

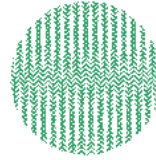


ANNEXE 1

Planches et photos de référence pour l'évaluation des pourcentages de surface foliaire nécrosée.



Institut National Agronomique Paris Grignon



INRA

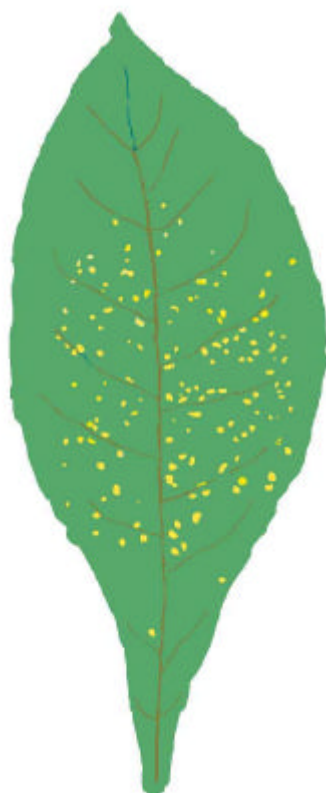
Institut National de la Recherche Agronomique

Planches et photos de référence pour l'évaluation des pourcentages de surface foliaire nécrosée.

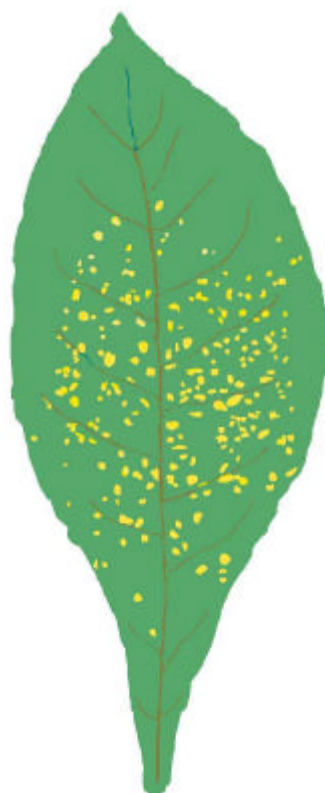
J-F Castell - septembre 2000

(photos de M-C Diamantis et J-F Castell)

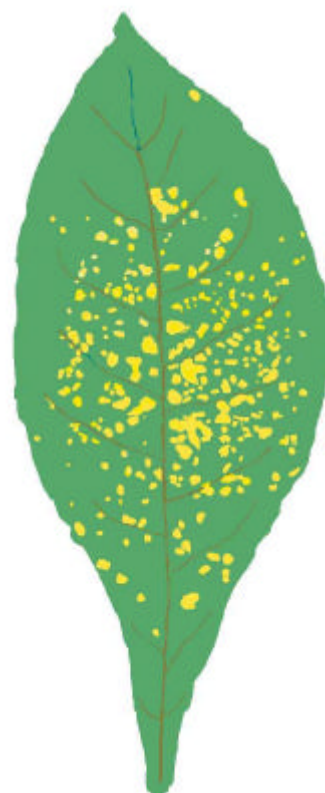
Planches de référence :



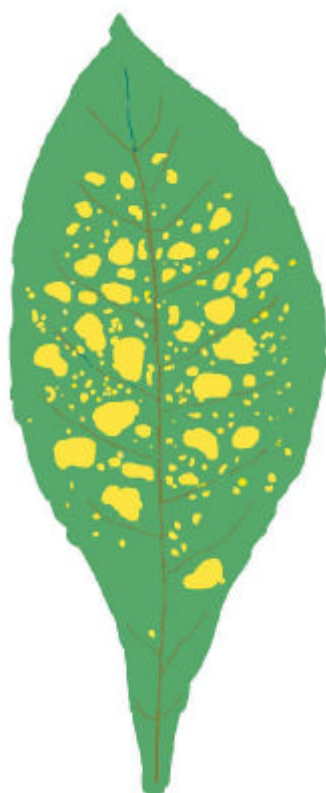
3 %



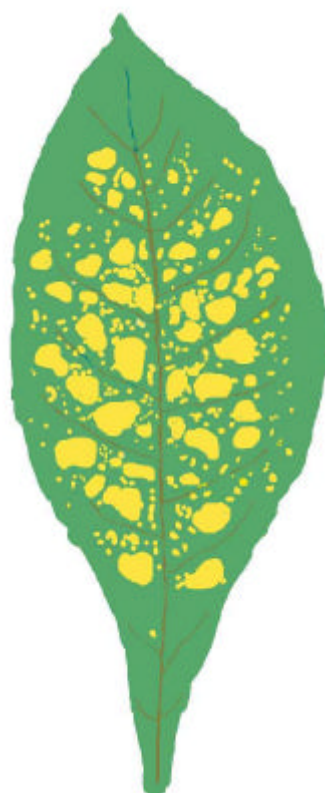
5 %



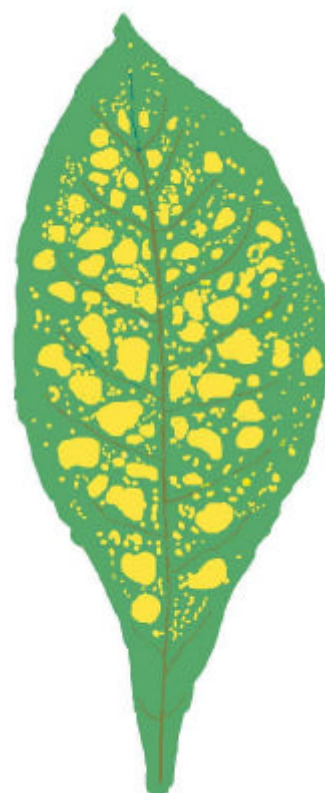
10 %



15 %



20 %



25 %

Feuilles présentant de 1 à 3 % de nécroses



1 %



1 %



1 %



1,5 %



2 %



2 %



2 %



3 %

Feuilles présentant de 3 à 10 % de nécroses



3 %



4 %



5 %



6 %



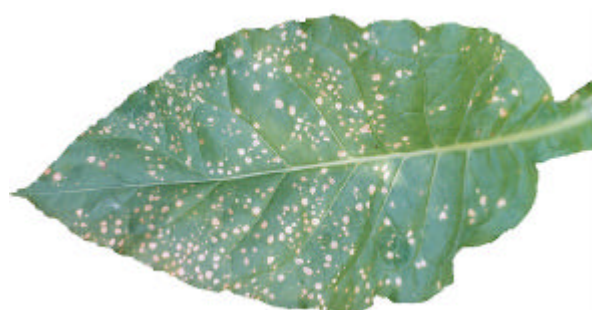
7 %



7 %



10 %



10 %

Feuilles présentant de 10 à 20 % de nécroses



12 %



12 %



13 %



16 %



16 %



17 %



17 %



18 %

Feuilles présentant de 20 à 40 % de nécroses



20 %



22 %



24 %



26 %



27 %



28 %



38 %



41 %



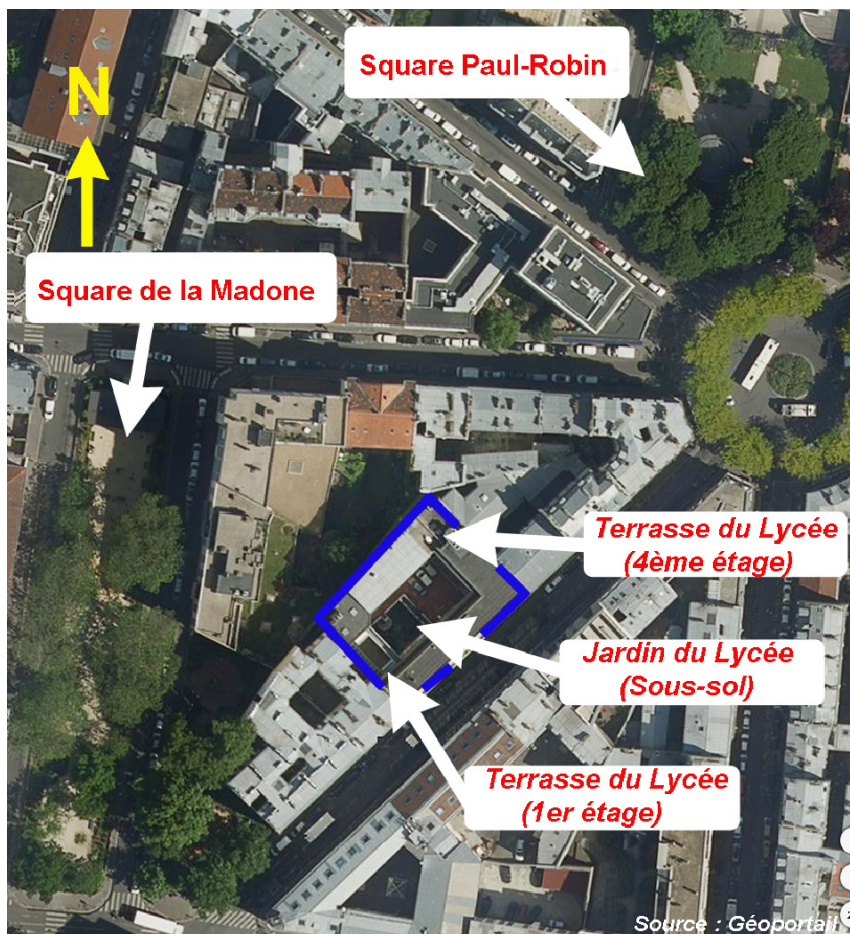
ANNEXE 2

EXPLOITATION DE L'EXPERIMENTATION A L'AIDE DE PLANTS DE TABAC UTILISES COMME BIOINDICATEURS DE LA POLLUTION A L'OZONE AUX ABORDS DU LP EDMOND ROSTAND

1. Prévisionnel de mise en place de l'expérimentation

Nous imaginions pouvoir réaliser notre expérimentation sur une durée de quatre semaines juste avant les vacances de la Toussaint. Elle n'aurait pas pu se dérouler au tout début du mois de septembre 2017 du fait d'un agenda déjà rempli pour la classe de 2 HPS et de la mise au point d'une organisation nécessaire à son déroulement. Nous aurions souhaité la réaliser du jeudi 21 septembre au jeudi 20 octobre 2017.

Nous avons également envisagé réaliser notre expérimentation avec 25 plants de façon à installer cinq biostations, constituées chacune de 3 plants Bel W3 (très sensibles à l'ozone) et de 2 plants témoins Bel B (très peu sensibles à l'ozone). Les biostations auraient été disposées comme suit (deux dans des squares à l'extérieur du lycée ; trois dans le lycée disposées sur trois niveaux : le jardin du lycée situé au sous-sol et accessible par tous, et les deux terrasses fermées du lycée situées au premier et au quatrième étage et qui sont non accessibles par les élèves) :



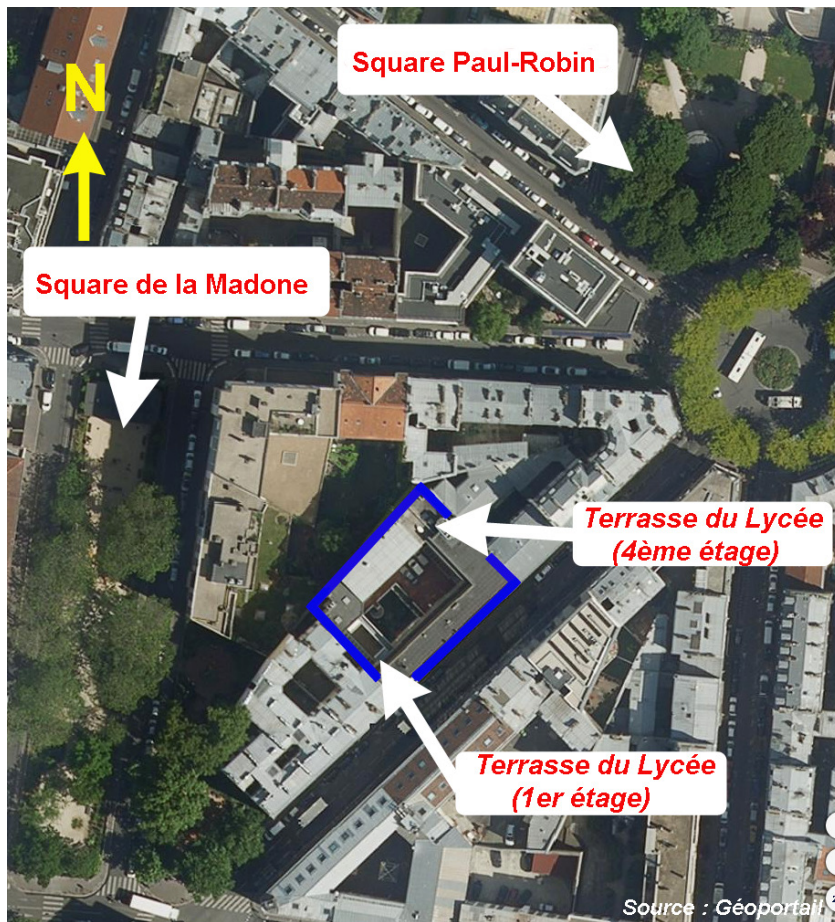
2. Démarrage effectif de l'expérimentation

Un premier lot de mise en culture de plants de tabac a été effectué par l'INRA. Malheureusement, ils n'ont pas survécus, et devinrent évidemment inexploitable. Un second lot de plants a été immédiatement mis en culture et fut livré au lycée le vendredi 17 novembre. C'est donc avec ces plants, encore très jeunes, que nous avons donc pu démarrer notre expérimentation à la date du jeudi 23 novembre.

Notre expérimentation s'est par conséquent déroulée du jeudi 23 novembre au jeudi 14 décembre sur trois semaines. Or, les moyennes des températures à Paris (matin / après-midi) étaient encore en septembre de 12,7 °C / 21,1 °C, et en octobre de 9,6 °C / 16,3 °C. Mais en novembre elles n'étaient plus que de 5,8 °C / 10,8 °C, et en décembre de 3,4 °C / 7,5 °C (source Météo France*).

On peut par conséquent considérer que nos températures de novembre-décembre 2017 étaient en moyenne de 5°C le matin et de 9°C l'après-midi. Or, la température idéale pour faire pousser du tabac se situe entre 20 et 30 °C.

Par ailleurs, nous avons prévus 5 biostations. Mais nous n'avons eut, dans les faits, qu'une possibilité d'expérimentation sur 4 biostations. Nous avons donc choisi de ne pas créer celle prévue au sous-sol dans le jardin du lycée car, des cinq, elle aurait été la moins exposée à l'ozone et a contrario la plus exposée à des déprédations (involontaires), le jardin étant constamment ouvert aux élèves. Nos biostations ont donc été disposées comme suit :



* Météo France : <http://www.meteofrance.com/climat/france>.

3. Exploitation de l'expérimentation

Passées les vacances de la Toussaint, il était devenu évident que les conditions climatiques de notre expérimentation allaient être très défavorables, et donc que les plants ne pousseraient pas, ou très mal, et que nous aurions donc très peu de mesures à effectuer ; par conséquent, que nous ne pourrions pas tirer beaucoup d'indications quant à la pollution de l'air par l'ozone aux abords du lycée.

Par conséquent, nous n'avons plus seulement mené l'expérimentation en ce sens 1) (obtenir des indications chiffrées sur la pollution de l'air par l'ozone) mais aussi dans celui de 2) faire découvrir par les élèves quelles étaient les erreurs à ne pas commettre et les améliorations à apporter dans l'optique de réaliser une seconde expérimentation dans les meilleures conditions possibles aux mois d'avril ou de mai 2018.

Pour ce faire, nous avons réalisé notre expérimentation dans les conditions les plus simples qui soient, c'est-à-dire en constituant chacune de nos quatre biostations : d'une simple barquette dans laquelle sont déposés cinq plants (trois Bel W3 numérotés A, B, C ou D en fonction de l'emplacement de la biostation, et deux Bel B numérotés O, de 1 à 8), selon le modèle suivant :

Très sensibles à l'ozone

| | | |
|--------|--------|--------|
| Bel W3 | Bel W3 | Bel W3 |
|--------|--------|--------|

Très peu sensibles à l'ozone

| | |
|-------|-------|
| Bel B | Bel B |
|-------|-------|

| | | |
|----------------|-------------|----------------|
| A1 (Bel W3) | A2 (Bel W3) | A3 (Bel W3) |
| O1 (Bel B) | | O2 (Bel B) |



BIOSTATION A : Terrasse du 1^{er} étage du Lycée
(couleur bleu)

| | | |
|----------------|-------------|----------------|
| B1 (Bel W3) | B2 (Bel W3) | B3 (Bel W3) |
| O3 (Bel B) | | O4 (Bel B) |



BIOSTATION B : Terrasse du 4^{ème} étage du Lycée
(couleur jaune)

| | | |
|----------------|-------------|----------------|
| C1 (Bel W3) | C2 (Bel W3) | C3 (Bel W3) |
| O5 (Bel B) | | O6 (Bel B) |



BIOSTATION C : Square de la Madone
(couleur orange)

| | | |
|----------------|-------------|----------------|
| D1 (Bel W3) | D2 (Bel W3) | D3 (Bel W3) |
| O7 (Bel B) | | O8 (Bel B) |



BIOSTATION D : Square Paul Robin
(couleur violet)

4. Résultats de l'expérimentation

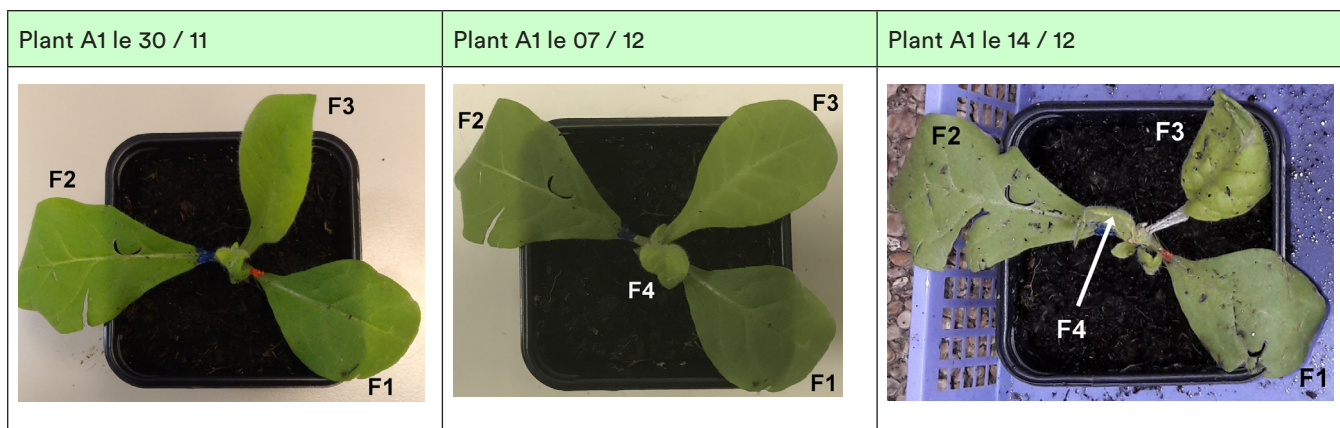
5. Indications chiffrées sur la pollution à l'ozone

Nous partons du principe que les plants sont exempts de nécroses, et nous avons donc un état initial équivalent à 0 % de nécrose lorsque nous les disposons pour la première fois dans les biostations.

Presque toutes les feuilles les plus anciennes (F1, F2 et F3) des plants ont commencées à tomber ou à jaunir lors du relevé du 14 décembre (nous sommes alors à une semaine du début de l'hiver). Ce qui nous a décidé à arrêter l'expérimentation à cette date.

Les relevés ne donnent que peu d'indications car pour aucun des plants nous ne dépassons les 5-10 % de nécroses. Voici ci-dessous à titre d'exemple le tableau de relevé du plant A1 (Biostation A placée sur la terrasse du 1er étage du lycée) et ses photographies prises à l'issue de chaque relevé :

| | | | | | |
|--|-------------------|---|----------------------------|--|----------------------------|
| EQUIPE : | | | | | |
| TABLEAU DE RELEVÉ DES POURCENTAGES DES TACHES DE NECROSE | | | | | |
| BIOSTATION n° A | | | PLAN DE TABAC BEL W3 n° 1 | | |
| Feuille n° | Couleur du vernis | Jour de dépôt et de relevé pour les mesures | | | |
| | | Dépôt des plants (jeudi 23/11) | Semaine 1 (jeudi 30/11) | Semaine 2 (jeudi 07/12) | Semaine 3 (jeudi 14/12) |
| F1 | Rouge | 0 % | 3 % | 3 % | S |
| F2 | Bleu | 0 % | 0 % | 3 % | S |
| F3 | Blanc | 0 % | 0 % | 0 % | S |
| F4 | Jaune | | J | J | J |
| F5 | | | | | |
| F6 | | | | | |
| <i>J : jeune : la feuille est trop jeune pour pouvoir faire l'objet de mesure.</i> <i>X % : le pourcentage de nécrose mesuré selon la Carte de densité des taches</i> | | | | <i>S : sénescence ou jaunissante.</i> <i>† : morte : la feuille est entièrement nécrosée ou est tombée.</i> | |



Exploitation des résultats

Chaque semaine, après chaque relevé, il faut calculer le pourcentage moyen de nécroses (PMN) de chaque biostation. Il se calcule ainsi :

PMN (Biostation n° ...) = $D = \text{somme des pourcentages observés sur les feuilles}$

F = nombre de feuilles prises en compte

(on arrondi ensuite à la décimale)

La valeur du PNM de la biostation permet de déduire la qualité de l'air environnant grâce au tableau étalon suivant :

| Valeur du PNM | Indice de la qualité de l'air | Impact correspondant de l'ozone sur Bel W3 |
|--------------------|-------------------------------|--|
| 0 % | 0 | Nul |
| Entre 0 % et 10 % | 1 | Faible |
| Entre 10 % et 25 % | 2 | Moyen |
| Entre 25 % et 50 % | 3 | Fort |
| Au-delà de 50 % | 4 | Très fort (très rare) |

Nous effectuons donc les calculs des PNM, donnant les résultats suivants :

- ● **Semaine 1** : aucune nécrose n'a été relevée dans les biostations.

- ● **Semaine 2**

PMN (Biostation A) = $\frac{3 + 3 + 1}{4} = \frac{7}{4} = 2,3 = 2$ impact de l'ozone moyen 3 3

PMN (Biostation B) = $\frac{3}{3} = 3$ impact de l'ozone fort 1

PMN (Biostation C) = $\frac{3}{3} = 3$ impact de l'ozone fort 1

PMN (Biostation D) = aucune nécrose décelée.

- ● **Semaine 3**

PMN (Biostation A) = $\frac{3 + 3 + 3 + 3}{4} = \frac{12}{4} = 2,5$ impact de l'ozone moyen à fort 4

PMN (Biostation B) = $\frac{3}{3} = 3$ impact de l'ozone fort 1

PMN (Biostation C) = $\frac{1 + 1}{2} = 1$ impact de l'ozone faible 2

PMN (Biostation D) = aucune nécrose décelée.

Bien sûr, nous n'avons pu obtenir que très peu de pourcentages de nécroses car très peu de feuilles en ont montré. De plus, nos estimations de pourcentages ont peut-être été approximatives du fait de notre manque d'expérience (notre œil n'étant pas encore celui d'un expert). Il n'en reste pas loin que nos résultats montrent une pollution à l'ozone certaine.

6. Découverte des améliorations à apporter à l'expérimentation

L'expérimentation menée sur trois semaines a permis à la classe de découvrir qu'elles étaient les erreurs à ne pas commettre et les améliorations à apporter, ceci dans l'optique de réaliser une seconde expérimentation. Les voici énumérés ci-dessous :

- Nous avons constaté que la technique préconisée par l'INRA pour reconnaître les feuilles, à savoir l'utilisation de fils de laine de couleurs différentes enroulés autour des tiges, ne pouvait être employée dans notre situation car les feuilles des plants étaient beaucoup trop petites et fragiles. Nous avons donc utilisé des vernis à ongles de couleurs variées dont nous apposons une goutte sur la tige. Il s'est avéré que le vernis n'a eut aucun effet visible sur la physiologie de la plante car les feuilles marquées ont continuées de se développer.
- Nous avons constaté que la surface supérieure des feuilles portaient souvent des petits morceaux de terre et parfois d'autres petits débris qui empêchaient leur bon examen visuel car pouvant être confondus avec des tâches de nécrose. Nous nous sommes donc équipés de pinceaux de maquillage à poils souples pour débarrasser sans les abîmer les surfaces foliaires.
- Nous avons constaté que l'examen visuel des feuilles n'était pas aisée à l'œil nu. Nous nous sommes donc munis de loupes de lecture grande taille à poignée grossissant deux fois. Mais des loupes de lecture mains libres, plate et de forme

rectangulaire adaptée à la lecture de livres, et grossissant quatre fois, seraient plus appropriées (mais plus chères).

- j. Nous avons constaté que certaines feuilles de **plants disposés dans les squares** étaient mangées par des animaux. Nous avons, entre les semaines 2 et 3, recouvert les biostations des squares de cageots renversés afin de les protéger de la petite faune (oiseaux, souris).



C a g e o t
r e n v e r s é
disposé sur
la biostation
D (square
Paul-Robin)

Cela ne fut pas efficace. Nous avons en effet découvert sur un plant l'animal responsable des destruction : la limace des jardins, animal qui prolifère durant les automnes pluvieux.



Limace des jardin,
ou « loche noire »
(*Arion hortensis*)
découverte sur
la feuille de l'un
des plants de la
biostation D (square
Paul-Robin)

Nous en avons déduit que, pour la seconde expérimentation à venir, les biostations devront être disposées hors-sol, de préférence sur quatre pieds lisses, très fins et longs de façon à ce que les souris ou les limaces ne puissent les escalader.

Nous avons pensé, pour le cas où des limaces auraient réussi à escalader les pieds, à disposer au dessus de ceux-ci, et tout autour du plateau soutenant les plants, un ruban en cuivre (le cuivre est un répulsif à limace) d'au moins 5 cm de large.

Nous avons également pensé à protéger les plants en surélévation des oiseaux, car ceux-ci pourraient s'y poser, et soit abîmer les plants avec leur corps, soit éventuellement les picorer. Une sorte de cage grillagée pourrait y remédier. La maille du grillage devrait être suffisamment fine pour ne pas laisser pénétrer de méso (limaces) ou petit animal (souris, passereaux), mais suffisamment large pour que l'air puisse circuler en flux continu au milieu des plants. Notons que le grillage aurait pour fonctions incidente de procurer de l'ombre pour les plants en cas d'ensoleillement trop important.



Organisation d'une biostation établie à partir de nos déductions, destinée à être implantée en zone naturelle ou semi-naturelle tels des squares ou jardins.

Source : <http://biosurveillance-air.info/index.php/biosurveillance-de-l-ozone/biosurveillance-par-les-tabacs-bel-w3-et-bel-b/7-realiser-une-biostation-pour-la-biosurveillance-de-l-ozone-par-les-tabacs>

11. e) Nous avons dès le début décidé d'instaurer une séance de photographie haute définition de chacun des plants après chaque relevé (donc au cours des jeudi 30/11, 07/12 et 14/12), photographies que nous avons ensuite archivées. Ceci afin de nous donner la possibilité de pouvoir vérifier après coup la validité des relevés effectués à l'œil nu.

Nous avons en parallèle réalisé diverses photographies des biostations in situ, ainsi que des séances de travail avec les élèves, afin d'alimenter un éventuel PowerPoint de présentation de notre travail durant le colloque inter-établissements du 12 avril 2018.

12. f) Cette première expérimentation nous a permis d'apprendre à reconnaître les tâches de nécrose, même si elles étaient peu nombreuses.



On reconnaît les tâches de nécrose à leurs formes plus ou moins arrondies, le fait qu'elles entament la surface foliaire, et à leur couleur blanche au début (moitié gauche de la photographie) puis présentant, avec le temps, un liséré marron foncé et un centre beige clair (moitié droite de la photographie)

Source : <http://fracademic.com/dic.nsf/frwiki/1471569>



Nous avons laissé les biostations sur la terrasse du 1er étage du lycée jusqu'au 11/01/18, soit quatre semaines après la fin de l'expérimentation. Seuls trois plants ont survécus : le A1, le A3 et le O1.

On remarque que les feuilles F1, F2 et F3 du plant A1 ont interrompus leur sénescence, sans doute du fait de températures extérieures particulièrement clémentes durant ces quatre semaines.

Nous pouvons apercevoir sur un agrandissement d'une photographie haute définition de la feuille F1 du plant A1 fait le jeudi 11/01/18 (ci-contre) deux grandes plages en creux transparentes dont les contours sont irréguliers (entourés en rouge).

Nous les interprétons comme étant des tâches de nécrose dues à la pollution de l'air par l'ozone. La feuille ayant perdue la moitié de sa surface, il est difficile d'en estimer le pourcentage de nécrose, mais il semble être bien supérieur aux 3 % constatés le jeudi 07/12 sur cette même feuille.



Nous pouvons apercevoir sur un agrandissement d'une photographie haute définition de la feuille F1 du plant A3 fait le jeudi 11/01/18 (ci-contre) deux petits creux décolorés, circulaires et au contour assez réguliers (entourés en rouge).

Nous les interprétons également comme étant des tâches de nécrose dues à la pollution de l'air par l'ozone.

13.g) Enfin, nous avons constaté dans les biostations installées dans le lycée que les plants Bel W3 (sensibles à l'ozone) se développaient beaucoup moins bien que les plants Bel B (très peu sensibles à l'ozone), comme nous pouvons le constater sur le lot de photographies ci-dessous reconstituant la biostation B :

Bel W3



Bel B



Biostation B à la date du 30/11 : on remarque nettement que les feuilles des plants Bel W3 (première ligne, en haut : B1, B2 et B3) ne sont pas aussi développées que les feuilles des plants Bel B (seconde ligne, en bas : O3 et O4).

Etant donné que les cinq plants d'une même biostation étaient placés dans les mêmes conditions extérieures (même température, même humidité), nous en avons déduit que cette différence de développement devait provenir de conditions intérieures aux plants : en d'autres termes, provenir de leur différences génétiques.

En conclusion, les élèves vont pouvoir réaliser un protocole pour la seconde expérimentation prévue au mois de mai 2018.



ANNEXE 3

Biosurveillance végétale de la qualité de l'air

Biosurveillance végétale de la qualité de l'air

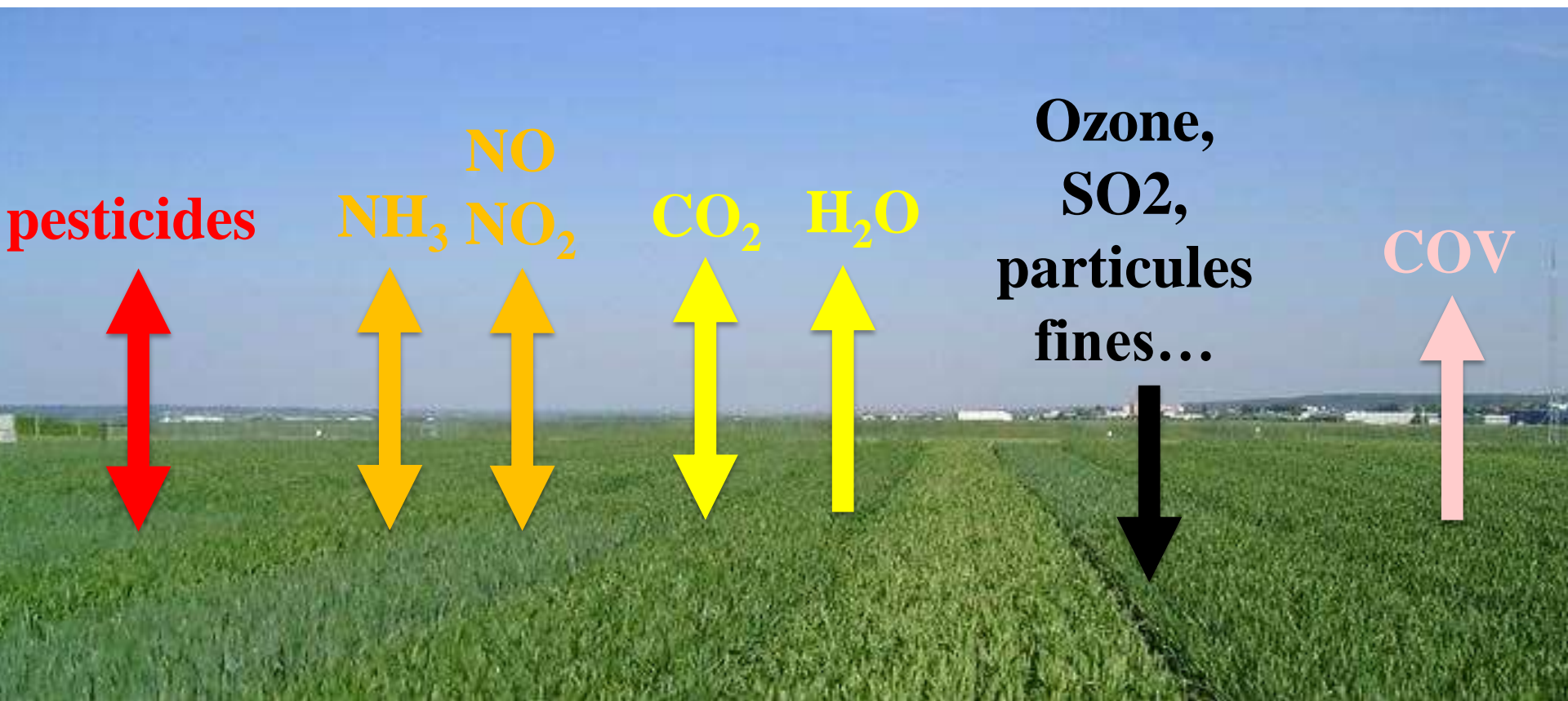


Jean-François Castell

UMR ECOSYS

INRA-AgroParisTech

Les échanges végétation-atmosphère



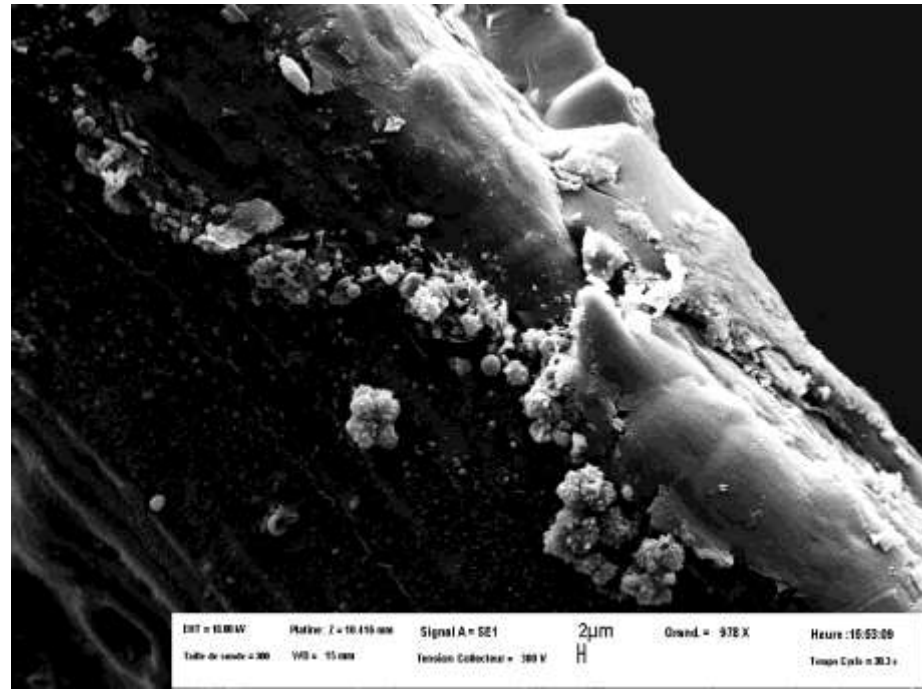
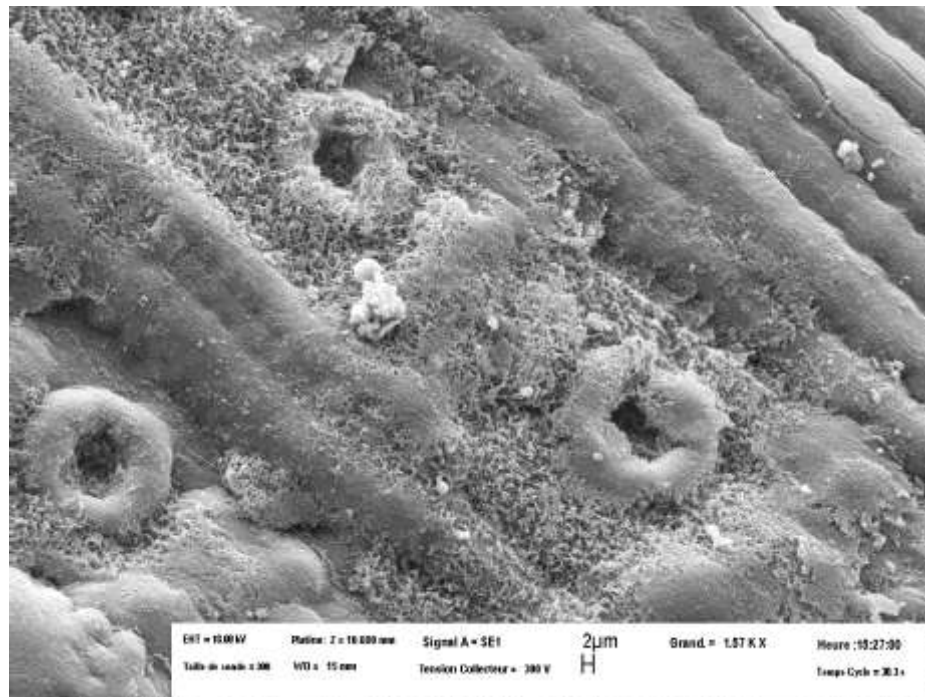
Végétation : des surfaces d'échange



Cultures :
3 à 6 m² de feuilles pour 1m² de sol

Forêts :
jusqu'à 20 m² de feuilles pour 1m² de sol

Surfaces foliaires : de bons pièges à poussières



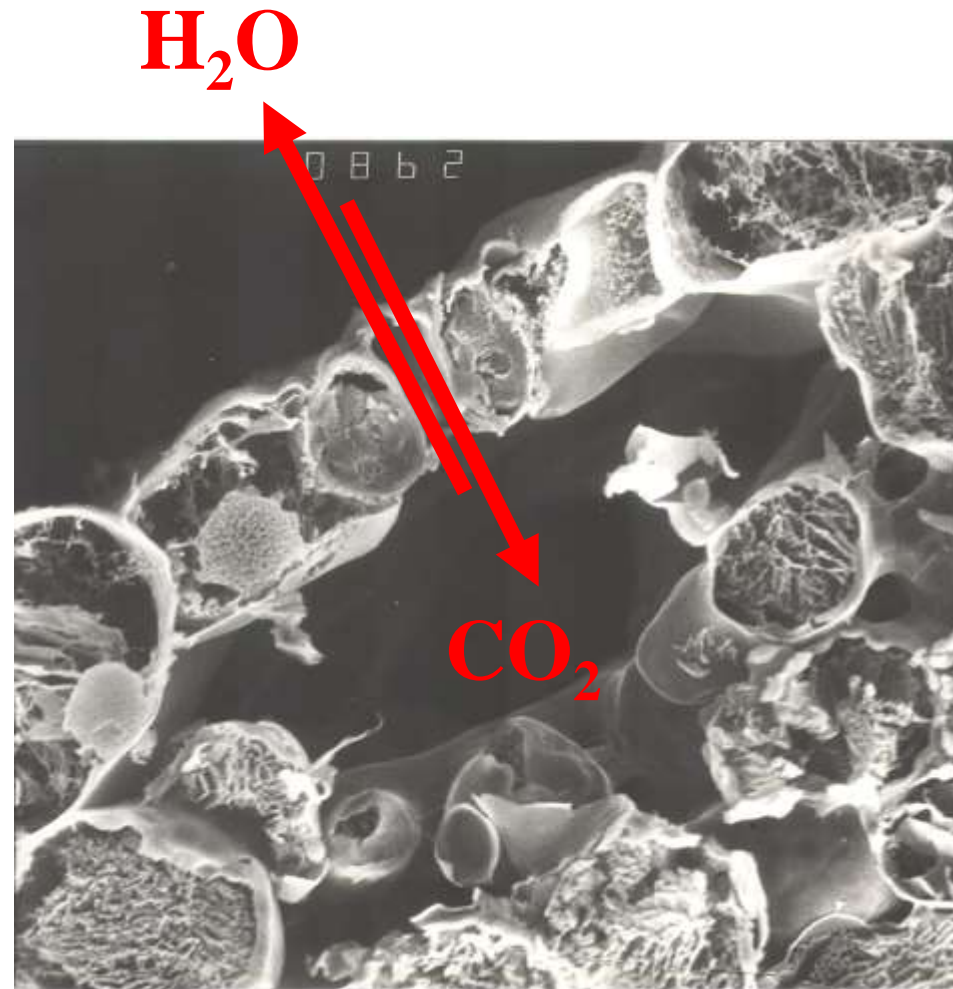
Dépôts particuliers à la surface d'aiguilles de pin sylvestre (MEB)

C. ROSE (INRA - Nancy)

Les stomates, organes de régulation des échanges entre végétation et atmosphère

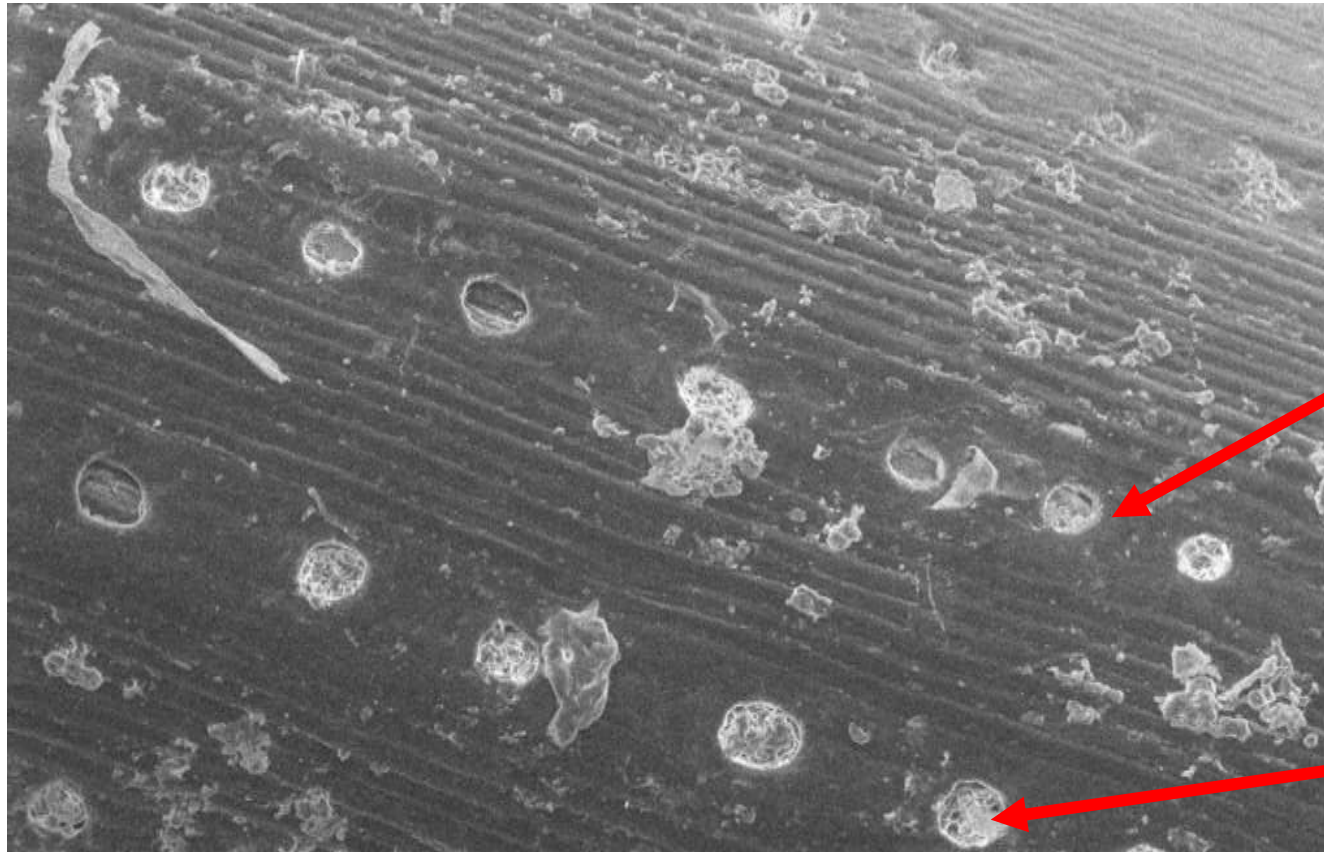


Epiderme d'Erigeron



Cliché : D. Laffray – UPEC

Les stomates, porte d'entrée des polluants dans la plante



Stomates en ligne

Dépôts

EHT = 15.00 kV
Taille de sonde = 350

WD = 9 mm
Platine: Z = 33.556 mm

Signal A = VPSE
Grand. = 497 X

20µm
H

Date :10 Déc 2004
Heure :13:02:10

CLICHE MEB X.LAFFRAY
INRA NANCY (FR)

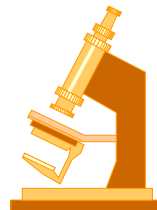
La BIOSURVEILLANCE consiste à mettre en évidence une altération de l'environnement (une pollution, par exemple) à travers les réponses des organismes qui y vivent.



Canari « détecteur » de monoxyde de carbone dans les mines au début du 20e siècle

Ces réponses peuvent être :

- **invisibles** à l'œil nu ou sans traitement biochimique :
BIOMARQUEURS



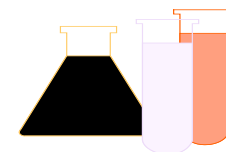
- **visibles** à l'échelle de l'organisme entier :
BIOINDICATEURS



- **visibles** à l'échelle des populations, communautés...
BIOINTEGRATEURS



- **nuls** : on ne mesure que l'accumulation des composés dans les tissus végétaux :
BIOACCUMULATEURS



Bioindicateurs végétaux de la qualité de l'air :

Bio-indication passive (*plant detectors*): observations sur des végétaux naturellement présents dans l'environnement, et dont on connaît *a priori* la sensibilité au polluant. Des atlas permettent d'identifier le polluant responsable des symptômes observés.



Impacts SO₂ sur Erable



Impacts O₃ sur Pin

Ozone injury website : <http://www.ozoneinjury.org/>

Bioindicateurs végétaux de la qualité de l'air :

Bio-indication passive par observation des lichens

(présence/absence d'espèces indicatrices)



Xanthoria parietina- Pollution azotée

<http://www.sigles-sante-environnement.fr>

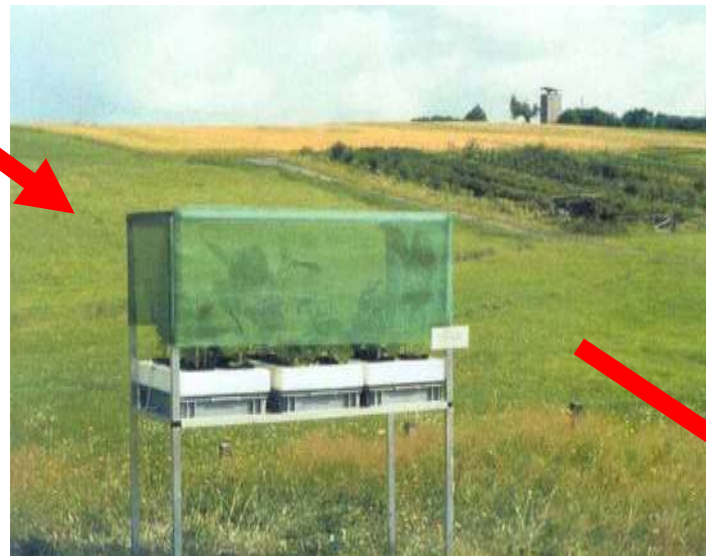
<http://www.air-lorraine.org>

Bioindicateurs végétaux de la qualité de l'air :

Bio-indication active (*plant sentinels*) : observations sur des végétaux connus pour leur sensibilité au polluant, préalablement cultivés en atmosphère saine, et exposés à l'environnement pollué dans des conditions normalisées.



Bio-indication de l'ozone au moyen du tabac Bel-W3



(www.eurobionet.com)



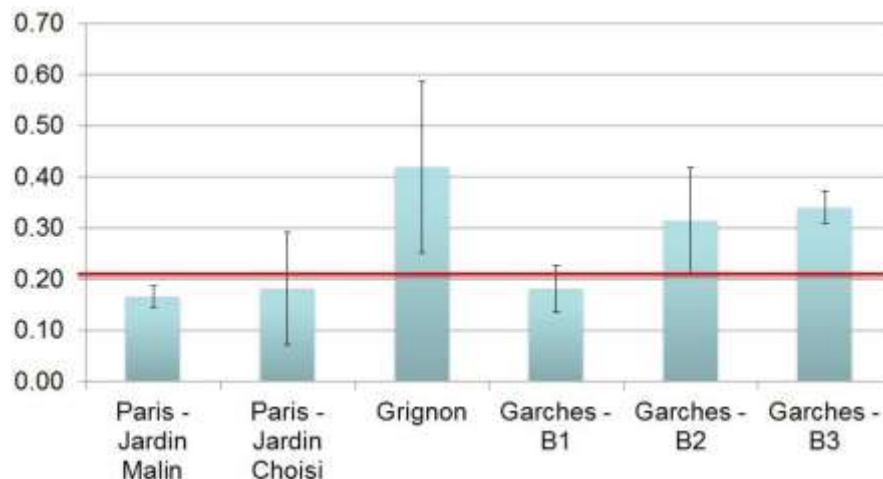
Biosurveillance active par bioaccumulateurs :



Exposition et analyse chimique

Seuil réglementaire pour un légume-feuille :
0,2 mg/kg MS
(Conseil Supérieur de l'Hygiène Publique en France)

[Cd], mg/kg de matière sèche



Teneurs en cadmium accumulées dans des plants de choux au cours du mois de mai 2014 dans différents jardins d'Ile-de-France

(Crochez, 2014)

Intérêts et limites de la biosurveillance de la qualité de l'air

Pas cher

Met en évidence des **impacts**

Bon moyen d'information
et de sensibilisation du
public (**impacts visuels**)

Pas toujours faisable
(mesures d'hiver ?)

Relation impacts-concentrations
pas toujours facile à interpréter

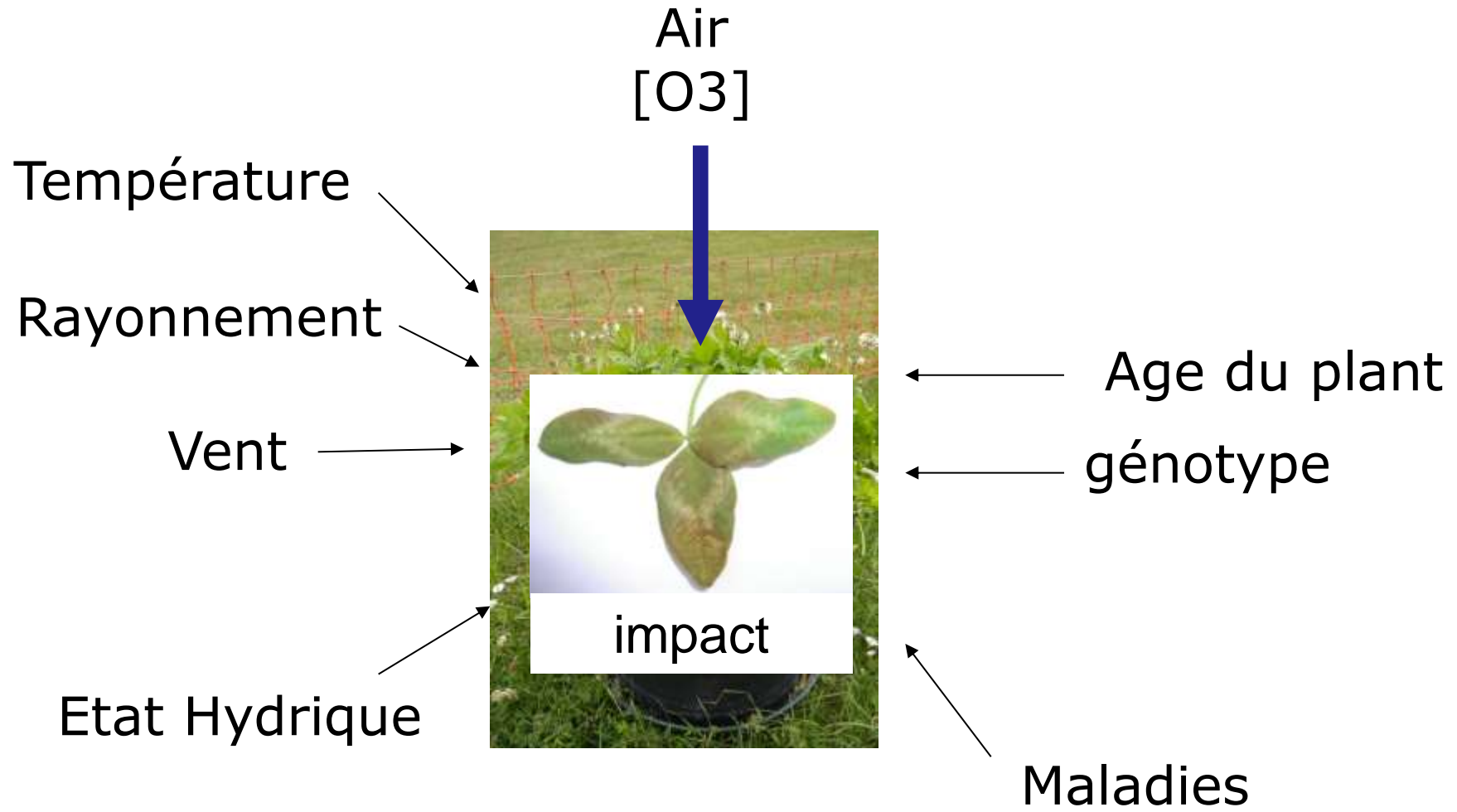
Données souvent **relatives**
(comparaison milieu pollué/non
pollué)

La biosurveillance de la qualité de l'air ne permet pas de mesurer les concentrations en polluants dans l'air

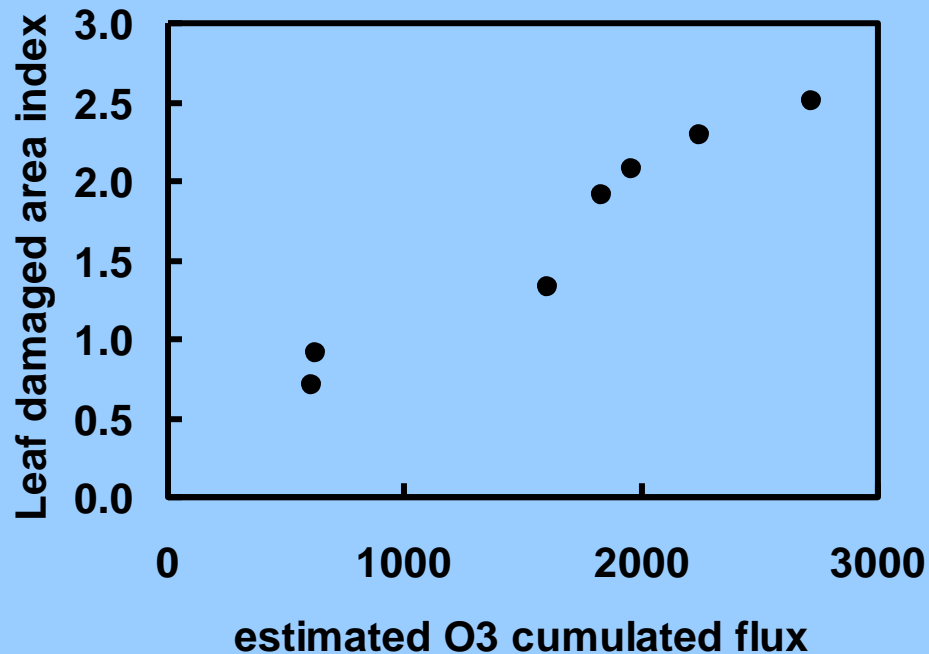
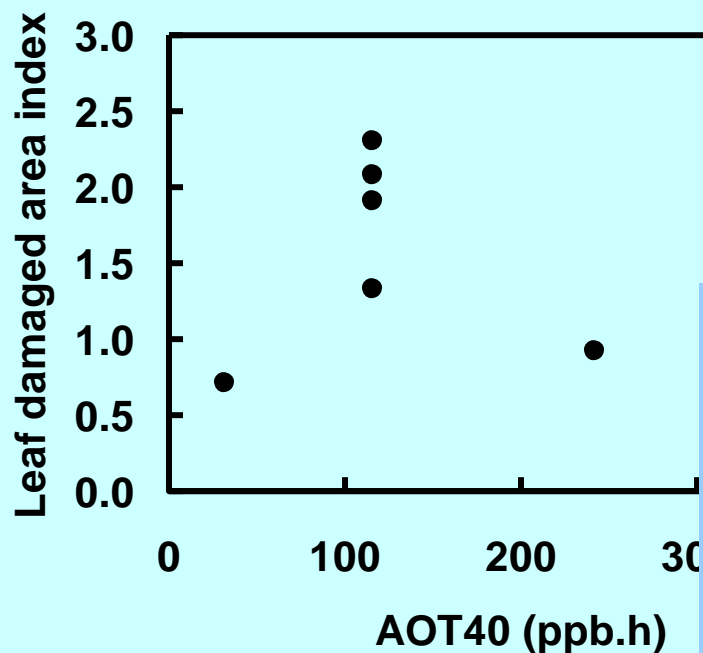
Elle permet d'identifier (voire de quantifier) les impacts biologiques des polluants atmosphériques sur des organismes vivants.

C'est une approche complémentaire des mesures physico-chimiques. L'interprétation des résultats nécessite d'analyser les modes d'action des polluants sur les êtres vivants.

Pourquoi une plante bioindicatrice n'est-elle pas un analyseur ?



Fonctions d'impact



Estimation du flux d'ozone absorbé au moyen d'un modèle empirique de conductance stomatique et des mesures de concentration en ozone

Castell *et al*, 2003



Jacques Castell (1932-2013) - « Migration » Acrylique sur toile, 115x90 - 2008

<http://impromptu.fr/doc-biosurveillance>