

Bioremédiation de sols contaminés aux hydrocarbures et aux métaux lourds à l'aide de bactéries génétiquement sélectionnées



Sébastien Sachetelli, Katarina Bleau et Victor Patenaude, Collège Montmorency,
Québec, Canada



Colloque de l'ARC dans le cadre du 87^E Congrès de l'ACFAS, 28 mai 2019, Gatineau

1-Résumé

L'activité humaine a causé l'accumulation de métaux lourds et d'hydrocarbures à des niveaux toxiques dans les sols, et leur présence a de sérieuses répercussions sur la santé humaine et l'environnement. La remédiation de ces contaminants à l'aide de bactéries et de plantes présente une perspective plus efficace et écologique. Ici, nous proposons dans un premier temps d'évaluer des bactéries provenant de sol contaminé pour leurs résistances à de fortes concentrations de métaux lourds et d'hydrocarbures. Deuxièmement, de les tester *in situ*, par rapport à leur efficacité à décontaminer des sols et à permettre la croissance de deux plantes hyperaccumulatrices, la moutarde et le saule.

2- Méthodologie

Les gènes de résistance aux métaux lourds et aux HAP:

Nos études préliminaires ont démontré que les différentes souches en notre possession pouvaient survivre à des concentrations élevées de Ni, Cd, Pb et Zn (de 3000 ppm à plus de 10 000 ppm). Nous avons donc vérifié par PCR la présence de gènes de résistance aux métaux lourds tels que ArsC, CzcABC, CzcD, SodA, Met, CnrC et NccA ainsi que de PAH-RHD (pour les hydrocarbures), afin de déterminer les mécanismes utilisés par nos bactéries (1,2). Pour ce faire, nous avons extrait l'ADN génomique de nos souches puis procédé à des PCR avec des amorces dégénératives (figures 1 et 2).

Test *in situ*:

Pour les études sur le terrain, notre meilleure souche (la bactérie 1A1) a été choisie pour être utilisée sur un terrain contaminé planté avec du saule ou de la moutarde afin de vérifier son efficacité à éliminer ou à convertir les hydrocarbures (rhamnolipides) et métaux lourds (séquestrés, sous forme d'oxyde ou de carbonates). Pour ce faire, des échantillons de sols avant traitement ont été pris afin de déterminer les niveaux de contamination de base (spectrométrie de masse). Par la suite, des quadrants ont été déterminés pour chaque groupe expérimental. Ainsi nous avons un témoin sans traitement avec saule ou moutarde, un quadrant traité avec les bactéries seulement (1A1), un quadrant traité avec les bactéries, du BRF et du saule ou la moutarde et finalement un quadrant avec du saule ou de la moutarde seulement. À la fin de l'expérience, les parties aériennes et racinaires de la moutarde ont été prélevées afin d'analyser par spectrométrie de masse.

3-Résultats

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27

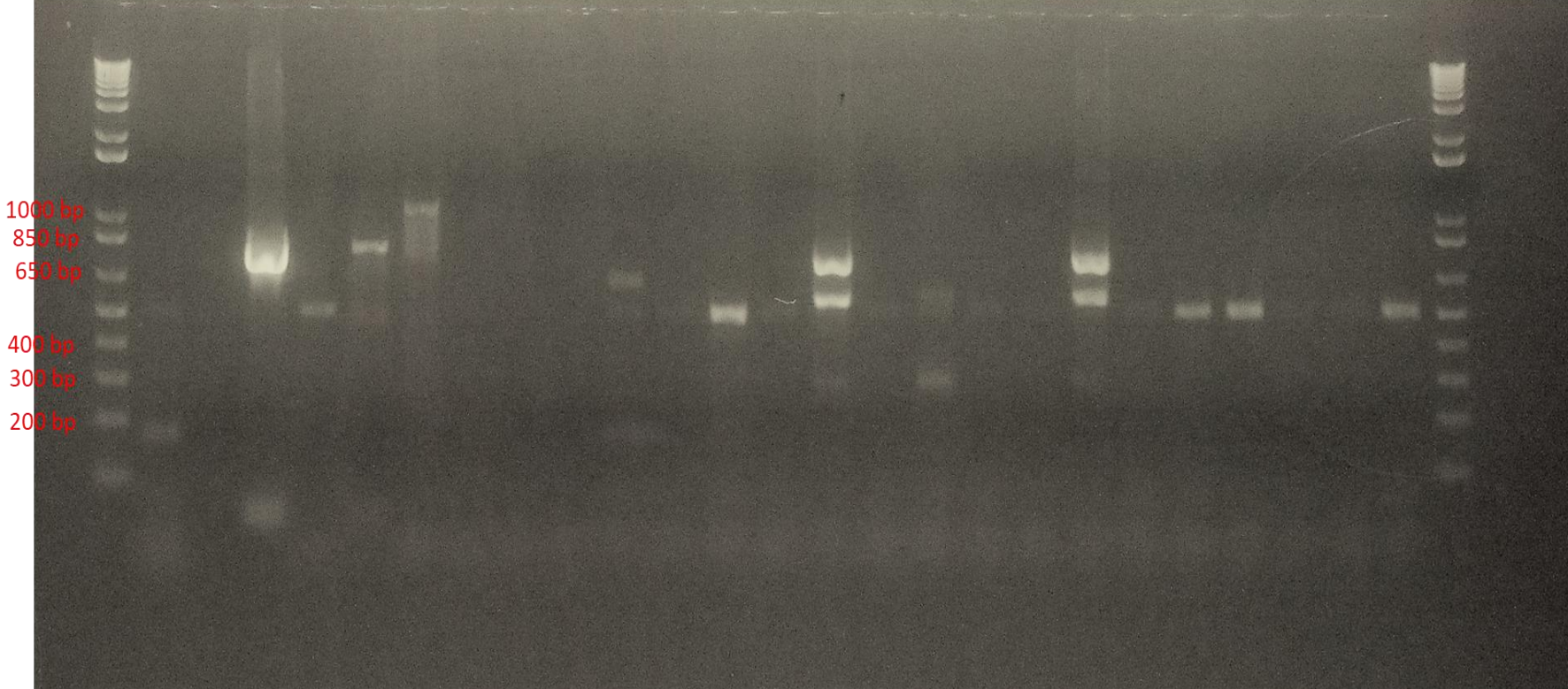


Figure 1: Exemple de PCR pour le gène PAH-RHD dans les bactéries isolées d'un sol contaminé

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23

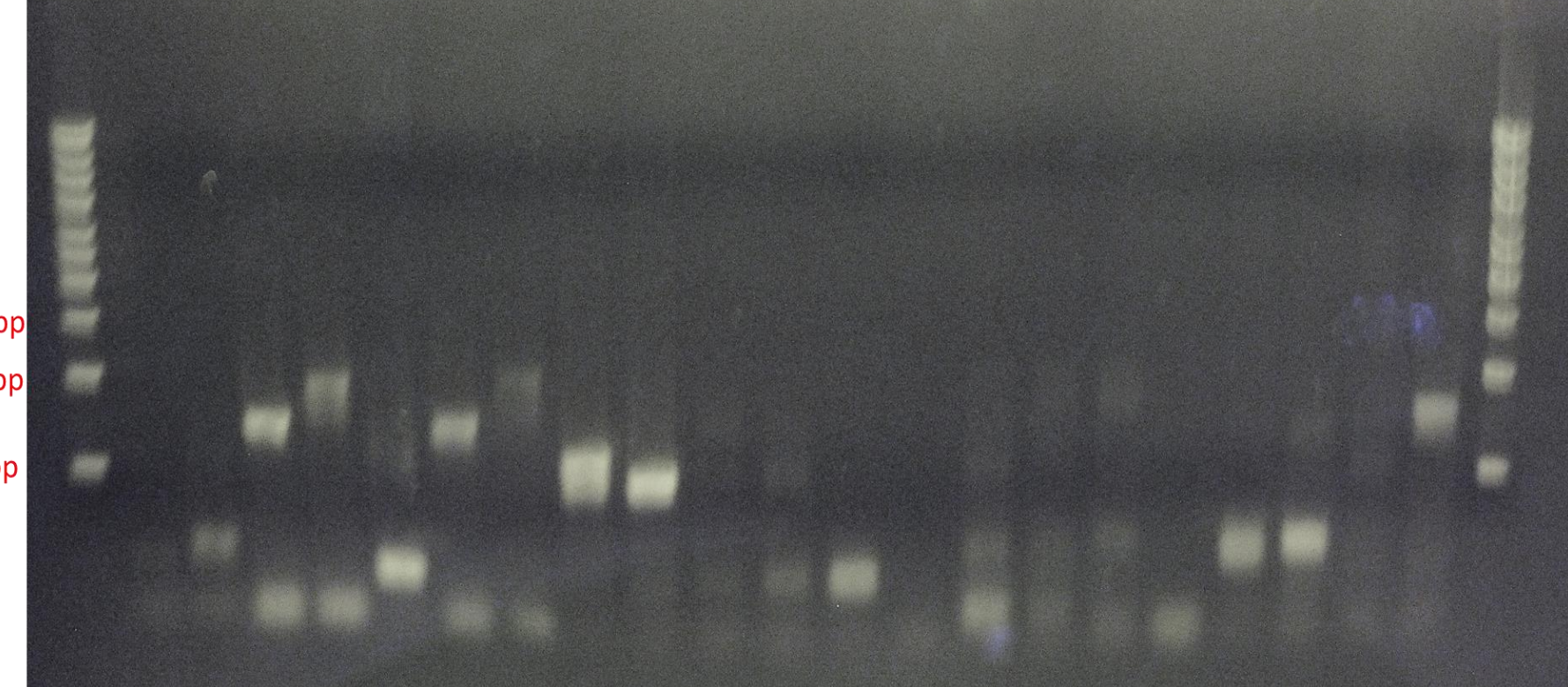


Figure 2: Exemple de PCR pour le gène ArsC dans les bactéries isolées d'un sol contaminé

Cadmium (Cd)			
Identification échantillon	Quantité de métaux initiale (mg/kg)	Quantité de métaux finale (mg/kg)	différence %
A: moutarde seule	6,6	3	54,5
C: moutarde + composte BRF	6,6	0,9	86,4
E1: moutarde+ bactérie 1A1	6,6	4,1	37,9
E2: moutarde+bactérie 6	6,6	3	54,5
E3: moutarde+composte de BRF+1A1	6,6	2,2	66,7
E4: moutarde+composte BRF+ #6	6,6	2,3	65,2

Zinc (Zn)			
Identification échantillon	Quantité de métaux initiale (mg/kg)	Quantité de métaux finale (mg/kg)	différence %
A: moutarde seule	1180	919	22,1
C: moutarde + composte BRF	1180	273	76,9
E1: moutarde+ bactérie 1A1	1180	1240	-5,1
E2: moutarde+bactérie 6	1180	1010	14,4
E3: moutarde+composte de BRF+1A1	1180	1090	7,6
E4: moutarde+composte BRF+ #6	1180	787	33,3

Plomb (Pb)			
Identification échantillon	Quantité de métaux initiale (mg/kg)	Quantité de métaux finale (mg/kg)	différence %
A: moutarde seule	289	405	-40,1
C: moutarde + composte BRF	289	123	57,4
E1: moutarde+ bactérie 1A1	289	289	0,0
E2: moutarde+bactérie 6	289	369	-27,7
E3: moutarde+composte de BRF+1A1	289	189	34,6
E4: moutarde+composte BRF+ #6	289	190	34,3

Arsenic (As)			
Identification échantillon	Quantité de métaux initiale (mg/kg)	Quantité de métaux finale (mg/kg)	différence %
A: moutarde seule	6,5	5	23,1
C: moutarde + composte BRF	6,5	5	23,1
E1: moutarde+ bactérie 1A1	6,5	5	23,1
E2: moutarde+bactérie 6	6,5	5	23,1
E3: moutarde+composte de BRF+1A1	6,5	5	23,1
E4: moutarde+composte BRF+ #6	6,5	5	23,1

Tableau 1: Quantité de métaux retrouvée avant et après traitement des sols (été 2017)

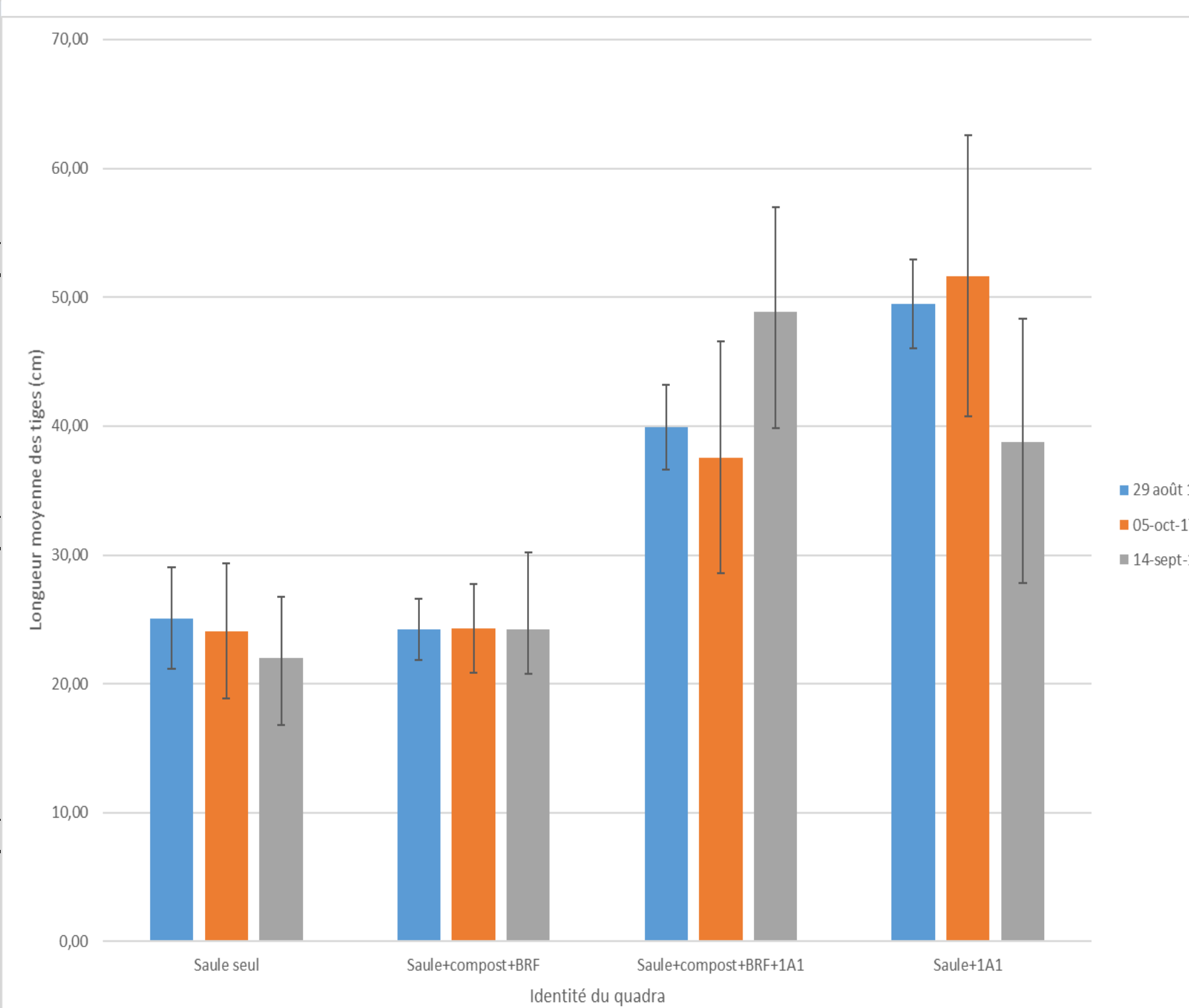


Figure 3: Croissance des plants de saules sous différentes conditions (été 2017)

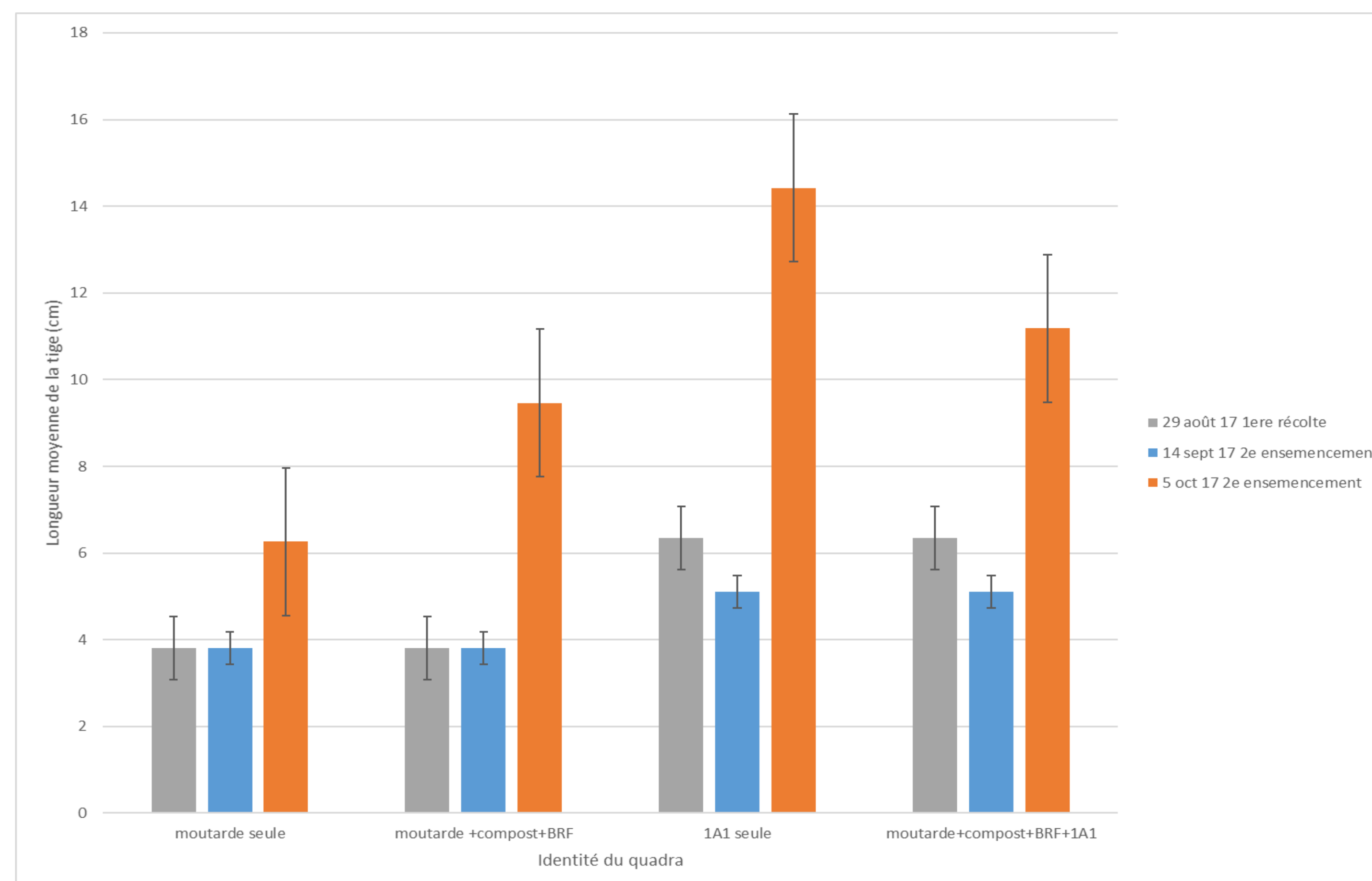


Figure 4: Croissance des plants de moutarde durant l'été selon différentes conditions. Notez que deux ensemencements ont été effectués au cours de l'été

4- Analyse

Notre analyse génétique montre que nos bactéries contiennent certains gènes de résistance. En résumé, nous avons trouvé dans nos souches bactériennes isolées de la surface du sol (série A) et à 15 cm de profondeur (série B) les gènes de résistance aux métaux ArsC, ArsB, CzcA, CnrA3, CzcABC et le gène PAH-RHD pour les hydrocarbures (figures 1 et 2)

Suite à ces résultats, nous avons choisi la bactérie 1A1 pour débiter des tests sur le terrain. Cette bactérie lorsqu'associée avec du saule, a affiché une croissance de 1,6 fois plus que le contrôle. Pour la moutarde, cette augmentation a été de 2,3 ($p < 0,05$) (figures 3 et 4). À la fin de l'expérience, nous avons eu une diminution de 23 % des niveaux initiaux d'arsenic dans le sol, de 34,6 % pour le plomb, de 7,6 % pour le zinc et de 66,7 % pour le cadmium avec la moutarde comme plante hyperaccumulatrice (tableau 1). Ceci démontre le potentiel de nos bactéries à aider les plantes à décontaminer efficacement le sol tout en stimulant leur croissance.

5-Conclusion

Les résultats obtenus démontrent le potentiel de nos bactéries à aider les plantes à décontaminer efficacement le sol. D'autres expériences seront effectuées afin de confirmer ces résultats pour ainsi développer une solution écologique et efficace au problème de contamination des sols.

6- Références

- Nicolas J. Bouskill, Elliott P. Barnhart, Tamara S. Galloway, Richard D. Handy and Timothy E. Ford : Quantification of changing *Pseudomonas aeruginosa* sodA, htpX and mt gene abundance in response to trace metal toxicity: a potential *in situ* biomarker of environmental health. *FEMS Microbiol Ecol* 60 (2007) 276–286.
- Sangeeta Choudhary and Pinaki Sar. Real-time PCR based analysis of metal resistance genes in metal resistant *Pseudomonas aeruginosa* strain J007. *J. Basic Microbiol.* (2015), 55 : 1–10.

7- Remerciements et contact

Nous tenons à remercier notre partenaire, le centre horticole Dumoulin, le Collège Montmorency, le CRSNG et le FRQNT pour leur support financier.

Courriel: ssachetelli@cmontmorency.qc.ca.

Site Web: <https://www.cmontmorency.qc.ca/college/la-recherche-au-college/recherches-en-cours/>