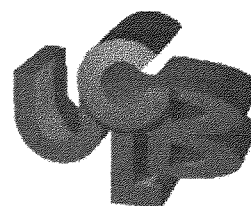


Ecole Nationale Supérieure
des Sciences de l'Information
et des Bibliothèques



Université Claude Bernard Lyon 1
43, boulevard du 11 Novembre 1918
69622 VILLEURBANNE CEDEX

DESS Ingénierie Documentaire

Rapport de recherche bibliographique

La phytoremédiation des sols pollués par les métaux

Franck REPELLINI

Sous la direction de

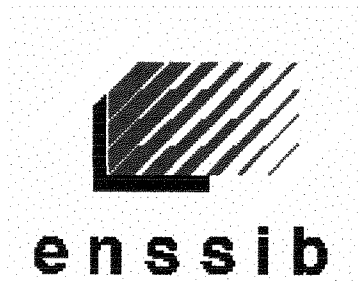
Olivier FAURE

Laboratoire d'écophysiologie végétale
Université Sciences et Techniques de Saint-Etienne
23, rue du Docteur Paul Michelon
42023 SAINT-ETIENNE Cedex 02

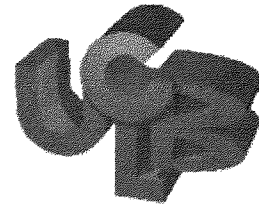
Année 1999-2000



M 2000 ID 24



Ecole Nationale Supérieure
des Sciences de l'Information
et des Bibliothèques



Université Claude Bernard Lyon 1
43, boulevard du 11 Novembre 1918
69622 VILLEURBANNE CEDEX

DESS Ingénierie Documentaire

Rapport de recherche bibliographique

La phytoremédiation des sols pollués par les métaux

Franck REPELLINI

Sous la direction de

Olivier FAURE

Laboratoire d'écophysiologie végétale
Université Sciences et Techniques de Saint-Etienne
23, rue du Docteur Paul Michelon
42023 SAINT-ETIENNE Cedex 02

Année 1999-2000

La phytoremédiation des sols pollués par les métaux

Franck REPELLINI

RESUME :

La phytoremédiation est l'utilisation de plantes et d'arbres pour dépolluer des sites. Concernant les sols contaminés par les métaux, trois technologies de phytoremédiation ont été développées. Dans la phytovolatilisation, les métaux sont convertis en composés volatils non toxiques et relâchés dans l'atmosphère. Dans la rhizofiltration, les racines collectent et stockent les métaux. La troisième technologie, appelée phytoextraction, est similaire à la rhizofiltration mais les métaux sont accumulés dans les tiges et les feuilles. Cette dernière utilise des plantes hyperaccumulatrices dont certaines peuvent être facilement modifiées génétiquement afin d'améliorer leur capacité à nettoyer les sols pollués par les métaux.

DESCRIPTEURS :

Phytoremédiation
Phytoextraction
Phytomining
Hyperaccumulateur
Métaux

ABSTRACT :

Phytoremediation is the use of plants and trees to clean up polluted sites. For metal contaminated soils, three phytoremediation technologies have been developed. In phytovolatilization, metals are transformed into non-toxic volatile forms and released in atmosphere. In rhizofiltration, roots harvest and store metals. The third technology, called phytoextraction, is similar to rhizofiltration but metals are stored in stems and leaves. This last uses hyperaccumulator plants of which some of them can be easily modified genetically to improve their capacity to remedy metal polluted soil.

KEYWORDS :

Phytoremediation
Phytoextraction
Phytomining
Hyperaccumulator
Metals

Sommaire

1ère partie : Méthodologie de recherche bibliographique	1
I Définition du sujet	1
1) Origine de la demande	1
2) Objectifs de la recherche	1
3) Analyse du sujet et choix des descripteurs	2
II Recherche sur base de données en ligne	3
1) Stratégie de recherche	3
2) Résultats des interrogations	4
3) Commentaires	6
4) Durée et coût d'interrogation	6
III Recherche sur base de données sur CD-ROM	6
1) Stratégie de recherche	6
2) Résultats des interrogations et commentaires	7
3) Durée et coût d'interrogation	7
IV Recherche sur l'Internet	7
1) Stratégie de recherche	7
2) Résultats des interrogations	8
3) Commentaires	8
4) Durée et coût d'interrogation	9
V Obtention des documents primaires	9
VI Récapitulatif de la durée et du coût de la synthèse	9
1) Coût estimé	9
2) Temps estimé	10
 2ème partie : Synthèse	 11
Introduction	11
Chapitre 1 : Définitions et réglementation	12
I La phytoremédiation : définition et différents aspects	12
II Normes de pollution métallique et réglementation	14
1) Les normes	14
2) La réglementation	14
Chapitre 2 : Mécanismes de résistance à la toxicité des métaux	15
I Les mécanismes engendrant la toxicité des ions métalliques	15
II Les mécanismes impliqués dans la tolérance aux métaux chez les plantes	15
1) L'absorption et le transport	15
2) Le stockage et la détoxification	16
3) Les réponses au stress oxydatif	16

Chapitre 3 : Les acteurs de la phytoremédiation	17
I Laboratoires et centres de recherche	17
II Les sociétés commerciales	18
III Les brevets	18
Chapitre 4 : Doutes et espoirs	19
I Inconvénients liés à la phytoremédiation	19
II Les perspectives	19
Conclusion	20
 3ème partie : Bibliographie	 21

Méthodologie de recherche bibliographique

1ère partie : Méthodologie de recherche bibliographique

I Définition du sujet

1) Origine de la demande

Suite à un récent contact, le commanditaire de ce sujet, M. Olivier Faure, maître de conférence en biologie végétale à l'Université de Sciences et Techniques de Saint-Etienne, m'a fait part du changement de thématique de recherche qu'il allait effectué. Etant, depuis sa nomination en terre stéphanoise, au sein d'une équipe travaillant sur la menthe et son métabolisme secondaire, M. Faure m'a annoncé qu'il allait se tourner à présent vers un sujet à la croisée de la biologie végétale et de la protection de l'environnement et qui concerne une pratique de dépollution faisant appel aux plantes : la phytoremédiation.

Sachant ce qu'impose ce type de changement en matière de renouvellement de sources d'information et de documents, j'ai donc proposé que mon rapport de recherche bibliographique soit réalisé dans ce contexte.

2) Objectifs de la recherche

Nous avons d'abord déterminé de façon plus précise le sujet en axant celui-ci sur le problème des sols contaminés par les métaux. Malgré ces obligations d'enseignement, M. Faure avait pu se constituer une base de références d'articles primaires en utilisant les ressources d'information habituelles mis à sa disposition, à savoir les Current Contents.

Toutefois, il manquait, selon lui, des références et des données sortant un peu du cadre de la recherche fondamentale universitaire. Il s'agissait, en l'occurrence, de données sur les entreprises, les brevets, les normes de pollution métallique des sols, la réglementation,...

De plus, faisant remarquer que les Current Contents ne répertoriaient pas tous les périodiques scientifiques, j'ai suggéré que d'autres bases devaient être consultées afin de savoir si on n'occultait pas des articles ou des synthèses d'intérêt.

Ainsi, deux objectifs principaux se sont dégagés :

- Réaliser une synthèse, un « instantané » en Février 2000 de ce qu'englobe la phytoremédiation des sols pollués par les métaux. Elle doit pouvoir servir à toute personne désirant prendre rapidement connaissance du sujet et s'en servir de base pour approfondir un aspect particulier.
- Donner un ensemble de sources diversifiées afin de couvrir l'ensemble du sujet et permettre une mise à jour aussi complète et rapide que possible.

3) Analyse du sujet et choix des descripteurs

Considérant la nature du sujet qui recouvre plusieurs disciplines scientifiques telles que la biologie végétale, les sciences du sol, l'écotoxicologie ainsi que la volonté de s'intéresser aux aspects économiques, juridiques ou écologiques, il est apparu nécessaire de s'appuyer sur tous les supports de recherche d'information mis à disposition par l'ENSSIB et l'Université Lyon 1. Ainsi, la recherche de références a été réalisée au moyen de bases de données sur CD-ROM (Pascal), d'un serveur de base donnée en ligne (Dialog) et de l'Internet. Certaines références ont été communiquées par des voies plus informelles (amis, brochures, liste de référence dans les articles,...).

Malgré la diversité du sujet, le choix des descripteurs n'a pas posé de problème particulier. La littérature scientifique étant majoritairement en anglais, tous les termes sélectionnés ont été traduits dans cette langue. De plus, même quand l'article est écrit en français (ou une autre langue), il est indexé en anglais dans les bases de données.

Deux termes se sont imposés d'emblée pour toutes les interrogations : PHYTOREMEDIATION et METAL. Ceux-ci constituent le cœur du sujet. Les termes SOIL (pour sol) et POLLUTED ou POLLUTION (pour pollué ou pollution) ont été proposés mais n'ont pas été considérés comme apportant une valeur ajoutée significative à la recherche.

Après lecture de quelques articles généraux, d'autres descripteurs sont apparus comme étant d'une certaine importance car ils sont porteurs d'informations plus précises. Ainsi, les termes PHYTOEXTRACTION, PHYTOMINING et HYPERACCUMULATOR ont été d'une aide précieuse.

L'utilisation des troncatures a permis d'éviter les problèmes de noms pluriels et formes conjuguées pendant les interrogations. En prenant le symbole ? comme marque de troncature illimitée, voici un récapitulatif des descripteurs sélectionnés :

Descripteurs principaux	Descripteurs secondaires
PHYTOREM?	SOIL
PHYTOEXTRACT?	POLLUT?
PHYTOMIN?	
HYPERACCUMULAT?	
METAL?	

L'année a aussi été un critère de sélection dans certaines recherches. L'interrogation a été limitée de 1997 à aujourd'hui sur Dialog pour certaines bases de données et sur CD-ROM Pascal. Toutefois, d'autres publications et articles antérieurs à cette période sont cités dans synthèse et la bibliographie car ils font autorité dans le domaine.

II Recherche sur base de données en ligne

Le serveur de base de données utilisé lors de cette recherche est le serveur Dialog. Il héberge et donne accès à près de 600 bases couvrant de nombreux domaines dans les sciences, la technologie, l'économie, les affaires, le juridique, etc... Le service est payant et nécessite l'ouverture d'un compte. Celui-ci a pu nous être fourni à titre d'enseignement dans le cadre du DESS. L'interrogation a été réalisée en mode Telnet.

1) Stratégie de recherche

Dans un premier temps, il est intéressant de déterminer quelles sont les bases possédant le plus d'information sur le sujet. Dialog possède une fonction qui permet d'effectuer ce travail. Grâce à la base 411 appelée DialIndex, il est donc possible d'établir un classement des bases les plus pertinentes. De plus, comme Dialog classe les bases de données en super-catégories, on peut restreindre la recherche à certains domaines. Les catégories choisies étaient les sciences (ALLSCIENCE), l'environnement (ALLENVIRONNEMENT).

Ainsi, la procédure a été la suivante :

b 411

sf allscience, allenvironnement

s phytorem ? AND metal ?

Cette recherche préalable effectuée, les cinq bases ayant rapportées le plus de résultats ont été sélectionnées puis une recherche plus poussée a été lancée sur celles-ci avec l'équation suivante :

s (phytorem ? OR phytoextract ? OR phytomin ? OR hyperaccumulat ?) AND metal ?

La même stratégie avec la dernière équation a été utilisée pour la recherche dans la catégorie des brevets (ALLPAT).

2) Résultats des interrogations

La recherche des bases pertinentes sur la science et l'environnement a couvert 112 bases dont 47 exprimant au moins un résultat. Voici la liste des 5 premières bases par ordre d'importance avec le nombre de résultats obtenus par base :

Rang	Résultat	Numéro de la base	Nom de la base
1	109	440	Current Contents Search
2	97	34	SciSearch
3	96	144	Pascal
4	85	50	CAB Abstracts
5	84	156	TOXLINE

Descriptifs des bases sélectionnées :

Current Contents Search :

Producteur : ISI (Institute for Scientific Information)

Période couverte : Janvier 1990 à aujourd'hui

Fréquence de mise à jour : hebdomadaire

Nombre de références : 7 309 274 en Décembre 1997

SciSearch :

Producteur : ISI (Institute for Scientific Information)

Période couverte : Janvier 1990 à aujourd'hui

Fréquence de mise à jour : hebdomadaire

Nombre de références : 6.7 millions en Juin 1998

Pascal :

Producteur : INIST (Institut de l'Information Scientifique et Technique)

Période couverte : 1973 à aujourd'hui

Fréquence de mise à jour : mensuelle

Nombre de références : 11 830 000 en Mars 1998

CAB Abstracts

Producteur : CAB International
Période couverte : 1972 à aujourd'hui
Fréquence de mise à jour : mensuelle
Nombre de références : 3 480 000 en Mars 1998

TOXLINE

Producteur : U.S. National Library of Medicine
Période couverte : / (ensemble de plusieurs bases d'âges différents)
Fréquence de mise à jour : mensuelle
Nombre de références : 2 400 000 en Février 1998

La recherche avancée sur ces cinq bases a permis de retrouver 471 enregistrements. Une limitation par l'année (publication postérieure à 1997) a été introduite à ce niveau. Il ne restait alors plus que 226 résultats. Enfin, une élimination des doublons (commande RD) a été effectuée pour obtenir un total de 117 références.

L'interrogation sur les bases brevets a couvert 8 bases dont 3 ont fait apparaître au moins un résultat.

Rang	Résultat	Numéro de la base	Nom de la base
1	22	654	U.S Patent. Fulltext.
2	3	348	European Patents
3	2	342	Derwent Patents Citation Index

Descriptifs des bases sélectionnées :

U.S Patent. Fulltext :

Producteur : Dialog corporation
Période couverte : Janvier 1990 à aujourd'hui
Fréquence de mise à jour : hebdomadaire
Nombre de références : 2 245 000 en Février 1998

European Patents:

Producteur : European Patent Office
Période couverte : Décembre 1978 à aujourd'hui
Fréquence de mise à jour : hebdomadaire
Nombre de références : 900 000 en Février 1998

Derwent Patents Citation Index:

Producteur : Derwent Informations
Période couverte : / (couverture d'un ensemble de bases de brevets)
Fréquence de mise à jour : hebdomadaire
Nombre de références : 3 000 000 en Février 1998

Ces trois bases ont récupéré au total 27 résultats. Certains sont redondants mais impossibles à éliminer avec la commande RD de Dialog (structure différente entre les bases). Il a été remarqué que certains résultats provenant des brevets américains ont le même titre mais ont un numéro d'enregistrement différent (sans doute, des brevets repris et modifiés par leurs auteurs).

3) Commentaires

Après analyse des résultats, on peut estimer que l'on a obtenu une bonne pertinence surtout sur l'interrogation effectuée en science et environnement. Toutefois, si la qualité des résultats est indéniable, la manipulation de Dialog nécessite une bonne connaissance et une bonne pratique de l'outil sans lesquels l'interrogation devient trop longue et très coûteuse.

4) Durée et coût d'interrogation

La recherche s'est déroulée en deux sessions. La première a duré 1h 10 et la seconde 45mn soit un total de 1h 55.

Le coût total de ces deux sessions est de $(77.16+48.96)=126.12$ \$ soit environ 845 FF

III Recherche sur base de données en CD-ROM

Cette recherche a été effectuée à la Bibliothèque Universitaire de Lyon 1 sur le campus de la Doua sur un poste réservé à la consultation de CD-ROM. Les bases de données choisies furent Pascal, Biosis (base de donnée axée sur la biologie et l'agriculture) et Docthèse (base de données sur les thèses soutenues en France depuis 1972). La période couverte par les CD-ROM étant de 6 mois pour Pascal et Biosis, il a été interrogé les 6 CD-ROM couvrant la période de Janvier 1997 à Décembre 1999.

1) Stratégie de recherche

La même équation de recherche que pour Dialog a été utilisée pour l'interrogation des trois bases sélectionnées. L'interrogation sur Pascal n'avait pas pour but de récupérer des références mais d'exploiter celles obtenues sur Dialog en analysant les notices contenant des résumés lorsqu'ils sont disponibles. D'autre part, Biosis étant une base qui est sortie au 7^{ème} rang des bases d'intérêt (71 résultats) lors de la recherche sur Dialog, il était donc intéressant

de pouvoir la consulter sur CD-ROM. Ceci s'est fait dans la même optique que pour Pascal (accès gratuit aux résumés).

2) Résultats des interrogations et commentaires

Outre la possibilité d'accès aux résumés, la recherche n'a ramené que peu d'autres éléments. En effet, l'interrogation de Biosis a permis de constater que les références obtenues (70 sur les 6 CD-ROM c'est à dire 1 référence d'écart avec Dialog car datée de Janvier 2000) sont toutes les mêmes que celles couvertes par Pascal. Le même constat a été fait avec Docthèse II apparaît donc que, sur le sujet, Pascal fait double emploi avec Docthèse et Biosis. Je préconise ainsi une utilisation préférentielle de Pascal dans notre cas.

3) Durée et coût d'interrogation

L'accès et l'interrogation des CD-ROM est gratuit. Le temps passé pour l'interrogation des différentes bases est de 2h 30 environ.

IV Recherche sur l'Internet

1) Stratégie de recherche

La recherche sur l'Internet n'a pas été menée de façon aussi restrictive que sur Dialog. En effet, l'objectif n'était pas de trouver des références précises d'articles mais plutôt de repérer les personnes qui s'intéressent ou jouent un rôle dans la phytoremédiation (laboratoires, entreprises, chercheurs,...).

Ainsi, il a été fait appel à 3 outils de recherche d'information :

- Un moteur de recherche par pertinence : Altavista [URL : www.av.com]
- Un moteur de recherche par popularité : Google [URL : www.google.com]
- Un annuaire thématique : Yahoo ! Etats-Unis et Yahoo ! France [URL : www.yahoo.com et www.yahoo.fr].

Les recherches ont été réalisées à partir des 2 descripteurs suivants :

PHYTOREMEDIATION et PHYTOEXTRACTION.

Pour Altavista, le formulaire de recherche avancé (dans lequel l'option « un site par réponse » est cochée) a été utilisé avec l'équation suivante (* est le signe de troncature pour Altavista):

(phytoremediation AND metal*) OR phytoextraction

La recherche sur Yahoo France a utilisé phytoremédiation (accent sur le 2^{ème} e) comme descripteur.

2) Résultats des interrogations

Les descripteurs PHYTOREMEDIATION et PHYTOEXTRACTION utilisés seul sur Altavista ont donné respectivement 4832 et 291 résultats. L'équation de recherche (phytoremediation AND metal*) et celle citée dans le paragraphe précédent ont abouti à 2041 et 2047 résultats respectivement.

Sur Yahoo France, la recherche n'a donné aucune référence. Par contre, sur le site américain de Yahoo, le terme PHYTOREMEDIATION donne 2 catégories et 13 sites et PHYTOEXTRACTION donne 2 sites.

Sur Google, on obtient 3560 résultats pour PHYTOREMEDIATION et 209 résultats pour PHYTOEXTRACTION.

3) Commentaires

L'utilisation d'Altavista a ramené beaucoup de pages ce qui dénote d'une certaine activité sur le sujet. On peut remarquer, après analyse, que la grande majorité de ces pages sont hébergées par des sites américains appartenant soit à des universités, soit à des organismes gouvernementaux. Toutefois, la recherche de pages pertinentes est fastidieuse et peu efficace. Il est vite apparu que cet outil est peu intéressant au départ d'une recherche surtout quand le domaine couvert est large, récent (la phytoremédiation est concomitante à l'explosion du web) et fortement américanisé.

Par contre, l'exploitation des sites découverts par Yahoo a été d'une grande aide. Il ont permis d'accéder à des listes de liens spécialisées et des sites références. Les 20 premiers résultats de Google sont aussi porteurs d'information. Cependant, après la visite d'une dizaine d'adresses, on revient sur les mêmes sites.

4) Durée et coût d'interrogation

La durée d'interrogation et de consultation des sites visités a été approximativement de 7h 30. Une grande part des consultations a été effectuée à l'ENSSIB et donc n'a rien coûté puisque l'école appartient au réseau universitaire qui ne fait pas payer ses communications aux utilisateurs. Cependant, si on considère une connexion privée pour une entreprise et que l'on prenne un tarif de 0.22 FF/minute (offre Club-Internet abonnement et communications comprises), les 7h 30 (soit 450 minutes) valent 100 FF.

V Obtention des documents primaires

Lorsque les périodiques étaient présents à la bibliothèque universitaire de Lyon 1, les articles d'intérêt s'y rapportant ont été photocopiés sur place.

Pour les ouvrages et les articles publiés dans les périodiques extérieurs, les références ont été laissées à la discrétion du commanditaire. Celui-ci pouvant faire jouer le Prêt Entre Bibliothèque de la bibliothèque de sciences de Saint-Etienne.

Le nombre de photocopie effectué est de 76 feuillets soit, à 0.5 FF la photocopie, un coût total 38 FF. Le temps consacré à ce travail a été de 2h.

VI Récapitulatif de la durée et du coût de la synthèse

1) Coût estimé

Dans le cadre de la facturation de cette synthèse comme prestation de service, le coût devrait comprendre le temps consacré à sa réalisation.

Activités	Coût (en FF)
Interrogation sur Dialog	845
Interrogation sur l'Internet	100
Obtention des documents	36
Total	981

2) Temps estimé

Activités	Durée (en heure)
Interrogation sur Dialog	2
Interrogation sur CD-ROM	2.5
Interrogation sur l'Internet	7.5
Obtention des documents	2
Lecture et analyse des document	25
Rédaction	20
Total	49

Synthèse

2^{ème} partie : Synthèse

Introduction

Depuis le début du 19^{ème} siècle, l'activité industrielle de nos sociétés n'a cessé de croître et a permis à une partie de l'humanité d'améliorer considérablement ses conditions de vie. Mais, cette exploitation de la nature a eu aussi pour conséquence de dégrader l'environnement au point de devenir une menace pour notre santé. Une des principales préoccupations environnementales est la pollution des sols et des eaux par les métaux. En effet, les friches industrielles, les exploitations minières, les bases militaires abandonnées sont autant de sites où le sol est imprégné de divers éléments métalliques (zinc, plomb, cuivre, cadmium, nickel, ...). Or, ces métaux, présents en quantité dépassant souvent celles rencontrées naturellement, peuvent s'accumuler dans la chaîne alimentaire *via* la flore et la faune et aboutir à l'homme à des niveaux de concentration toxiques.

La solution pour pallier à ce problème est de traiter les sols contaminés afin d'en retirer les éléments métalliques ou, au moins, de ramener leur concentration à des niveaux acceptables pour la viabilité de l'écosystème. Une des ces méthodes de traitement, apparue au début des années 1990, consiste en l'utilisation de plantes capables de croître sur des sols à forte teneur en métaux et susceptibles d'en mobiliser ou absorber une quantité appréciable. Cette technique, appelée phytoremédiation, s'avère être prometteuse car elle est peu coûteuse et plus respectueuse de l'environnement contrairement à des méthodes faisant appel à des procédés physico-chimiques (12, 26).

Cette synthèse a donc pour objectif de faire une présentation et un état des lieux, en l'an 2000, de cette technique de dépollution. Ainsi, dans un premier temps, il sera défini les différents aspects et notions relatifs à la phytoremédiation des sols contaminés par les métaux. Il sera aussi question des principales espèces utilisées comme modèles de recherche et/ou d'exploitation. Un bref rappel sera effectué à ce niveau sur le cadre juridique concernant ce sujet. Un second volet traitera plus spécifiquement des mécanismes biologiques impliqués dans la résistance des plantes à la toxicité des métaux. Une troisième partie aura trait aux acteurs du sujet : centres et équipes de recherche, sociétés commerciales et applications effectives de la technique. Un paragraphe sera consacré aux brevets relatifs à la phytoremédiation déposés au cours de la dernière décennie. Enfin, un dernier volet sera consacré aux problèmes et réticences que peut rencontrer la phytoremédiation et aux perspectives d'évolution et d'amélioration apportées à la méthode notamment celle offertes par le génie génétique.

Chapitre 1 : Définitions et réglementation

I La phytoremédiation : définition et différents aspects

La phytoremédiation (ou phytorestauration) est la dépollution par les végétaux, des sols, des sédiments ou des eaux souterraines (12, 26, 38). Les substances toxiques responsables de cette pollution sont soit des molécules organiques comme les pesticides, soit des métaux présents en quantités importantes. Dans le cas des molécules organiques, les processus de décontamination des sols font souvent appel aux microorganismes telluriques qui sont efficaces dans la dégradation de ces composés ce qui en fait chuter la toxicité. Il est possible d'utiliser des végétaux dans la même optique : c'est la phytodégradation (Fig. 1).

Mais, il est plus difficile de traiter un sol contaminé par les métaux car ceux-ci s'y accumulent irrémédiablement. La littérature, à ce sujet, évoque souvent le terme de « métaux lourds » mais ceci est un abus de langage car on englobe dans cette catégorie des éléments tels que l'arsenic et le sélénium qui ne sont pas, à proprement parlé, des métaux selon les chimistes (4). Une définition précise dit qu'un métal lourd est un élément dont le poids spécifique dépasse 5 g/cm³.

Plusieurs techniques physico-chimiques existent pour éliminer ces éléments mais elles sont onéreuses, lourdes à mettre en place et laissent un sol stérilisé peu utile par la suite. La phytoremédiation est donc apparue ces dernières années comme étant une alternative de dépollution, certes plus lente, mais aussi beaucoup plus économique et plus respectueuse de la microflore, composante essentielle de la bonne qualité des sols.

Il existe plusieurs stratégies de phytoremédiation des sols contaminés par les métaux. On distingue :

- La phytovolatilisation

Dans cette technique, les plantes ont la capacité d'absorber certains éléments comme le mercure ou le sélénium et de leur adjoindre des groupements méthyls (-CH₃). Ces éléments méthylés sont volatiles et sont donc libérés dans l'atmosphère (5, 6).

- La phytoextraction

C'est la principale voie de recherche et d'application de la phytoremédiation (15, 36, 50). Elle consiste en l'utilisation de plantes capables de prélever les métaux du sol et de les accumuler dans les parties aériennes afin de récolter ces dernières et de les incinérer (Fig. 1). Les cendres résultantes, plus faciles à manipuler, peuvent être stockées ou bien réutilisées par la métallurgie. Cette faculté d'absorption et d'accumulation a donné lieu aussi au concept de « phytomining » qui est l'exploitation par des plantes de gisements métallifères trop pauvres pour être rentables par des techniques traditionnelles d'extraction (8, 30, 53).

- La rhizofiltration

C'est un procédé similaire à la phytoextraction dans lequel les composés métalliques sont accumulés au niveau des racines. La rhizofiltration s'utilise plus facilement sur des cultures hors-sol où l'élément à dépolluer est de l'eau contaminée. Dès que les racines sont saturées en métaux, on récolte les plantes puis on les traite selon le même principe qu'en phytoextraction (Fig. 1).

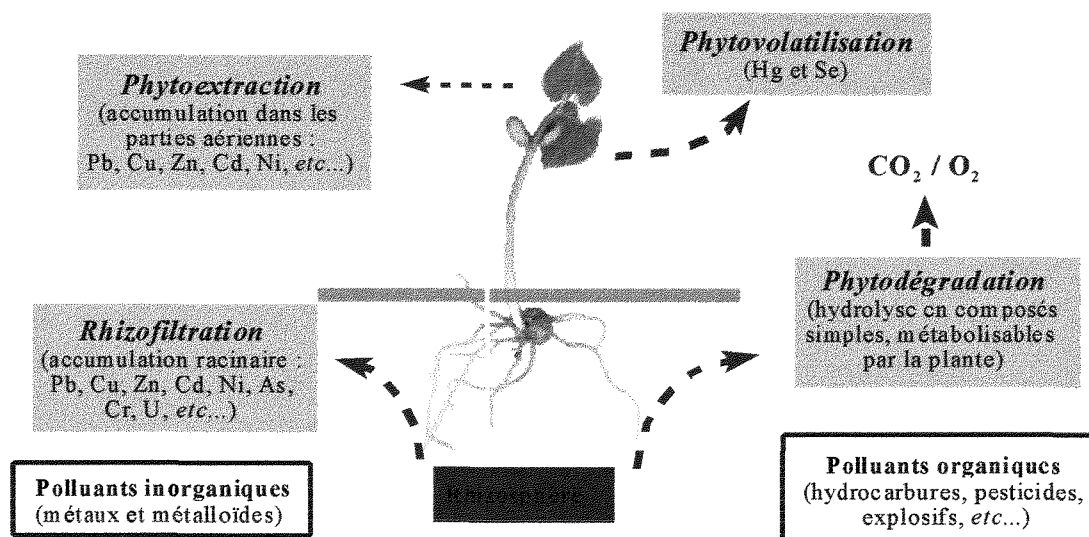


Figure 1 : Schéma récapitulatif des différents aspects de la phytoremédiation

Il existe deux catégories de plantes susceptibles d'intervenir dans les processus de phytoremédiation. D'une part, il y a les plantes dites « tolérantes aux métaux » qui sont en général des populations d'espèces communes adaptées aux sites métallifères. Ces plantes sont potentiellement utiles pour la phytostabilisation et la phytovolatilisation ainsi que pour l'étude des mécanismes de tolérance mais leur capacité d'accumulation des métaux dans les parties aériennes est faible (0.005 à 0.05% de la matière sèche). Elles présentent donc peu d'intérêt pour la phytoextraction (4).

En revanche, il existe des plantes dites « hyperaccumulatrices » (1) qui sont capables de stocker dans les tiges et les feuilles de 10 à 500 fois plus d'éléments métalliques que les autres espèces végétales. A ce jour, il a été recensé plus de 400 taxons de plantes hyperaccumulatrices réparties dans toutes les zones du globe. La plupart des espèces utilisées sont de petites plantes de la famille des Brassicacées (14). Les plus connues sont *Brassica juncea*, très utilisée pour la décontamination du plomb et du cadmium, *Thlaspi caerulescens* (Fig. 2), capable d'accumuler le zinc (39, 44, 45), le cadmium (9) et le nickel (1, 50) et le genre *Alyssum* (40, 51).



Figure 2 : *Thlaspi caerulescens*, une hyperaccumulatrice de zinc et de nickel

Il existe, toutefois de nombreuses autres hyperaccumulatrices dans d'autres familles (Violacées, Euphorbiacées, Caryophyllacées (46),...). Certaines applications sont aussi tentées avec des arbres comme le peuplier et des plantes domestiquées comme le tournesol (54, 55).

II Normes de pollution métallique et réglementation

1) Les normes

Dans le domaine des sites à réhabiliter et notamment des sols contaminés, il est difficile d'établir des normes. En France, il n'existe pas de normes, précisant pour chaque produit potentiellement polluant, les valeurs-limites au-dessus desquelles il faut dépolluer (2). Par contre, d'autres pays européens et non-européens ont mis en place des normes nationales (Tab. 1).

Tableau 1 : Comparatif des seuils de métaux polluants couramment rencontrés dans les sols
(en mg de polluant/kg de sol)

	Pays-Bas	Grande-Bretagne	Allemagne	Québec	Australie
Plomb	600	500	1000	1000	300
Cadmium	20	3	10	20	20
Arsenic	50	10	50	50	100
Chrome	800	600	250	800	/

La difficulté d'instauration et la disparité provient du fait que la teneur métallique d'un élément varie grandement d'une zone géographique à l'autre selon la géologie du site. Un sol peut tout à fait excéder un seuil de façon naturelle sans que cela ait une influence dommageable pour l'environnement.

2) La réglementation

Il n'y a pas de loi française spécifique sur les sols pollués par les métaux. Par contre, l'arsenal juridique concernant l'environnement s'est peu à peu constitué depuis une dizaine d'années sur le thème de la protection et de la décontamination des sols. Il est impossible dans le cadre de cette synthèse de résumer le contexte réglementaire du sujet. Toutefois, il est conseillé de consulter le chapitre VII de l'ouvrage de Paul Lecomte pour avoir de plus amples renseignements sur cet aspect (2).

Chapitre 2 : Mécanismes de résistance à la toxicité des métaux

I Les mécanismes engendrant la toxicité des ions métalliques

Les métaux sont essentiels au bon fonctionnement d'une cellule vivante car ils interviennent dans de nombreuses fonctions (23). Ils agissent en tant que cofacteur dans certaines enzymes (la superoxyde dismutase contient du zinc et du cuivre, la glutathion réductase contient du sélénium,...) ou bien assurent la stabilité structurale des certaines macromolécules (zinc pour des facteurs de transcription).

Cependant, la cellule n'a besoin de ces ions qu'en faible quantité. Lorsque la concentration intracellulaire de ces éléments devient trop importante, l'excès de métal réagit avec l'O₂ pour former des radicaux libres (10). Or, ces molécules sont des composés extrêmement réactifs susceptibles d'oxyder les molécules biologiques (protéines, ADN, lipides,...) provoquant des dégâts majeurs et pouvant aboutir à la mort cellulaire (19).

Ainsi, la cellule doit contrôler finement sa concentration en ion métallique sachant qu'ils sont nécessaires mais qu'un excès est mortel. En général, les plantes n'ont pas de problèmes pour assurer ce contrôle car les métaux, dans la plupart des sols, sont à l'état de traces. Mais, dans le cas de sols naturellement métallifères ou pollués par l'activité humaine, la teneur est bien supérieure aux capacités de régulation de la plupart des plantes (3, 24). Seules, les plantes tolérantes et les hyperaccumulatrices ont développé, au cours de l'évolution, des systèmes leur permettant de croître dans cet environnement hostile.

II Les mécanismes impliqués dans la tolérance aux métaux chez les plantes

Il est possible de considérer trois niveaux de contrôle de la toxicité des métaux chez les végétaux (7). Le premier niveau concerne l'absorption et la distribution de l'ion métallique à travers la plante. Le deuxième met en jeu des systèmes de stockage et de détoxification. Enfin, le troisième consiste en la mise en place de processus réduisant le stress oxydatif engendré par la forte concentration intracellulaire des ions métalliques.

1) L'absorption et le transport

A ce jour, peu de données existent sur la caractérisation moléculaire de transporteurs membranaires d'ions métalliques chez les plantes. Les principales études ont été réalisées sur l'absorption du fer (18). Un transporteur de fer ferreux (Fe²⁺) a été caractérisé chez *Arabidopsis thaliana* (16) mais des études physiologiques indiqueraient que ce système n'est pas spécifique d'un métal donné. D'autre part, il est aussi démontré que la carence en fer ou en cuivre de certains sols activent l'expression de gènes codant des transporteurs. Ceux-ci peuvent alors véhiculer d'autres métaux présents dans le sol à des concentrations toxiques (7).

Après absorption, les ions métalliques peuvent être transportés dans les parties aériennes via le xylème (11) en étant pris en charge par des acides organiques comme le citrate ou des acides aminés comme l'histidine (25). Un transport par le phloème a aussi été démontré (43). Il fait intervenir une molécule dérivée de la méthionine, la nicotianamine (31, 32, 42).

2) Le stockage et la détoxification

Une fois les ions métalliques absorbés et distribués dans les cellules de la plante, ceux-ci sont pris en charge par diverses molécules pour être stockés sous des formes non toxiques. Des protéines spécifiques comme les ferritines (21), stockant le fer dans les plastes, et les métallothionéines (20, 22, 37), prenant en charge le cuivre et le zinc dans le cytoplasme, assurent une partie de ce stockage intracellulaire des métaux.

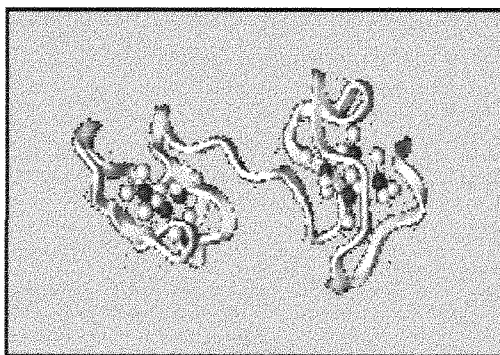


Figure 3 : Structure tridimensionnelle d'une métallothionéine
(en bleu, emplacement des ions métalliques chélatés)

D'autres molécules, les phytochélatines, sont des peptides synthétisés enzymatiquement à partir du glutathion et jouent un rôle essentiel dans l'homéostasie des ions métalliques chélatants dans le cytoplasme des métaux comme le cadmium, le zinc, et le cuivre (17, 34, 35, 41, 49).

Enfin, des transporteurs tonoplastiques ATP-dépendant véhiculent ces complexes dans les vacuoles où ils sont stockés (27-29).

3) Les réponses au stress oxydatif

Une accumulation trop importante de métaux peut générer un stress oxydatif chez les plantes qui réagiront en activant des mécanismes de défense. Par exemple, un excès de fer libre provoque des déséquilibres dans les rapports glutathion réduit-glutathion oxydé et ascorbate-déhydroascorbate. La synthèse d'ascorbate peroxidase et de Cu-Zn superoxide dismutase augmente alors en cas de toxicité ferreuse. Dans le cas d'une toxicité aluminique, la synthèse de peroxidases, de Cu-Zn superoxide dismutase et de glutathion transférase est stimulée (7).

Chapitre 3 : Les acteurs de la phytoremédiation

I Laboratoires et centres de recherche

La phytoremédiation, comme méthode de dépollution très attrayante du point de vue écologique et économique, a suscité l'intérêt de nombreux laboratoires de recherche à travers le monde. Ce sont les anglo-saxons, américains, canadiens et néo-zélandais en tête qui ont développé le concept et les premiers essais en champs.

La liste exhaustive de toutes les équipes travaillant sur le sujet sort du cadre de cette synthèse. Néanmoins, il y a un certain nombre de centres et d'individus incontournables qui produisent beaucoup de données et de nombreux articles sur les différents procédés de phytoremédiation évoqué dans le chapitre 1. Parmi ceux-ci, on peut citer :

- le groupe d'Ilya Raskin du centre AgBiotech de l'université Rutgers à New-Brunswick, Etats-Unis.
- Cunningham, Berti et Huang du centre de recherche et développement de la société DuPont, Etats-Unis.
- Ensley de la société Phytotech, Inc., Etats-Unis.
- L'équipe d'Alan Baker du département des sciences animale et végétale de l'université de Sheffield, Grande-Bretagne. Ceux-ci ont démontré la faisabilité de la phytoremédiation en 1991.
- Robert Brooks, du département de sciences du sol de l'université de Massey, Nouvelle-Zélande, est l'inventeur du concept de plantes hyperaccumulatrices et le découvreur de nombreux végétaux de ce type.
- En France, Jean-Louis Morel et Christophe Schwartz du laboratoire sols et environnement de l'ENSAIA/INRA à Vandoeuvre-les-Nancy travaillent aussi sur le sujet.

Ces auteurs publient leurs travaux dans divers périodiques dont les thématiques sont évidemment la biologie végétale, les sols et l'environnement. Parmi les plus fréquents, il y a Plant physiology, Plant and soil, Phytochemistry, Environmental science and technology, Journal of environmental quality,... Un périodique exclusivement consacré à la phytoremédiation et à ses différents aspects, International Journal of Phytoremediation, a vu le jour en 1999 (58). Cela illustre bien l'effervescence qu'il y a actuellement autour de ce sujet.

Enfin, il faut signaler qu'il existe une conférence internationale organisée tous les ans sur ce thème.

II Les sociétés commerciales

Après le succès des premiers essais en champs, quelques chercheurs et ingénieurs de l'environnement ont réalisé que la phytoremédiation pouvait être une technologie économiquement viable. Il s'est alors constitué, aux Etats-Unis essentiellement, des sociétés spécialisées dans ce domaine. Par contre, en France et plus généralement en Europe, aucune structure similaire n'a visiblement pas tenté l'aventure à l'heure actuelle.

Quatre sociétés américaines se partagent la majeure partie du marché de la phytoremédiation. Il s'agit de :

- Wolverton Environmental Services, Inc. (56)
- Verdant Technologies (57)
- Phytokinetics, Inc. (54)
- Phytotech, Inc. (55)

Cette dernière société est la plus portée sur la pollution par les métaux. Rachetée en 1999 par Edenspace Systems Corporation, elle possède pas moins de 11 brevets axés sur la phytoextraction et la rhizofiltration (procédé similaire à la phytoextraction où les racines ne prélèvent plus les métaux dans le sol mais dans l'eau). Cette stratégie propriétaire fait de cette société le leader dans ce secteur et lui assure un quasi-monopole. Elle utilise principalement des Brassicacées comme *Brassica juncea* et a déjà réalisé de nombreux contrats de dépollution avec plusieurs organismes et entreprises (Département de L'Energie et Département de la Défense américain, Daimler-Chrysler, l'état ukrainien pour la décontamination de sols autour de Tchernobyl,...).

III Les brevets

Il est intéressant de constater qu'au cours de ces 7 dernières années une vingtaine de brevets en rapport avec la phytoremédiation ont été déposés à l'office des brevets américains. Certains d'entre eux protègent une large partie d'une technique comme la phytoextraction ou le phytomining et bénéficie d'une couverture internationale (52, 53). D'autres occupent les niches laissées par les brevets cités précédemment et ont trait à des éléments de méthodes et à l'utilisation d'espèces végétales nouvellement découvertes comme hyperaccumulatrices.

Chapitre 4 : Doutes et espoirs

I Inconvénients liés à la phytoremédiation

Comme toute nouvelle technologie, la phytoremédiation suscite des doutes et des inquiétudes. L'un des inconvénients majeurs concerne les limites biologiques des plantes. En effet, même les hyperaccumulatrices ne peuvent survivre sur des sols sursaturés en métal d'autant que certains métaux comme le chrome n'ont pas d'espèce hyperaccumulatrice. De plus, les zones d'absorption sont limitées par les capacités de croissance des racines et, par conséquent, aux horizons supérieurs du sol. Pour ces raisons, la phytoremédiation ne doit pas être considérée comme l'unique méthode de dépollution des sols contaminés. Chaque cas est particulier et nécessite une étude spécifique. Ainsi, la phytoremédiation s'inscrit plutôt bien à la fin d'un programme de dépollution construit en plusieurs étapes (2).

L'autre problème essentiel, soulevé par la phytoextraction notamment, est le devenir des parties aériennes des hyperaccumulateurs. En effet, pour certaines personnes, on ne fait que déplacer le problème de l'accumulation des métaux dans la chaîne alimentaire. Selon les détracteurs de la méthode, des insectes et des mammifères herbivores s'exposeraient à ingérer de fortes teneurs en métaux en consommant les plantes hyperaccumulatrices, contaminant ainsi les premiers maillons de la chaîne. Toutefois, des études semblent montrer que les herbivores évitent de dévorer ces plantes trop chargées en métaux à leur goût. Les chercheurs pensent même que cette répulsion est une stratégie permettant aux plantes hyperaccumulatrices d'éviter la prédation (33).

II Les perspectives

La recherche sur la phytoremédiation s'oriente selon quatre grands axes (4, 13):

- Une meilleure compréhension des mécanismes physiologiques de l'hyperaccumulation
- Le recensement des espèces utilisables avant qu'elles ne disparaissent
- La domestication des hyperaccumulateurs et l'adaptation de la méthode à chaque situation (sol, climat, substance à éliminer)
- L'amélioration génétique des performances des plantes sauvages

Ce dernier point fait d'ailleurs l'objet de nombreuses études depuis ces trois dernières années. En effet, étant donné que les plantes « vedettes » de la phytoremédiation (*Brassica juncea*, *Thlaspi caerulescens*) sont des Brassicacées et que le modèle génétique végétal (*Arabidopsis thaliana*) l'est aussi, les techniques de modification génétiques chez ces plantes sont bien maîtrisées. Il est donc facile d'obtenir des hyperaccumulateurs génétiquement modifiés. Par exemple, des travaux récents montrent que, chez une souche de *Brassica juncea* génétiquement modifiée, la surexpression de deux enzymes impliquées dans la synthèse des phytochélatines augmente la capacité de la plante à accumuler et tolérer le cadmium (47, 48). Si ces plantes modifiées sont efficaces lors d'essais en champs, nul doute que la phytoremédiation en tirera un grand bénéfice.

Conclusion

La phytoremédiation, en dix ans, est passée du stade technologie prometteuse et attrayante par ces aspects écologiques pour la décontamination des sols pollués, au stade de méthode conventionnelle et efficace. La prise de conscience du besoin de protéger son environnement conjugué au pragmatisme de certains chercheurs et ingénieurs ont fait de ce concept une réalité économique viable.

Les américains estiment à 30 000 le nombre de sites contaminés sur leur territoire ce qui coûterait 300 milliards de dollars pour tout traiter par des méthodes conventionnelles d'excavation et de stockage (55). On imagine aisément la transposition en Europe où le nombre de sites contaminé est aussi, voire plus, important. Ce coût faramineux peut être abaissé de manière considérable grâce à la phytoremédiation tout en préservant la nature du sol. Cela en fait un procédé de dépollution très attractif. D'ailleurs, la dynamique du phénomène est bien illustrée par le nombre croissant de sociétés se constituant autour de ce thème et par la quantité de brevets déposés depuis quelques années.

De plus, il y a fort à parier qu'avec le prochain séquençage complet d'*Arabidopsis thaliana*, les brassicacées hyperaccumulatrices, déjà utilisées dans le commerce, vont bénéficier « d'améliorations » dans leurs capacités d'absorption et de stockage des métaux. Ce serait assez ironique de voir des plantes génétiquement modifiées, tant décriées actuellement, nous aider à dépolluer nos sols.

bibliographie

3ème partie : Bibliographie

Ouvrages

- 1 -**Brooks RR**, ed. 1998. *Plants that hyperaccumulate heavy metals : their role in phytoremediation, micobiology, archeology, mineral exploration and phytomining*. Wallingford : CAB International, 380p.
- 2 -**Lecomte P**. 1998. *Les sites pollués : traitement des sols et des eaux souterraines*. 2^{ème} édition. Paris : Lavoisier Techniques et documentation, 204p.
- 3 -**Prasad MNV, Hagemeyer J**. 1999. *Heavy metal stress in plants*. Berlin : Springer, 401p.

Articles

- 4 -**Baker AJM, Morel JM, Schwartz C**. 1997. Des plantes pour dépolluer les friches industrielles. *Biofutur* 169 : 30-33.
- 5 -**Banuelos G, Meek DW**. 1995. Selenium uptake by different species in selenium enriched soils. *J. Environ. Qual.* 19 : 468-474.
- 6 -**Banuelos GS, Ajwa HA, Terry N, Zayed A**. 1997. Phytoremediation of selenium laden soils : a new technology. *J. Soil Water Conservation*. 52 : 426-430.
- 7 -**Briat JF, Lebrun M**. 1999. Plant responses to metal toxicity. *C. R. Acad. Sci. Paris, série III*. 322 : 43-54.
- 8 -**Brooks RR, Chambers MF, Nicks LJ, Robinson BH**. 1998. Phytomining. *Trends Plant Sci.* 3 : 359-362.
- 9 -**Brown SL, Chaney RL, Angle JS, Baker AJM**. 1995. Zinc and cadmium uptake by hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* grown in nutrient solution. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 59 : 125-133.
- 10 -**Cadenas E**. 1989. Biochemistry of oxygen toxicity. *Annu. Rev. Biochem.* 58 : 79-110.
- 11 -**Cataldo DA, McFadden KM, Garland TR, Wildung RE**. 1988. Organic constituent and complexation of nickel(II), cadmium(II) and plutonium IV) in soybean xylem exudates. *Plant Physiol.* 86 : 734-739.
- 12 -**Chaney RL, Malik M, Li YM, Brown SL, Brewer EP, Angle JS, Baker AJM**. 1997. Phytoremediation of soil metals. *Curr. Opin. Biotechnol.* 8 : 279-284.
- 13 -**Cunnigham SD, Ow DW**. 1996. Promises and prospects of phytoremediation. *Plant Physiol.* 110 : 715-719.

- 14 -**Ebbs SD, Kochian LV. 1997.** Toxicity of zinc and copper to *Brassica* species : implications for phytoremediation. *J. Environ. Qual.* **26** : 776-781.
- 15 -**Ebbs SD, Lasat MM, Brady DJ, Cornish J, Gordon R, Kochian LV. 1997.** Phytoextraction of cadmium and zinc from contaminated soil. *J. Environ. Qual.* **26** : 1424-1430.
- 16 -**Eide D, Broderius M, Fett J, Guerinot ML. 1996.** A novel iron-regulated metal transporter from plants identified by functional expression in yeast. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **93** : 5624-5628.
- 17 -**Grill E, Winnacker EL, Zenk MH. 1991.** Phytochelatins. *Methods Enzymol.* **205** : 333-341.
- 18 -**Grusak MA. 1995.** Whole-root iron(III)-reductase activity throughout the life cycle of iron grown *Pisum sativum* L. (Fabaceae) : relevance to the iron nutrition of developing seeds. *Planta* **197** : 111-117.
- 19 -**Halliwell B, Gutteridge JMC. 1990.** Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease : an overview. *Methods Enzymol.* **186** : 1-85.
- 20 -**Hamer DH. 1986.** Methallothionein. *Annu. Rev. Biochem.* **55** : 913-951.
- 21 -**Harrison PM, Arosio P. 1996.** The ferritins : molecular properties, iron storage function and cellular regulation. *Bioch. Biophys. Acta* **1275** : 161-203.
- 22 -**Hasegawa I, Terada E, Sunairi M, Wakita H, Shinmachi F, Noguchi A, Nakajima M, Yakasi J, Ando T, Fujita K, Mae T, Matsumoto H, Mori S, Sekja J. 1997.** Genetic improvement of heavy metal tolerance in plants by transfer of the yeast metallothionein gene (CUP1). Plant nutrition for sustainable food production and environment. *Plant Soil.* **196** : 277-281.
- 23 -**Hocking PJ, Pate JS. 1977.** Mobilization of minerals to developing seeds of legumes. *Ann. Bot.* **41** : 1259-1278.
- 24 -**Kampfenkel K, van Montagu M, Inzé D. 1995.** Effects of iron excess on *Nicotiana plumbaginifolia* plants : implications in oxidative stress. *Plant Physiol.* **107** : 725-735.
- 25 -**Krämer U, Cotter-Howells JD, Baker AJM, Smith JAC. 1996.** Free histidine as a metal chelator in plant that accumulate nickel. *Nature* **379** : 635-638.
- 26 -**Kumar PBAN, Dushenkov V, Motto H, Raskin I. 1995.** Phytoremediation : the use of plant to remove heavy metals from soil. *Environ. Sci. Technol.* **29** : 1232-1238.
- 27 -**Kupper H, Fang Jie Zhao, McGrath SP. 1999.** Cellular compartmentation of zinc in leaves of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Plant Physiol.* **119** : 305-311.
- 28 -**Lasat MM, Baker AJM, Kochian LV. 1998.** Altered Zn compartmentation in root symplasm and stimulated Zn absorption into the leaf as mechanisms involved in Zn hyperaccumulation in *Thlaspi caerulescens*. *Plant Physiol.* **118** : 875-883.

- 29 -Martinoia E, Grill E, Tommasini R, Kreuz K, Amrhein N. 1993. ATP-dependent glutathione S conjugate 'export' pump in the vacuolar membrane of plants. *Nature* **364** : 247-249.
- 30 -Nicks L, Chamber MF. 1998. A pioneering of the potential of phytomining for nickel. In : Brooks RR, ed. *Plants that hyperaccumulate heavy metals : their role in phytoremediation, microbiology, archeology, mineral exploration and phytomining*. Wallingford : CAB International, 313-326.
- 31 -Pich A, Scholz G, Stephan UW. 1994. Iron dependent changes of heavy metals, nicotianamine and citrate in different plant organs and in the xylem exudate of two tomato genotypes : nicotianamine as possible copper translocator. *Plant Soil* **165** : 189-196.
- 32 -Pich A, Scholz G. 1993. The relationship between the activity of various iron-containing and iron free enzymes and the presence of nicotianamine in tomato seedlings. *Physiol. Plant.* **88** : 172-178.
- 33 -Pollard AJ, Baker AJM. 1997. Deterrence of herbivory by zinc hyperaccumulation in *Thlaspi caerulescens* (Brassicaceae). *New Phytol.* **4** : 655-658.
- 34 -Reuser WE. 1990. Phytochelatins. *Annu. Rev. Biochem.* **59** : 61-86.
- 35 -Reuser WE. 1995. Phytochelatins and related peptides : structure, biosynthesis and function. *Plant Physiol.* **86** : 1141-1149.
- 36 -Robinson BH, Brooks RR, Gregg PEH, Kirkman JH. 1999. The nickel phytoextraction potential of some ultramafic soils as determined by sequential extraction. *Geoderma* **87** : 293-304.
- 37 -Robinson NJ, Tommey AM, Kuske C, Jackson PJ. 1993. Plant metallothioneins. *Biochem. J.* **295** : 1-10.
- 38 -Salt DA, Blaylock M, Kumar NPBA, Dushenkov V, Ensley B, Chet I, and Raskin I. 1995. Phytoremediation : a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. *Biological Technology* **13** : 468-474
- 39 -Schen ZG, Zhao FJ, McGrath SP. 1997. Uptake and transport of zinc in the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* and the non-hyperaccumulator *Thlaspi ochroleucum*. *Plant Cell Environ.* **20** : 898-906.
- 40 -Schickler H, Caspi H. 1999. Response of antioxidative enzymes to nickel and cadmium stress in hyperaccumulator plants of the genus *Alyssum*. *Physiol. Plantarum.* **105** : 39-44.
- 41 -Schmöger MEV, Oven M, Grill E. 2000. Detoxification of arsenic by phytochelatins in plants. *Plant Physiol.* **122** : 793-80

- 42 -Shojima S, Nishizawa NK, Fushiya S, Nozoe S, Irifune T, Mori S. 1990.** Biosynthesis of siderophores. In vitro biosynthesis of 2'-deoxymugineic acid from L-methionine and nicotianamine. *Plant Physiol.* **93** : 1497-1503.
- 43 -Stephan UW, Schmidke I, Pich A. 1994.** Phloem translocation of Fe, Cu, Mn and Zn in *Ricinus* seedlings in relation to the concentrations of nicotianamine, an endogenous chelator of divalent metal ions, in different seedling parts. *Plant Soil* **165** : 181-188.
- 44 -Tolra RP, Poschenrieder C, Barcelo J. 1996.** Zinc hyperaccumulation in *Thlaspi caerulescens*.I. Influence on growth and mineral nutrition. *J. Plant Nutrition.* **19** : 1531-1540.
- 45 -Tolra RP, Poschenrieder C, Barcelo J. 1996.** Zinc hyperaccumulation in *Thlaspi caerulescens*.II Influence on organic acids. *J. Plant Nutrition.* **19** : 1541-1550.
- 46 -Wenzel WW, Jockwer F. 1999.** Accumulation of heavy metals in plants grown on mineralised soil of the Austrian Alps. *Environ. Pollution.* **104** : 145-155.
- 47 -Yong Liang Zhu, Pilon-Smits EAH, Jouanin L, Terry N. 1999.** Overexpression of glutathione synthetase in indian mustard enhances cadmium accumulation and tolerance. *Plant Physiol.* **119** : 73-79.
- 48 -Yong Liang Zhu, Pilon-Smits EAH, Tarun AS, Weber SU, Jouanin, L, Terry N. 1999.** Cadmium tolerance and accumulation in indian mustard is enhanced by overexpressing γ -glutamylcysteine synthetase. *Plant Physiol.* **121** : 1169-1177.
- 49 -Zenk MH. 1996.** Heavy metal detoxification in higher plants – a review. *Gene* **179** : 21-30.

Thèses :

- 50 -Schwartz C. 1997.** Phytoextraction des métaux des sols pollués par la plante hyperaccumulatrice *Thlaspi caerulescens*. Thèse doct. : Institut National Polytechnique de Lorraine, 184 p.
- 51 -Shallari S. 1997.** Biodisponibilité du nickel du sol pour l'hyperaccumulateur *Alyssum murale*. Thèse doct. : Institut National Polytechnique de Lorraine, 98 p.

Brevets :

- 52 -Raskin I, Kumar PBAN, Dushenkov V. 1994.** Phytoremediation of metals. United States Patent **5364451**.
- 53 -Chaney RL, Angle RS, Baker AJM, Li YM. 1998.** Method for phytomining of nickel, cobalt and other metals from soil. United States Patent **5711784**.

Sites web

- 54 -Phytokinetics, Inc.** URL : www.phytokinetics.com

55.- Phytotech, Inc. URL : www.edenspace.com

56 –Wolverton Environment Services. URL : www.wolvertonenvironmental.com

57 –Verdant Technologies. URL : www.verdanttech.com

58 –International Journal of Phytoremediation (page de présentation). URL : www.crcpress.com/catalog/1512514.htm

