur d'ions en compétition pour leur recapture (Salt et al, 1997).

Il a également été observé que les racines de jeunes plants de *B. juncea* avaient une plus grande capacité d'accumuler le Cd que les pousses. De plus, la vitesse maximale pour la recapture du Cd par les racines est 6 fois plus élevée que celle mesurée pour les pousses. Cette différence de recapture entre racines et pousses peut être expliquée par le fait que l'une des fonctions normales des racines est de capter sélectivement des ions en solution dans le sol, tandis que les tissus des pousses ne jouent normalement pas ce rôle.

Les pousses ont une capacité limitée d'absorption de Cd par leur paroi cellulaire et la recapture du Cd est inhibée de façon compétitive par tous les cations divalents ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ).

Ainsi, l'aquaculture de jeunes plants de *B. juncea* pourrait être une nouvelle méthode de rémediation du Cd ou d'autres métaux contaminants des eaux de surfaces ou souterraines.

Les marais pourraient être ainsi épurés des métaux contaminant leur eau ; cependant, la complexité extrême des écosystèmes formés par les marais et les difficultés inhérentes à la récolte limitent l'optimisation et le développement futur de cette méthode (Salt et al, 1997).

### 5.3.3. La rhizofiltration du chrome :

Le chrome est l'un des métaux toxiques largement distribué dans la nature. Deux formes sont trouvées dans l'environnement, une forme trivalente ( $\text{Cr}^{3+}$ ) et une hexavalente ( $\text{Cr}^{6+}$ ). La forme  $\text{Cr}^{6+}$  est la forme considérée comme présentant le plus de menaces pour l'environnement en raison de sa haute solubilité, de sa capacité de pénétrer les membranes cellulaires et de son fort pouvoir oxydant. L'industrie de la tannerie contribue largement à la pollution de l'eau en Inde. En effet, une récente étude a estimé à 2000 ou 3200 tonnes par an de chrome déversé dans l'environnement par la seule industrie de la tannerie. Les concentrations en Cr des effluents sont comprises entre 2000 et 5000  $\mu\text{g ml}^{-1}$  alors que la limite autorisée est de 2  $\mu\text{g ml}^{-1}$ . La contamination de l'eau par ces effluents pose un réel problème de santé publique et présente une menace pour les écosystèmes aquatiques (Chandra et al, 1997).

Au cours des dernières années, des efforts considérables ont été déployés pour développer des systèmes de traitement de l'eau par des plantes aquatiques. Des marais contaminés ont été plantés avec des roseaux des genres : *Phragmites*, *Typha*, et *Scirpus* et il a été observé qu'ils pouvaient contribuer à un traitement effectif des eaux polluées par du Cr.

L'équipe de Chandra a mené son étude en utilisant les plantes suivantes : *Bacopa monnieri*, *Scirpus lacustris*, *Phragmites karka*, et *Nymphaea alba*, afin d'évaluer leur capacité de rémédiation d'eau contaminée par du Cr dans des conditions de laboratoire mais aussi en plein champ.

Les résultats montrent que les plantes de *Nymphaea alba* sont capables d'accumuler des métaux dont du Cr lorsqu'elles poussent en présence d'effluents de l'industrie de la tannerie. Ceci a été observé aussi bien dans les conditions expérimentales de laboratoire qu'en plein champ. L'accumulation de Cr chez *Nymphaea alba* est plus importante dans les racines comparativement à celle mesurée dans le rhizome et les feuilles.

L'imperceptible accumulation de Cr dans les feuilles est probablement due à une faible mobilité donc à un mauvais transport du Cr des racines vers les pousses.

Cependant, il a également été observé que les performances de recapture du Cr des effluents des tanneries par *B. monnieri*, *S. lacustris*, *P. karka* et *N. alba* étaient toutes très prometteuses.

En effet, l'accumulation de Cr est significative pour *P. karka* (615 µg / par g de poids sec), pour *S. lacustris* (515 µg / g de poids sec), et pour *N. alba* (465 µg / g de poids sec) après 14 jours d'incubation. L'accumulation la plus faible sur cette période, a été mesurée chez *B. monnieri* avec 340 µg / g de poids sec (Chandra et al, 1997).

Les résultats de cette étude sont assez encourageants et les performances des plantes pour la rémediation du Cr des effluents issus des tanneries sont satisfaisantes. Il a été ainsi mis en évidence que certaines plantes pouvaient tolérer de forte teneur en Cr sans présenter de symptômes de toxicité. Il est donc raisonnable de penser pouvoir utiliser ces plantes pour la rémediation du Cr du sol et de l'eau.

#### **5.4. La rhizofiltration d'herbicides contaminants la surface de l'eau :**

La fuite des pesticides des champs agricoles est un facteur qui contribue très largement à la dégradation de la qualité de l'eau dans le centre Ouest des Etats-Unis. L'atrazine, l'alachlore, la cyanazine, et le métolachlore sont les herbicides majeurs utilisés dans l'Iowa et le centre Est. L'utilisation intensive des ces composés relativement solubles et mobiles menace l'intégrité de la surface des eaux. C'est approximativement 1 à 6% des herbicides appliqués qui sont perdus dans l'environnement aquatique par fuites et écoulements. Ceci dépend de la pente des champs, des pratiques de labour, de la présence ou de l'absence d'écoulement de surface, et la quantité de précipitations après l'application (Rice et al, 1997).

La présence de pesticides dans les eaux de surface est un souci pour la santé humaine et celle des écosystèmes aquatiques. La contamination des eaux de surface par des pesticides expose sans différence les micro-organismes, les plantes, et les animaux. Les insectes aquatiques et les autres arthropodes aquatiques sont particulièrement sensibles aux insecticides, tandis que les herbicides peuvent supprimer la croissance de la végétation aquatique. La première inquiétude pour la santé humaine vient d'une exposition à long terme à des pesticides contaminants l'eau de boisson à des faibles concentrations.

Les procédés conventionnels de traitement de l'eau (filtration, clarification, chlorination, et adoucissement) permettent une petite réduction de la teneur en pesticides de l'eau de boisson. Les concentrations de pesticides sont significativement diminuées seulement lorsque l'on utilise des procédés comme l'ozonation, ou l'osmose inverse.

Dans les zones où l'on ne peut pas utiliser ces derniers procédés de traitement de l'eau, les concentrations en pesticides retrouvées dans l'eau de boisson pourront être similaires à celles mesurées dans les eaux de surface ou de source contaminées (Rice et al, 1997).

L'équipe de Rice a tenté de montrer que les plantes tolérant les herbicides pouvaient remédier les eaux contaminées par ces herbicides. Trois plantes ont été étudiées pour leur capacité à remédier le métolachlore ou l'atrazine contaminant l'eau. Parmi ces plantes, deux sont des plantes aquatiques immergées : *Ceratophyllum demersum* L. et *Elodea canadensis* Rich. et une flottante : *Lemna minor* L. Les résultats de cette étude ont démontré que ces plantes contribuaient à la dissipation accélérée du métolachlore et de l'atrazine dans des eaux de surface.

Ainsi, à l'exception de *L. minor* traité par de l'atrazine, les concentrations de [<sup>14</sup>C] métolachlore ou de [<sup>14</sup>C] atrazine sont significativement ( $p < 0,01$ ) réduites dans l'eau des systèmes d'incubation plantés, après 16 jours. Pour le métolachlore aussi bien que pour l'atrazine, l'ordre d'efficacité des plantes aquatiques sur la réduction des concentrations en herbicide est (du plus efficace au moins efficace) : *C. demersum* > *E. canadensis* > *L. minor*.

En effet, les résultats montrent qu'après 16 jours d'incubation, seulement 1,44%, 4,06%, et 22,7% du [<sup>14</sup>C] métolachlore appliqué restent dans l'eau de surface des systèmes contenant *C. demersum*, *E. canadensis*, ou *L. minor* tandis que 61% du [<sup>14</sup>C] métolachlore appliqué persiste à la surface des systèmes sans plante. *C. demersum* et *E. canadensis* réduisent de façon significative la concentration de [<sup>14</sup>C] atrazine dans l'eau de surface. Seulement 41,3% et 63,2% de [<sup>14</sup>C] atrazine appliquée se retrouve dans l'eau des systèmes plantés contenant respectivement *C. demersum* et *E. canadensis* et 85% de [<sup>14</sup>C] atrazine appliquée est détectée dans l'eau des systèmes plantés avec *L. minor* et ceux qui ne sont pas plantés (Rice et al, 1997).

L'accélération de la biodégradation des herbicides paraît être plus importante que leur accumulation et leur stockage dans les plantes. De plus, il a été mis en évidence que cette accélération de dissipation des herbicides est le résultat d'un métabolisme xénobiotique dans la plante ou d'une augmentation de la biodégradation des herbicides dans l'eau par un accroissement de la population microbienne de la rhizosphère ou de la phyllosphère (zone des feuilles) des plantes aquatiques (Rice et al, 1997).



Ainsi, les plantes aquatiques peuvent contribuer directement ou indirectement à l'épuration de polluants de l'eau et des sédiments. Une interaction directe entre la plante et le contaminant pourrait inclure la recapture et l'accumulation ou le métabolisme du composé xénobiotique à l'intérieur de la plante. La recherche a montré que les plantes contenaient des enzymes qui transforment et conjuguent les contaminants organiques. Ainsi les herbicides qui sont absorbés par les plantes résistantes aux herbicides peuvent être transformés et conjugués par ces enzymes de dégradation. Et il faut noter que la tolérance des plantes au métolachlore est souvent dépendante de la capacité de la plante à conjuguer rapidement le métolachlore.

D'autre part, la disparition des contaminants de l'eau ou des sédiments peut être indirectement affectée par les plantes par accélération de la biodégradation du composé dans la phyllosphère ou la rhizosphère. Les plantes fournissent une surface favorable à l'attachement des micro-organismes, sous forme de phytosynthétates et d'exsudats, qui stimulent la croissance des micro-organismes dans la phyllosphère et la rhizosphère. De plus, certaines plantes peuvent transporter de l'oxygène aux sédiments anaérobies et aux eaux anoxiques, créant ainsi un microenvironnement oxydé qui stimule la dégradation microbienne des composés organiques (Rice et al, 1997).

Il a été aussi observé que le métolachlore est plus facilement dégradé que l'atrazine dans les systèmes plantés ou non plantés. L'atrazine est plus récalcitrante à la dégradation, ceci est dû à sa structure chimique et à sa moindre biodisponibilité pour les micro-organismes ou pour les plantes. Il a été montré que le métolachlore était principalement dégradé par les micro-organismes des sédiments et de nombreux produits de dégradation du métolachlore sont détectés dans les cultures microbiennes. Des études en laboratoire ont mis en évidence que l'atrazine, en surface d'échantillon d'eau ou de solutions aquatiques, était récalcitrante à la dégradation microbienne. De plus le métolachlore est plus soluble dans l'eau que l'atrazine, il est donc plus biodisponible pour les plantes et les micro-organismes. Ainsi, une plus grande recapture et biodisponibilité du métolachlore pour les plantes et les micro-organismes contribuent à une plus rapide dégradation du métolachlore par rapport à l'atrazine (Rice et al, 1997).

La rhizofiltration est donc une technologie assez récente qui peut permettre, grâce aux plantes, l'épuration des eaux de surface ou d'écoulement contaminées par des métaux lourds, des radionucléides ou des composés organiques tels que les herbicides. Mais la rhizofiltration peut être également mis à profit dans des applications moins médiatisées comme l'utilisation des plantes pour épurer les eaux usées.

Ceci a été mis en application dans un petit village savoyard où l'on peut voir un vaste champ de roseaux (*Phragmites australis*, *Typha latifolia* et *Scirpus lacustris*) plantés dans des bassins creusés et remplis de gravier. C'est donc en 1993 que Gérard Blake a lancé cette station d'épuration expérimentale d'un nouveau genre qui utilise des lits à macrophytes. Le principe biologique repose sur l'échange gazeux entre les racines des roseaux productrices d'oxygène et les bactéries épuratrices génératrices de CO<sub>2</sub>. C'est un procédé faussement simple car il nécessite de l'expertise pour le suivi des plantes, le dimensionnement des bassins et la circulation alternée entre les bassins afin d'éviter le colmatage. Pour des coûts d'exploitation faibles (20 000 francs / an), les rendements d'épuration sont bons (par exemple 70% en azote et phosphore). Ce principe de lits à macrophytes est à l'étude afin de l'appliquer à l'épuration des métaux lourds et des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) (anonyme 1997).

## **6. Les espoirs et les limites de la phytoremédiation**

### **6.1. Les limites de la phytoremédiation**

#### **6.1.1. Les limites générales**

Quand les plantes sont en vie, leurs racines nécessitent de l'oxygène, de l'eau et des nutriments. La texture du sol, le pH, la salinité, la concentration du polluant et la présence de toxiques doivent être situés dans les limites de la tolérance de la plante.

Les contaminants qui sont très solubles dans l'eau peuvent être filtrés à l'extérieur de la zone des racines.

Ceci suppose donc que la plante soit capable de retenir ce contaminant dans cette zone. Le contaminant doit être à l'intérieur des zones racinaires de la plante qui sont activement croissantes.

La phytoremédiation est ainsi plus lente qu'un processus physico-chimique ce qui peut constituer un obstacle à sa mise en œuvre.

### 6.1.2. Les limites d'application de la phytoextraction

- ✓ Les plantes hyperaccumulatrices n'accumulent souvent qu'un seul élément spécifique et les chercheurs n'ont pas trouvé une plante capable d'accumuler plusieurs contaminants de façon efficace.
- ✓ Les plantes hyperaccumulatrices ont parfois une croissance lente et ont une biomasse limitée. Par exemple, *Thlaspi caerulescens* la plante fétiche des chercheurs croît lentement : 20 à 30 cm par an.
- ✓ Les caractéristiques agronomiques, le potentiel de multiplication et la physiologie de ces plantes sont encore mal connus ce qui rend plus difficile leur utilisation.
- ✓ Les plantes qui accumulent naturellement des métaux toxiques sont rares et grandissent dans des régions isolées et leur habitat est parfois menacé par l'exploitation minière ou le développement d'autres activités. Ceci implique que l'utilisation de ces plantes sauvages pour l'obtention de semence n'est pas possible à long terme (Cunningham et al,1995).
- ✓ Les plantes hyperaccumulatrices peuvent être mangées par des animaux ou des insectes qui vont alors faire entrer ces toxiques dans la chaîne alimentaire (K. Sergeant Brown, 1995 ; Black, 1995).

Les efforts de recherche sont axés sur le développement de la culture de plantes traditionnellement récoltées qui présentent une tendance naturelle à l'hyperaccumulation d'un contaminant spécifique.

Une stratégie proposée mais actuellement infructueuse, est de croiser des plantes hyperaccumulatrices avec des plantes présentant une biomasse relativement haute. Depuis quatre ans, de nombreuses espèces de « mauvaises herbes » ont été sélectionnées pour leur capacité de recapture de métaux contaminants, pour leur tolérance et leur facilité à transloquer ces contaminants de leurs racines vers leurs parties aériennes (Cunningham et al, 1995).

Beaucoup d'efforts ce sont concentrés sur la famille des *Brassicaceae* à laquelle appartiennent de nombreuses espèces de plantes hyperaccumulatrices.

Malheureusement les résultats de ces sélections indiquent que même si les cations des métaux lourds sont facilement recaptés et accumulés dans les racines des plantes, la translocation de ces cations dans les pousses ainsi que la tolérance de ces métaux par les plantes restent limitées (Cunningham et al, 1995).

## **6.2. Les espoirs de la phytoremédiation**

La phytoextraction pourrait être développée car elle représente un réel avantage économique par rapport aux techniques scientifiques traditionnelles spécialement dans le cas où les métaux extraits ont une valeur économique, comme le cuivre ou le nickel.

D'autre part, des équipes au Royaume Uni, en France, et en Suisse travaillent à l'extension de la phytoextraction à d'autres éléments trace comme l'arsenic, le cuivre, le césium, le strontium, et l'uranium. Les méthodes utilisées vont de la sélection classique à la transgénèse.

Bien qu'encore au stade des essais en champs, la phytoextraction semble un outil complémentaire possible d'intervention sur des sols pollués par des éléments traces. Elle pourrait également constituer la première étape pour l'installation d'une flore durable sur les sites fortement contaminés et contribuer aussi à leur amélioration paysagère.

**Thèse soutenue par : M<sup>lle</sup> FOURNON Dominique**

**Titre : La phytoremédiation**

## CONCLUSION

La phytoremédiation dans son ensemble permet, grâce aux plantes, une stabilisation des contaminants du sol (évitant ainsi toute migration de ces derniers vers les nappes phréatiques) ou une épuration des sols et des eaux contaminées par des polluants divers et variés (comme par exemple les pesticides, les explosifs, les radionucléides, le plomb, mais aussi tous les métaux lourds) qui présentent des risques pour la santé des hommes mais aussi des animaux et de leur écosystème.

Les plantes mettent en œuvre différents procédés afin de réaliser cette épuration. En effet, elles peuvent :

- soit augmenter la dégradation microbienne au sein de la rhizosphère grâce à la production d'un exsudat racinaire qui accroîtra la dégradation des composés organiques,
- soit accumuler ces contaminants dans leurs tissus (notamment par les composés inorganiques).

La bioconcentration des métaux lourds par les plantes est une zone fascinante de recherche qui, en plus de ses applications commerciales importantes, peut fournir des réponses à des questions fondamentales de biochimie des plantes, de la nutrition et du stress physiologique. L'unique gène de «résistance au métal» et «d'accumulation de métal» peut représenter un travail bénéfique pour l'agriculture et l'environnement.

La phytoremédiation n'est encore qu'à ses débuts, mais pourrait devenir une technologie pour nettoyer l'environnement. Les développements futurs nécessitent un effort de recherche pluridisciplinaire qui combine la biologie de la plante, la chimie du sol, la microbiologie du sol et les techniques agricoles et environnementales. Il est possible que les plantes accumulant des métaux toxiques puissent être un jour cultivées et récoltées facilement et à un moindre coût, laissant alors le sol ou l'eau avec une teneur en métaux toxiques très diminuée.

Les plantes nous donnent déjà de la nourriture, de l'énergie, des matériaux de construction, des fibres naturelles et de nombreux composés chimiques. L'utilisation des plantes pour le nettoyage de l'environnement peut garantir une planète plus verte et plus propre pour nous tous.

Vu et permis d'imprimer

Grenoble, le

LE DOYEN

P<sup>r</sup> P. DEMENGE

LE PRÉSIDENT DE THÈSE

P<sup>r</sup> F. SEIGLE-MURANDI

## BIBLIOGRAPHIE

Baker A.J.M., Reeves R.D., McGrath S.P.(1991) In situ decontamination of heavy metal polluted soils using crops of meta-accumulating plants :afeasability study.

Dans: In situ bioreclamation(RE Hinchee, RF Olfenbuttel, eds), Butterworth-Heinemann, pp 600-605

Baker A.J.M., McGrath S.P., Sidoli C.D.M., Reeves R.D.(1994). The possibility of in situ heavy metal decontamination of polluted soils using crops of metal-accumulating plants.

Res. conserv. and recycl. **11** ; 41-49.

Baker A.J.M., Morel J.L. et Schwartz C. (1997) Des plantes pour dépolluer les friches industrielles.

Biofutur, **169** ; 30-33.

Banuelos G.S. and Meek D.W. (1990). Accumulation of selenium in plants grown on selenium-treated soil.

J. Environ. Qual. **19** ; 772-777.

Banuelos G.S., Cardo G., Mackey B., Ben-Asher J., Wu L., Beuselinck P., Akohoue S., and Zambrzuski S. (1993). Plant and environment interactions. Boron and selenium removal in boron-laden soils by four sprinkler irrigated plant species.

J. Environ. Qual. **22** ; 786-792.

Banuelos<sup>1</sup> G.S., H. A. Ajwa, B. Mackey, L. Wu, C. Cook, S. akohoue, and S. Zambruzuski (1997). Evaluation of different plant species used for phytoremediation of high soil selenium.

J. Environ. Qual. **26** ; 639-646.

G. S. Banuelos<sup>2</sup>, H. A. Ajwa, L. Wu, Xun Guo, S. Akohoue, et S. Zambruski (1997).Selenium-induced growth reduction in *Brassica* land races considered for phytoremediation.

Ecotoxicol. and environ. safety **36** ; 282-287.

Berti W.R., and Cunningham S.D.(1997). In-place inactivation of Pb in Pb-contaminated soil.

Environ. Sci. Technol. **31** ; 1359-1364.

Black H. (1995). Absorbing possibilities : Phytoremediation.

Environ. Health Perspect. **103** ; 1106-1108.

Blaylock M.J., Salt D.E., Dushenkov S., Zakharova O., Gussman C., Kapulnik Y., Ensley B.D., and Raskin I. (1997).

Environ. Sci. Technol. **31** ; 860-865.

Broadley M.R. and Willey N.J.(1997). Differences in root uptake of radiocaesium by 30 plant taxa.

Environ. Pollut. **97** ; 11-15.

Brown S.L., Chaney R.L., Angle J.S, and A.J.M.Baker (1994). Phytoremediation of *Thlaspi caerulescens* and Bladder campion for zinc-and cadmium-contaminated soil.

J. Environ. Qual. **23** ; 1151-1157.

Brown K.S (1995). The green clean : the emerging field of phytoremediation takes root.

Bioscience **45** ; 579-582.

Brown S.L., Chaney R.L., Angle J.S., and Baker A.J.M. (1995) Zinc et cadmium uptake by hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* and metal tolerant *Silene vulgaris* grown on sludge-amended soils.

Environ. Sci. Technol. **29** ; 1581-1585.

Bruken J.G. et Schnoor J.L. (1996). Phytoremediation :plant uptake of atrazine and role of root exudates.

J. of Environ. Engi. **11** ; 958-963.

Bruken J.G. et Schnoor J.L. (1997). Uptake and metabolism of atrazine by poplar trees.

Environ. Sci. Technol. **31** ; 1399-1406.

Chandra P., Sinha S., and Rai U.N. (1997). Bioremediation of chromium from water and soil by vascular aquatic plants.

Dans Phytoremediation of soil and water contaminants . Ellen L. Fruger, Todd A. Anderson and Joel R. Coats. ACS Symposium series 664 American Chemical Society : Washington, DC, (1997) pp 274-282.

Chen J., Huang J.W., Caspar T., and Cunningham S.D. (1997). Arabidopsis thaliana as a model system for studying lead accumulation and tolerance in plants.

Dans Phytoremediation of soil and water contaminants . Ellen L. Fruger, Todd A. Anderson and Joel R. Coats. ACS Symposium series 664 American Chemical Society : Washington, DC, (1997) pp 264-273.

Cooney M.C. (1996). Sunflowers remove radionuclides from water in ongoing phytoremediation field tests.

Environ. Sci. Technol. **30** ; 194A.

Cunningham S.D., Berti W.R. and Huang J.W.(1995). Phytoremediation of contaminated soils.

Trends biotech. **13** ; 393-397

Cunningham S.D. and Ow D.W.(1996).Promise and prospects of Phytoremediation  
Plant Physiol **110** ; 715-719.

Cunningham S.D., Shann J.R., Crowley D.E., and Anderson T.A. (1997). Phytoremediation of contaminated water and soil.

Dans Phytoremediation of soil and water contaminants . Ellen L. Fruger, Todd A. Anderson and Joel R. Coats. ACS Symposium series 664 American Chemical Society : Washington, DC, (1997) pp 2-17.

Delhaize E., Randall P.J., Wallace, P.A. and Pinkerton, A. (1994). Screening *Arabidopsis* for mutant in mineral nutrition.

Plant Soil **156** ; 131-134.

Donnelly P.K., Hegde R.S., Fletcher J.S. (1994).

Chemosphere **28** ; 981-988.

Dushenkov V., Kumar P.B.A.N., Motto H., and Raskin I. (1995). Rhizofiltration : the use of plants to remove heavy metals from aqueous streams.

Environ. Sci. Technol. **29** ; 1239-1245.

Ebbs S.D. and Kochian L.V.(1997). Toxicity of zinc and copper to *Brassica* species : implication for phytoremediation.

J. environ. Qual. **26** ; 776-781.

Ebbs S.D., Lasat M.M., Brady D.J., Cornish J., Gordon R., and Kochian L.V. (1997). Heavy metals in the environment. Phytoextraction of cadmium and zinc from a contaminated soil.

J. Environ. Qual. **26** ; 1424-1430.

Ebbs S.D. and Kochian L.V. (1998). Phytoextraction of zinc by oat (*Avena sativa*), barley (*Hordeum vulgare*), and indian mustard (*Brassica juncea*).

Environ. Sci. Technol. **32** ; 802-806.

Entry J.A., Rygielwicz P.T., Emmingham W.H. (1994). <sup>90</sup>Sr uptake by *Pinus ponderosa* et *Pinus radiata* seedlings inoculated with ectomycorrhizal fungi.

Environ. Pollut. **86** ; 201-206.

Entry J.A., Vance N.C., Hamilton M.A., Zabowski D., Watrud L.S., Adriano D.C. (1996).

Water, Air Soil Polut. **88** ; 167-176.

Entry J.A., Watrud L.S., Manasse R.S., and Vance N.C.(1997). Phytoremediation and reclamation of soil contaminated with radionuclides.

Dans Phytoremediation of soil and water contaminants . Ellen L. Fruger, Todd A. Anderson and Joel R. Coats. ACS Symposium series 664, American Chemical Society : Washington, DC, (1997) pp 299-306.

Gardea-Torresdey J. L, Gonzalez J. H., Tiemann K. J., Rodriguez O., Gamez G. (1998). Phytofiltration of hazardous cadmium, chromium, lead and zinc ions by biomass of *Medicago sativa* (Alfalfa).

J. Hazard. Materi. **57** ; 29-39.

Goel A., Kumar G., Payne G.F., and Dube S.K. (1997). Plant cell biodegradation of a xenobiotic nitrate ester, nitroglycerin.

Nature Biotech. **15** ; 174-177.

Gordon M., Choe N., Duffy J., Ekuan G., Heilman P., Muiznieks I., Newman L., Ruszaj M., Shurtleff B.B., Strand S., and Wilmoth J. (1997). Phytoremediation of trichloroethylene with hybrid poplars.

Dans Phytoremediation of soil and water contaminants . Ellen L. Fruger, Todd A. Anderson and Joel R. Coats. ACS Symposium series 664 American Chemical Society : Washington, DC, (1997) pp 117-185.

Hansruedi Felix (1997). Field trials in situ decontamination of heavy metal polluted soils using crops of metal-accumulating plants.

Z. Pflanzenernähr. Bodenk., **160** ; 525-529.

Hoagland R.E., Zablotowicz R.M., and Locke M.A. (1997). An integrated phytoremediation strategy for chloroacetamide herbicides in soil.

Dans Phytoremediation of soil and water contaminants . Ellen L. Fruger, Todd A. Anderson and Joel R. Coats. ACS Symposium series 664 American Chemical Society : Washington, DC, (1997) pp 92-105.

Hoffman F.O., Bergstrom U., Gylhander C.A., Wilikins A.B. (1984).

Nuclear safety **25** ; 533-546.

Huang<sup>1</sup> J. W., Chen J., Berti W. R., and Cunningham S. D. (1997). Phytoremediation of lead-contaminated soils :role of synthetic chelate in lead phytoextraction. *Environ. Sci. Technol.* **31** ; 800-805.

Huang<sup>2</sup> J. W., Chen J., and Cunningham S. D. (1997). Phytoextraction of lead from contaminated soils.

Dans *Phytoremediation of soil and water contaminants* . Ellen L. Fruger, Todd A. Anderson and Joel R. Coats. ACS Symposium series 664 American Chemical Society : Washington, DC, (1997) pp 283-297.

Hughes J.B., Shanks J., Vanderford M., Lauritzen J., et Bhadra R. (1997). Transformation of TNT by aquatic plants and plant tissus cultures. *Environ. Sci. Technol.* **31** ; 266-271.

Kruger E.L., Anhalt J.C., Sorenson D., Nelson B., Chouhy A.L., Anderson T.A., and Coats J.R. (1997). Atrazie degradation in pesticide-contaminated soils : phytoremediation potential.

Dans *Phytoremediation of soil and water contaminants* . Ellen L. Fruger, Todd A. Anderson and Joel R. Coats. ACS Symposium series 664 American Chemical Society : Washington, DC, (1997) pp 55-64.

Kumar P.B.A.N., Dushenkov V., Motto H., and Raskin I. (1995). Phytoextraction : the use of plants to remove heavy metals from soils. *Environ. Sci. Technol.* **29** ; 1232-1238.

Laperche V., Logan T.J., Gaddam P., and Traina S.J. (1997). Effect of apatite of lead from contaminated soil. *Environ. Sci. Technol.* **31** ; 2745-2753.

Lasat M.M., Fuhrmann M., Ebbs S.D., Cornish J.E., and Kochian L.V. (1998). Biodegradation and bioremediation: Phytoremediation of a radiocesium-contaminated soil: evaluation of cesium-137 bioaccumulation in shoots of three plant species. *J. Environ. Qual.* **27** ; 135-139 (1998).

Malaisse F. et al. (1979)  
*Oikos* **33** ; 472.

Ma Q.T., Logan T.J., and Traina S.J. (1995). Lead immobilization from aqueous solutions and contaminated soils using phosphate rocks. *Environ. Sci. Technol.* **29** ; 1118-1126.

Newman L.A., Strand S.E., Choe N., Duffy J., Ekuan G., Ruszaj M., Schurtleff B.B., Wilmoth J., Heilman P., and Gordon M.P. (1997). Uptake and biotransformation of trichloroethylene by hybrid poplars. *Environ. Sci. Technol.* **31** ; 1062-1067.

Perkovich B.S., Anderson T.A., Kruger E.L., and Coats J.R. (1996). Enhanced mineralisation of <sup>14</sup>C atrazine in *Kochia scoparia* rhizospheric soil from a pesticide-contaminated site. *Pestic. Sci.* **46** ; 391-396.

Reeves R.D., Brooks R.R., and Macfarlane R.M. (1981). Nickel uptake by californian *Stretanthus* and *Caulanthus* with particular reference to the hyperaccumulator *S. p polygaloides* gray (*Brassicaceae*). *Amer. J. Bot.* **68** ; 708-712.

Reeves R.D., Baker A.J.M., Borhidi A. and Berazain R. (1996). Nickel-accumulating plants from the ancient serpentine soils of Cuba. *New phytol.* **133** ; 217-224.

Rice P.J., Anderson T.A., and Coats J.R. (1997). Phytoremediation of herbicide-contaminated surface water with aquatic plants.

Dans Phytoremediation of soil and water contaminants . Ellen L. Fruger, Todd A. Anderson and Joel R. Coats. ACS Symposium series 664 American Chemical Society : Washington, DC, (1997) pp 133-151.

Robinson B.H., Chiarucci A., Brooks R.R., Petit D., Kirkman J.H., Gregg P.E.H., De Dominicis V. (1997). The nickel hyperaccumulator plant *Alyssum bertolonii* as a potentiel agent for phytoremediation and phytominig of nickel.

J. Geochemi. Explora. **59** ; 75-86.

Rugh C.L., Wile D., Strack N.M., Thompson D.M., Summers A.O., and Meagher R.B..(1996). Mercuric ion and resistance in trasgenic Arabidopsis thaliana plants expressing a modified bacterial mer A gene.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA. **93** ; 3182-3187.

Salt D.E., Pickering I.J., Prince R.C., Gleba D., Dushenkov S., Smith R.D., and Raskin I. (1997). Metal accumulation by aquacultured seedlings of indian mustard.

Environ. Sci. Technol. **31**, N°6, pp 1636-1644.

Schnoor J.L., Licht L.A., McCutcheon S.C., Wolfe N.L., Carreira L.H. (1995). Phytoremediation of Organic and Nutriment Contaminants.

Environ.Sci. Technol vol.**29** ; 318-323.

Shann J.R. (1995). The role of plants and plant/microbial systems in the reduction of exposure.

Environ. Health Perspect. **103** ; 13-15.

Stoeckel D.M., Mudd E.C., and Entry J.A. (1997). Degradation of persistent in riparian wetlands.

Dans Phytoremediation of soil and water contaminants . Ellen L. Fruger, Todd A. Anderson and Joel R. Coats. ACS Symposium series 664 American Chemical Society : Washington, DC, (1997) pp 114-132.

Stomp A.M., Han K.H, Wilbert S., Gordon M.P., and Cunningham S.D. (1994). Genetic strategies for enhancing phytoremediation.

Ann. New York Aca. Sci. **721** ; 481-491.

Terry N., Carlson C., Raab T.K., and Zayed A.M. (1992). Rates of selenium volatilization crop species.

J. Environ. Qual. **21** ; 341-344.

Thompson P.L., Ramer L.A., and Schnoor J.L. (1998). Uptake and transformation of TNT by hybride poplar trees.

Environ. Sci. Technol. **32** ; 975-980.

Wagner S.C. et Zablutowicz R.M. (1997). Utilization of plant material for remediation of herbicide-contaminated soils.

Dans Phytoremediation of soil and water contaminants . Ellen L. Fruger, Todd A. Anderson and Joel R. Coats. ACS Symposium series 664 American Chemical Society : Washington, DC, (1997) pp 65-76.

Wallace G.A., Wallace A. (1983)

J. of Plant Nutrit. **6** ; 439-446.

Zayed A. M. and Terry N. (1992). Selenium volatilization in broccoli as influenced by sulfate supply.

J. Plant Physiol. **140** ; 646-652.

Zayed A.M. and Terry N. (1994). Selenium volatilization in roots and shoots : effects of shoot removal and sulfate level.

J. Plant Physiol. **143** ; 8-14.

Zieve R. and Peterson P.J. (1984). Volatilization of seleniem from plants and soils.

Sci. Tot. Environ. **32** ; 197-202.



Anonyme :

Pollution : l'offensive des biotechnologies : le lavages des effluents encore plus efficace (1997).

Industries et techniques, 785 ; 25-26.



