

Toxicité du cuivre chez le Bouleau Blanc (*Betula papyrifera*) : analyse de l'expression des gènes.

Auteurs :

- Chanel L.Djeukam, B.Sc., Biologie Biomédicale, cdjeukam@laurentian.ca
- K.K.Nkongolo, knkongolo@laurentian.ca

INTRODUCTION

le cuivre est l'un des métaux les plus répandus dans les sols de la région du Grand Sudbury au Nord de l'Ontario (Canada) en raison des émissions venant de nombreuses fonderies présentes dans cette région. Ce métal est essentiel pour la croissance des plantes en tant que microélément : lorsque sa concentration est légèrement supérieure à une valeur optimale (< 201 partie par million), il peut être très toxique et entraver de nombreux processus métaboliques chez une grande variété de plantes (Cambrolle, Garcia, Figuero et Cantos, 2015).

Des études ont montré que le bouleau blanc (*Betula papyrifera*) est très sensible aux changements du pH et à la contamination par les métaux (McCall, Gunn et Struik, 1995). L'étude de Kirkey, Matthews et Ryser (2012) a montré que cette espèce est assez résistante à la contamination par les métaux (surtout le nickel et le cuivre) dans la région du Grand Sudbury, en raison de son exposition pendant plusieurs années à ces éléments.

Les objectifs principaux de cette étude sont 1) de déterminer le niveau de toxicité du cuivre chez le Bouleau Blanc (*Betula papyrifera*) et 2) d'évaluer la régulation des gènes associés à la résistance au cuivre chez cette espèce.

METHODE

Chambre de croissance : traitement au cuivre

Des graines de *Betula papyrifera* ont été collectées au site de recherche de l'Université Laurentienne et gardées à 4°C. La germination a eu lieu sur des papiers filtre mouillés dans les contenants spéciaux développés sur mesure et placés à 27°C. Les plantules ont été maintenues dans une chambre de croissance pendant cinq mois. Afin de procéder à l'évaluation de la toxicité du cuivre chez le Bouleau blanc, 49 plantes ont été traitées sous des conditions de température et d'humidité contrôlées. Différentes concentrations de Cu²⁺ sous forme de sulfate de cuivre (CuSO₄) dissoute dans de l'eau (pH=7) et représentant les quantités de cuivre trouvées sur le site contaminé étaient administrées aux plantes. Soient 0 mg/kg correspondant au traitement contrôle, 9,16 mg/kg de CuSO₄ correspondant à la quantité biodisponible de cuivre sur le site, 1,312 mg/kg qui est l'équivalent de la quantité totale de cuivre retrouvé sur le site, et 3,936 mg/kg qui est trois fois la quantité totale de cuivre dans les sols du Grand Sudbury. Chacun de ces traitements étaient répétés 10 fois dans un dispositif complètement aléatoire pour éviter de biaiser les résultats. L'évaluation des dommages aux feuilles était faite tous les deux jours et était basée sur une échelle de 1 à 9 (1= aucun dommage et 9= plante morte) comme décrite par Theriault, Michael & Nkongolo, (2016)

Régulation des gènes

Les feuilles et les racines des plantes ont été récoltées à la fin de la période expérimentale (soit 7 jours après les traitements) et conservés à -20°C. L'extraction de l'Acide Ribonucléique (ARN) total des feuilles a été réalisée selon le protocole de Chang, Puryear et Caimey (1993) avec quelques modifications. Des gènes associés au cuivre chez d'autres espèces ont été sélectionnés et testés pour leur expression chez *B. papyrifera* en utilisant la technique d'amplification quantitative en chaîne par la polymérase après transcription inverse (qRT-PCR).

Analyses statistiques

Les données ont été analysées en utilisant la version 20 du logiciel SPSS pour Windows : ces données ont subies une transformation logarithmique (log10) pour parvenir à une distribution normale. L'analyse des variances (ANOVA) suivie d'une analyse de comparaison multiple de Tukey ont été effectuées afin de déterminer les différences significatives entre les moyennes.

RESULTATS

Toxicité du cuivre

D'après l'évaluation du taux de dommage aux plantes, aucune toxicité n'a été observée pour la concentration de 9.16 mg/kg (quantité de Cu biodisponible dans le site naturel) tout au long de l'expérience (Fig.1). Des différences significatives ($P \leq 0.05$) ont été observées entre les doses de 9.16 mg/kg et 1,312 mg/kg tout au long de l'expérience. Ce dernier traitement représente le niveau total de Cu dans le sol du Grand Sudbury soit 143 fois la quantité biodisponible de Cu. La teneur totale moyenne de Cu dans le sol Canadien est de 20 mg/kg et dans la RGS cette teneur est supérieure à 1000 mg/kg (Le conseil canadien des ministres de l'environnement, 1997). La plus haute dose de 3,929 mg/kg a entraîné des dommages sévères sur les plantes deux jours après le traitement et presque toutes les plantes étaient mortes dans les quatre jours suivant l'administration du Cu. Il y avait une croissance réduite en fonction de l'augmentation de la dose du Cu. Il n'y a eu aucune différence significative ($P \geq 0.05$) dans la croissance des plantes entre les traitements 1,312mg/kg et 3,936 mg/kg ni entre le traitement 9.16 mg/kg et le contrôle (Fig.2).

DISCUSSION-CONCLUSION

La toxicité des métaux provoque des dommages visuels chez les plantes incluant la réduction de la croissance des plantes et le changement de couleur des feuilles. Les activités minières conduisent souvent à des problèmes de toxicité. Plusieurs plantes sont gravement affectées par les concentrations élevées de métaux toxiques, mais d'autres sont capables de faire face à la contamination par les métaux lourds en limitant les effets. Des études récentes ont montrées que *B.papyrifera* est résistant à un niveau élevé de métal et cette espèce est prédominante dans les régions environnantes des fonderies (Kirkey, Matthews et Ryser, 2012).

Les expériences contrôlées en chambre de croissance ont confirmé que *B. papyrifera* est résistant à des doses de Cu similaires aux niveaux biodisponible et total dans les sites contaminés.

MOTS CLES : toxicité du cuivre ; contamination par les métaux ; régulation des gènes ; résistance au cuivre ; Grand Sudbury.

BIBLIOGRAPHIE SELECTIVE

- Cambrolle, J., Garcia, J.L., Figuero, M.E., Cantos, M. 2015. Evaluating wild grapevine tolerance to copper toxicity. *Chemosphere* 120, 171-178.
- Canadian Soil Quality Guidelines for Copper: Environmental and Human Health (1997, March). Retrieved March 23, 2016, from http://www.ccme.ca/files/Resources/supporting_scientific_documents/pn_1270_e.pdf
- Chang, S., Puryear, J., & Cairney, J. (1993). A simple and efficient method for isolating RNA from pine trees. *Plant molecular biology reporter*, 11(2), 113-116.
- Kirkey, F.M., Matthews, J., Ryser, P. 2012. Metal resistance in populations of red maple (*Acer rubrum* L.) and white birch (*Betula papyrifera* Marsh.) from a metal-contaminated region and neighbouring non-contaminated regions. *Environ. Pollut.* 164:53–58.
- McCall, J., Gunn, J., Struik, H 1995. Photo interpretive study of recovery of damaged lands near the metal smelters of Sudbury, Canada. *Water Air Soil Pollut.* 85, 847–852.
- Theriault, G., Michael, P., & Nkongolo, K. 2016. Decrypting the regulation and mechanism of nickel resistance in white birch (*Betula papyrifera*) using cross-species metal-resistance genes. *Genes & Genomics*, 1-10.

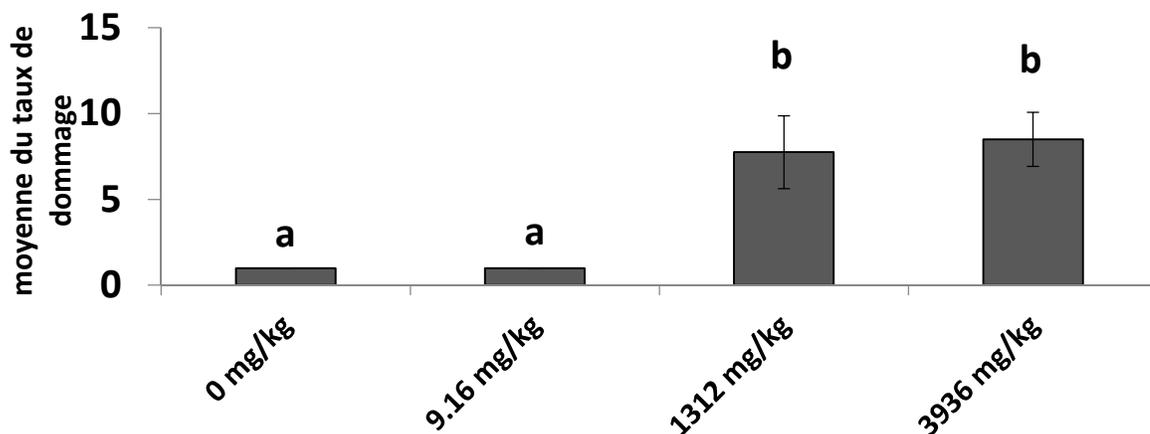


Figure 1. Taux de dommage aux plantes de bouleau blanc (*B.papyrifera*) traités avec différentes doses de cuivre dans une chambre de croissance. L'échelle de notation des dommages va de 1 (aucun dommage) à 9 (plante morte) au 7^{ème} jour après les traitements. Les moyennes avec le même indice (a ou b) ne sont pas significativement différentes d'après le test de comparaison multiple de Tukey ($P \geq 0.05$).

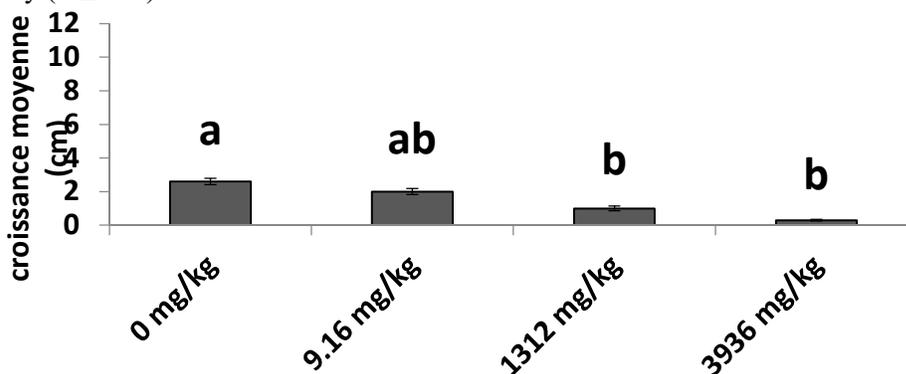


Figure 2. La croissance moyenne (après une semaine) des plantes de bouleau blanc (*B.papyrifera*) traités avec des doses différentes de cuivre, 7 jours après les traitements dans la chambre de croissance. Les moyennes avec les indices communs (a ou b) ne sont pas significativement différentes d'après le test de comparaison multiple de Tukey ($P \geq 0.05$).