INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE
ÉCOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE DE TOULOUSE

MASTER SCIENCES ET TECHNOLOGIES 2eme ANNÉE
Mention : Écologie et Biosciences de l'Environnement

- Charles-Enzo DAUPHIN –

Bioindication par *Pétunia Hybrida* de la pollution atmosphérique actuelle en Composés Organiques Volatils du territoire du Syndicat d'Agglomération Nouvelle Ouest Provence : Sources, degré d'influence et adaptabilité citoyenne.

Encadrant :
Véronique GRANIER

Tuteur :
Camille DUMAT

Correcteur :
Maialen BARRET

Organisme d'accueil :
Institut Ecocitoyen pour la Connaissance des Pollutions
Fos-sur-Mer

- **Présenté et soutenu le 15 septembre 2014** -

Remerciements

Je tiens à remercier sincèrement Philippe Chamaret qui, en tant que Directeur de l'Institut Ecocitoyen pour la Connaissance des Pollutions, a su m'ouvrir les portes de son équipe en me faisant entièrement confiance et en me laissant les libertés nécessaires à l'accomplissement de mes travaux.

Je remercie également Camille Dumat, ma tutrice, de m'avoir conseillé et donné de son temps durant ces six mois, malgré son emploi du temps universitaire très chargé, me permettant de préciser et d'affiner mon propos.

Une pensée particulière à Véronique Granier, mon encadrante à l'Institut, qui a su m'encourager, me soutenir, me conseiller et surtout me pousser de jour en jour professionnellement et personnellement avec son enthousiasme communicatif à l'égard de mon travail et de mes recherches.

Je ne pourrai oublier Annabelle Austruy et Julien Dron, chercheurs à l'Institut, qui m'ont guidé dans mes travaux et m'ont aidé à faire avancer ma réflexion de part leurs expériences, leurs précieux conseils et leurs suggestions toujours avisées.

J'exprime toute ma gratitude aux volontaires du réseau VOCE, Mme. Lefèvre, M. Lebrun, M. Mira, M. Theurkauff, M. Joffroy, Mme. Dolot, M. Deboom ainsi que la société nautique de Port-de-Bouc qui ont énormément donné de leur temps personnel. Sans eux, je n'aurai simplement jamais pu mener à bien cette étude.

Merci à toute l'équipe de l'institut écocitoyen, Gauthier, Sandra, Alix et Jocelyne ainsi que les stagiaires, Etienne et Coralie que j'ai quotidiennement côtoyés et sans qui, toutes ces journées et ces mois auraient été bien moins agréables.

Je tiens également à remercier plus personnellement Jade, qui a su égailler un grand nombre de mes journées de recherche part son soutien et son irremplaçable compagnie.

Une dernière pensée, pas des moindres, à Pascal Laffaille Directeur du master EBEN ainsi que tous mes camarades de promo sans qui cette dernière année d'étude toulousaine n'aurait été inoubliable.

Table des matières

Remerciements 3

Résumé/Abstract 7

INTRODUCTION 9

PARTIE I. CONTEXTE GENERAL 11

I.1. Zone d'étude 11

I.1.1. Syndicat d'Agglomération Nouvelle (SAN) Ouest Provence 11

I.1.2. Historique 12

I.1.3. Zone Industrialo-Portuaire 12

I.1.4. Un paysage écologique riche et menacé 12

I.2. Institut Ecocitoyen pour la Connaissance des Pollutions 13

I.2.1. Présentation 13

I.2.2. Volontaires pour l'observation citoyenne de l'environnement 14

I.3 La pollution atmosphérique 15

I.3.1 Généralité 15

I.3.2 Les composés organiques volatils 15

I.4. La biosurveillance 17

PARTIE II. MATERIEL ET METHODE 18

II.1. *Pétunia hybrida* comme bioindicateur de la qualité de l'air 18

II.1.1. Bioindication 18

II.1.2. Développement morphologique 18

II.1.2. Adaptabilité citoyenne 19

II.2. Conditions de culture 20

II.3. Sites d'étude 21

II.3.1. Stations à prédominance industrielle 21

II.3.2. Station à prédominance urbaine 23

II.3.3. Stations à prédominance rurale 24

Figure 6 : Cartographie des stations situées à Grans 24

II.3.4. Particularité de la station Grans-Route 24

II.4. Mesure des paramètres physiologiques 25

II.4.1. Sélection des paramètres morphologiques mesurés 25

II.4.2. Formation des volontaires 27

II.5. Traitements statistiques 28

II.5.1. Test de comparaison de moyenne 28
II.5.2. Analyse en composante principale 29

PARTIE III. RESULTATS 30
III.1. Evolution générale moyenne de la croissance des stations 31
III.2. Evolution générale moyenne du diamètre des fleurs 33
III.3. Evolution générale du nombre moyen de feuilles nécrosées 35
III.4. Evolution générale du nombre moyen de boutons viables 37
III.5. Etude du poids sec en fin d'étude 39

PARTIE IV. DISCUSSION 40
IV.1. Un témoin validé 40
IV.2. Réponse physiologique des Pétunias et pollution atmosphérique 40
IV.4. Une réponse physiologique différente en fonction de l'exposition 43
IV.5. Niveau d'exposition aux polluants atmosphériques 45
IV.4. VOCE, un outil efficace pour l'observation du territoire 46

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES 48

BIBLIOGRAPHIE 50

Annexes 53
Annexe 1 : Fiches hebdomadaires de prise de données **53**
Annexe 2 : Protocole de prise de données et d'entretien des stations **54**
Annexe 3 : Données récoltées pour tous les paramètres morphologiques **65**
Annexe 4 : Graphiques obtenus pour les paramètres non détaillés dans l'étude **70**
Annexe 5: P.Value des différents tests statistiques **75**

Liste des figures **79**

Liste des Tableaux **79**

Résumé

L'exposition de différentes communes à la pollution atmosphérique en composés organiques volatils (COV) d'origine industrielle, urbaine et routière à été évaluée en mesurant les impacts physiologiques induits sur P*étunia hybrida* (plante sensible à l'éthylène) à travers 10 paramètres morphologiques détaillant le développement morphologique chez cette plante. La prise de donnée réalisée dans une démarche volontaire, a directement mobilisé les citoyens dans l'observation de l'état écologique de leur propre environnement en leur proposant une participation fondamentale dans la récolte des données. Les plants de pétunias cultivés dans les communes proches d'une des plus grandes Zones Industrialo-Portuaire d'Europe ont montré d'importantes modifications physiologiques caractérisant une forte exposition en COV atmosphérique. La comparaison de ces résultats avec une station exposée à des émissions essentiellement urbaines et routières, témoigne d'une croissance et d'un développement général significativement plus importants de cette station urbaine confirmant un impact certain de la zone industrielle sur le bon développement de *Petunia hybrida.* Finalement, c'est en analysant les données récoltées sur les stations d'études situées en milieu rural, les plus éloignées de toute exposition urbaine et industrielle, qu'un développement physiologique général plus conséquent en comparaison aux autres stations à été observé, témoignant à la fois d'un état atmosphérique écologiquement de meilleur qualité car beaucoup moins impacté par les émissions anthropiques, mais également permettant de proposer *Pétunia hybrida* comme un candidat pertinent et efficace pour la biosurveillance environnementale de la qualité de l'air.

Mots-clefs : *Petunia hybrida,* pollution atmosphérique, Composés Organiques Volatils, éthylène, biosurveillance, bioindication.

Abstract

Exposure of various cities to the air pollution of volatile organic compounds (VOC) from different sources such as industrial, urban and vehicle, was evaluated by analyzing the physiological effects induced on *Petunia hybrida* (sensitive to ethylene) through 10 morphological parameters detailing the morphological development of this plants. The data sampling process, made in a voluntary way, directly involved citizens in the observation of the ecological status of their own environment by providing a fundamental contribution in the data collection. The petunias plants grown in the towns close to one of the largest industrial area in Europe have shown significant physiological changes characterizing high exposure to atmospheric VOC. Comparision of these results with a station mainly exposed to urban and road emissions, showed a significantly most important growth and development of this urban station, confirming an impact of the industrial area on the good development of Petunia hybrida. Finally, by analyzing data collected from stations located in rural areas, far away from urban and industrial exposition, it has been observed a better general physiological development compared to all other stations, reflecting a better atmospheric environmentally quality because much less impacted by anthropogenic emissions, and also allowing *Petunia hybrida* to be considered as a relevant and effective tool for an environmental biomonitoring of air quality.

keywords : *Petunia hybrida*, air pollution, volatile organic compounds, ethylene, biomonitoring, bioindicator.

INTRODUCTION

Les caractéristiques de la pollution de l'air en milieu urbain ont considérablement changé au cours des dernières décennies. Les concentrations de polluants traditionnellement importantes tels que le dioxyde de soufre (SO_2) et la fumée noire (microparticules de carbone) ont sensiblement diminué. Aujourd'hui, les émissions de la circulation routière ont émergé comme la principale cause de la mauvaise qualité de l'air en milieu urbain (Brophy et al., 2007). Même si certains polluants comme le SO_2 ont diminué de façon notable, ils subsistent encore de nos jours et certains ont émergé dans la préoccupation sanitaire, politique et environnementale comme notamment les particules et les composés organique volatils.
L'intercommunalité Ouest-Provence (98 000 habitants), où ce travail a été réalisé, est un territoire marqué par de fortes pressions environnementales. En effet, la collectivité, située à l'Ouest de l'Etang de Berre (Bouches du Rhône, France), regroupe six communes sur une superficie de 355 km² et compte près de 50 sites industriels dont 12 sont classés SEVESO (et 32 sont localisés sur la commune de Fos-sur-Mer) (BASOL, 2014). L'ensemble de ces sites compose la zone industrialo-portuaire de Fos-sur-Mer (ZIP de Fos) qui couvre plus de 10 000 ha et accueille de nombreuses industries lourdes, dans les domaines du raffinage, de la pétrochimie et de la sidérurgie ainsi que deux incinérateurs de déchets, auxquels s'ajoute l'activité portuaire du plus important port de commerce français. De fait, il s'agit d'une zone géographique urbanisée, exposée aux émissions industrielles, routières et maritimes.

Des recherches antérieures ont montré qu'à des concentrations élevées, la plupart des polluants présents dans les gaz d'échappement et dans les panaches industriels peuvent être nuisibles pour les plantes (Ackerly et Bazzaz, 1995; Grantz et al., 2003; Wellburn, 1990). En 1983, Posthumus a été un des premiers chercheurs à suggérer l'utilisation du pétunia comme indicateur de la qualité de l'air. Il a montré que les pétunias sont sensibles aux composés organiques volatils (COV) et plus précisément aux hydrocarbures. En effet, une pollution par ces derniers entraîne chez les pétunias une réduction du développement ainsi que l'apparition de modifications morphologiques visibles à l'œil nu.

Parmi la grande classe des hydrocarbures volatils, les Pétunias sont particulièrement sensibles à l'éthylène (Underwood et al, 2005), émis par le trafic routier et l'industrie. Plusieurs études ont été réalisées pour évaluer et biosurveiller les niveaux phytotoxiques de l'éthylène sur le pétunia, tel que l'étude des émissions de polluants d'une autoroute rurale (Pleijel et al., 1994) ou autour des usines de fabrication de polyéthylène en caractérisant la floraison et la croissance des Pétunias (Tonneijcka et al., 2003).Il a ainsi été montré que l'éthylène, produit

naturellement dans les plantes, est un régulateur de croissance, il favorise la synthèse de gibbérelline et peut induire la sénescence des plantes après la pollinisation (Yang et al., 2008). C'est ce qui explique pourquoi, même à de très faibles concentrations, l'éthylène peut être préjudiciable pour les plantes. Ainsi, la réduction de la floraison et de la croissance dans les plants de pétunia est observable dès une exposition à 25 ppb d'éthylène (Abeles, 1973 ; Underwood et al, 2005 ; Singh et Tripathi, 2007). En 1977, c'est Rudolph qui a été précurseur dans la biosurveillance environnementale à l'aide de pétunia. Il a étudié le modèle de floraison des pétunias afin de détecter les effets des polluants atmosphériques sur des plants à Munich. Il a montré que la fréquence des fleurs a chuté en corrélation avec le degré de pollution de l'air, et a conclu que l'éthylène en est la cause première. Des résultats appuyés par les conclusions obtenues par Plejel et son équipe en 1994.

La biosurveillance environnementale peut être définie comme l'utilisation des réponses à tous les niveaux d'organisation biologique (moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique, tissulaire, morphologique, écologique) d'un organisme ou d'un ensemble d'organismes pour prévoir et/ou révéler une altération de l'environnement (Garrec et Van Haluwyn, 2002).

Ce travail se propose donc d'utiliser le *Petunia hybrida* pour évaluer l'exposition des communes du territoire de Ouest-Provence aux émissions d'éthylène d'origine industrielle, urbaine ou routière et ainsi réaliser une biosurveillance environnementale de la qualité de l'air sur l'ensemble du territoire Ouest-Provence.

PARTIE I. CONTEXTE GENERAL

I.1. Zone d'étude

I.1.1. Syndicat d'agglomération nouvelle (SAN) Ouest Provence

Situé à l'ouest du département des Bouches du Rhône, le SAN Ouest Provence est une structure de coopération intercommunale dotée d'une gouvernance propre, d'une autonomie financière et de larges compétences. Créée en 1972 par l'association de trois villes seulement, elle regroupe à l'heure d'aujourd'hui six communes : Grans, Cornillon-Confoux, Istres, Miramas, Fos-sur-Mer et Port-Saint-Louis-du-Rhône, pour une superficie totale avoisinant les 355 km^2 avec plus de 100000 habitants (**Figure 1**).

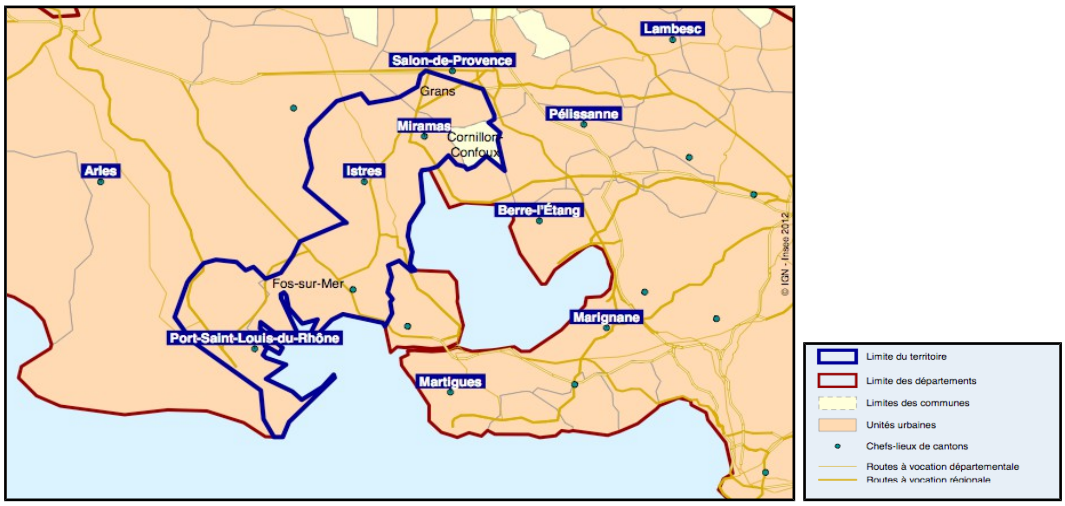


Figure 1 : Cartographie du territoire SAN Ouest Provence

En bordure de la mer Méditerranée, de la Camargue, de la plaine de Crau ou de la vallée du Rhône, le territoire Ouest-Provence est au cœur de tous les enjeux par son paysage contrasté mêlant un territoire fortement industrialisé face à de nombreuses zones à fort intérêt écologique.

I.1.2. Historique

L'Etang de Berre est une étendue d'eau bordant le territoire de Ouest-Provence. C'est autour de celui-ci que l'industrialisation commença durant la première moitié du XX^{ème} siècle dans le but de créer un espace économique complémentaire à la cité phocéenne. Cette industrialisation s'est intensifiée à partir des années 50 avec une implantation importante de la pétrochimie qui s'additionne aux différents chantiers navals et usines de produits chimiques déjà présents dans la zone. Dans les années 60, l'EPAREB (Etablissement Public d'Aménagement des Rives de l'Etang de Berre) achète des terrains environnants pour y construire des habitations car l'installation de ces industries s'est accompagnée d'un afflux important de population. En 1964, c'est le Port Autonome de Marseille qui est désigné comme aménageur de la zone industrielle de Fos-sur-Mer.

I.1.3. Zone Industrialo-Portuaire

Le territoire Ouest Provence détient une Zone industrialo-Portuaire (ZIP) qui est la première zone portuaire de France et d'Europe du sud et l'un des plus importants sites industriels au niveau européen. Basée sur des atouts majeurs comme des plates-formes industrielles lourdes, un port en eaux profondes et un réseau de communications maritime, routière, ferroviaire, fluvial et aérien de qualité, ce sont plus de 10000 ha de grands groupes industriels de sidérurgie, pétrochimie, chimie ou encore d'énergie qui se partagent la zone. Des industriels comme Total et Esso (pétrochimie), ArcelorMittal (sidérurgie), Lyondell Bassel et Naphtachimie (chimie), ou Kerneos (fabrication de ciment), avoisinant un incinérateur de déchets ménagers, représentent un panel d'industries lourdes considérablement émettrices en polluants atmosphériques.
A l'origine d'une économie florissante sur le territoire Ouest-Provence qui perdure de nos jours, la ZIP est aujourd'hui au centre de tous les questionnements de part son impact sur la santé ou sur les zones écologiques cruciales situées à proximité.

I.1.4. Un paysage écologique riche et menacé

Implantée entre le parc national de Camargue et la réserve naturelle de la Crau, la Zone Industrialo-Portuaire est la source de nombreux débats par son importante influence sur la contamination des écosystèmes. En plus de ces deux zones protégées, le territoire du SAN

Ouest-Provence renferme sept zones classées Natura2000, dont quatre sites d'intérêts communautaires et trois zones de protections spéciales.

Au début des années 2000, une nouvelle vague d'implantations de sites industriels ainsi que l'installation de l'incinérateur d'ordures ménagères de Marseille a entraîné une brutale prise de conscience des populations concernant les atteintes environnementales et sanitaires générées par ce complexe industriel. L'impact sanitaire ainsi que cette richesse écologique de plus en plus menacée par la présence de ces géants de l'industrie sont devenus une priorité pour l'Institut Ecocitoyen pour la Connaissance des Pollutions (IECP).

I.2. Institut Ecocitoyen pour la Connaissance des Pollutions

I.2.1. Présentation

Afin d'améliorer la compréhension et la connaissance des pollutions et de leurs effets dans un contexte de fortes tensions sociales, environnementales et économiques engendrés par la Zone Industrialo-Portuaire, les collectivités locales ont défini une politique scientifique visant à apporter des données validées sur ces questions par les acteurs de la Recherche.

Un programme d'actions scientifiques a ainsi été établi et confié à un Conseil Scientifique composé de chercheurs, d'universitaires et de médecins, animé par l'IECP. L'Institut Ecocitoyen est une association dont les missions principales sont l'acquisition de connaissances scientifiques autour des questions sanitaires et environnementales, la diffusion de ces savoirs et l'aménagement d'actions de surveillance et de protection de l'environnement ayant pour but de porter la science comme un outil d'aide à la décision en matière d'aménagement du territoire. Si cet Institut est né d'une volonté politique forte, il reste un organisme indépendant destiné à mieux connaître les pollutions sur le Golfe de Fos et le pourtour de l'Etang de Berre et à accompagner le développement durable de cette zone.
Par des études de contaminations de l'atmosphère, de la mer ou du sol, l'Institut est rapidement devenu un acteur majeur dans l'étude de la pollution mais également dans la transmission citoyenne de ces connaissances et conclusions alors obtenues.
Une seconde approche est centrée sur l'aspect sanitaire et vise à identifier et caractériser les pathologies environnementales potentiellement spécifiques à cette zone propulsant ainsi l'Institut dans le domaine de la santé.

L'IECP a également la particularité d'intégrer des volontaires directement dans cette démarche d'acquisition de données scientifiques à l'aide du programme Volontaire pour l'Observation Citoyenne de l'Environnement (VOCE). Il permet ainsi une collaboration volontaire directe des habitants dans ce processus d'avancée de la connaissance tout en bénéficiant de formations scientifiques théoriques et techniques, leur permettant de mieux appréhender leur territoire.

I.2.2. Volontaires pour l'observation citoyenne de l'environnement

Les acteurs de ce territoire sont en demande d'une réelle approche scientifique, qui puisse fonder des échanges sur un socle de confiance. Il s'agissait de confier l'expertise au monde scientifique dans sa dimension universitaire et de recherche différemment d'une approche contractuelle classique propre aux bureaux d'étude. Le projet VOCE représente le développement de cette démarche, dont l'objectif est de resituer chaque acteur strictement dans son rôle, en fonction de l'expertise qu'il porte : proposer aux citoyens d'observer leur environnement et d'en partager la compréhension avec le monde scientifique, afin d'assurer une co-production de la connaissance. VOCE vise à ouvrir un nouvel espace participatif pour les populations, restant éloigné des contestations. Il s'agit de constituer un groupe à l'interface du territoire, des décideurs et du monde scientifique, qui peut, d'une part, assurer une transmission efficace de l'information aux populations riveraines et, d'autre part, positionner les habitants dans une posture participative aux grands questionnements de santé environnementale.

Plusieurs études lancées par l'Institut Ecocitoyen, comme notamment la bioindication de la pollution atmosphérique par les lichens ou l'étude de la pollution du Golfe de Fos par bioaccumulation chez le congre, intègrent au moins à une étape l'action des volontaires dans l'acquisition de données. Les volontaires sont ainsi amenés à intervenir lors de phases préliminaires (reconnaissances de terrain, historiques d'usages, choix d'espèces...) ou de phases opérationnelles (réalisations de prélèvements, suivis de paramètres,...). Toutes les études conduites dans le programme VOCE doivent être, dès l'origine, élaborées avec la dimension « volontaires » et les questions de leur formation, de leur capacité à intervenir, de l'adaptabilité à leur usage fondent l'ensemble de la réflexion du protocole mise en place pour étudier la pollution du territoire du SAN Ouest Provence.

I.3 La pollution atmosphérique

I.3.1 Généralité

Le compartiment atmosphérique, comme tout autre compartiment naturel tel que l'hydrosphère, la lithosphère ou la biosphère, participe au stockage et au transfert des éléments chimiques au sein des grands cycles biogéochimiques (Pédro, 2007 ; Rauch et Pacyna, 2009). L'atmosphère devient alors un véritable réservoir d'une multitude de polluants anthropiques. Depuis les années 1930, et notamment suite à plusieurs épisodes de pollution ayant eu des conséquences importantes (vallée de la Meuse en 1930, Donora aux États-Unis en 1948, puis smog de Londres en 1952, etc.), les recherches concernant les effets sanitaires des substances polluantes émises dans l'atmosphère sont généralement convergentes : les substances chimiques émises par les activités humaines dans l'atmosphère peuvent altérer drastiquement le milieu dans lequel elles se trouvent par réactions chimiques néfastes, effets toxiques, perturbations des cycles biogéochimiques ; on parle alors de polluants (Agnan et al, 2013).

L'implication humaine dans la détérioration de l'environnement n'est plus à prouver, mais elle reste à quantifier dans la mesure du possible. Dans un paysage industriel comme celui du territoire Ouest Provence, l'effet de la pollution atmosphérique omniprésente est encore mal connu et trop peu étudié, alimentant de plus en plus le questionnement des ses habitants. Par étude de source à l'aide d'appareils spécialisés, ou encore de mesures d'impacts ou d'effets sur les écosystèmes, l'IECP a pour objectif de déterminer l'impact environnemental et sanitaire de la zone industrialo-portuaire de Fos-sur-Mer (ZIP de Fos). Ce type de mesures n'est pas la seule voie d'entrée de l'Institut Ecocitoyen. En effet, il est un acteur important dans la biosurveillance environnementale, faisant appel à la notion de bioindication et de bioaccumulation, permettant un suivi de l'état environnemental de la zone et mettant en évidence cette contamination accrue depuis ces dernières années

I.3.2 Les composés organiques volatils

Les Composés Organiques Volatils (COV) sont une famille regroupant plusieurs milliers de composés différents comme les hydrocarbures, les aldéhydes ou encore les cétones qui peuvent être d'origine naturelle ou anthropique. De caractéristiques très variables, les différents COV sont toujours composés de l'élément carbone et d'autres éléments chimiques tels que l'hydrogène, les halogènes, le soufre ou l'azote. Ils sont émis lors de la combustion de combustibles (trafic, industries…), ou par évaporation lors de leur confection, de leur

stockage ou de leur utilisation. Les COV sont également émis par le milieu naturel. Favorisées par une sècheresse importante, les forêts méditerranéennes sont, par exemple, une source importante de COV naturel (Asensio et al, 2007).

Des quantités considérables de COV sont produites dans les pays industrialisés, elles sont contenues dans de nombreux produits manufacturés, tels que les peintures, les adhésifs, l'essence et les plastiques. Beaucoup d'entre eux sont mobiles, toxiques et persistants. Dans l'atmosphère, de nombreux COV peuvent avoir une demi-vie relativement courte (de quelques heures en raison de la dégradation) comme le benzène, alors que d'autres peuvent être très persistants et afficher peu de dégradation sur une période de plusieurs années comme le 1,1,2,2-Tétrachloroéthane (Squillace et al., 1999).

En plus d'avoir les caractéristiques d'un gaz à effet de serre direct, les COV réagissent sous l'effet du rayonnement solaire avec les oxydes d'azote présents dans l'atmosphère pour former de l'ozone troposphérique ayant une action non négligeable sur les pics de pollution et le réchauffement global (Shao et al, 2007 ; De Richter et Caillol, 2011).

Du point de vue sanitaire, l'effet des COV varie selon la nature du polluant. Allant d'une simple gêne olfactive à des effets mutagènes et cancérigènes pour des composés comme le benzène ou certains aldéhydes.

En effet, dans la plupart des zones urbaines, les COV peuvent contribuer sensiblement à l'ensemble des risques de cancers associés aux polluants atmosphériques toxiques (Kampa & Castañas, 2008). Ainsi les risques potentiels pour la santé associés à l'exposition à ces composés et leur rôle dans la formation du smog photochimique ont conduit à l'inquiétude croissante du public à propos de la présence de COV dans l'environnement.

Aujourd'hui, plusieurs méthodes sont disponibles pour l'échantillonnage de ces produits dans l'air. Par exemple, des techniques d'adsorption définissant un échantillonnage passif sur cartouche (Pompe et al, 2000), mais également une technique pour la mesure du volume atmosphérique en COV qui est basé sur la réaction de transfert de protons de spectrométrie de masse appelée spectrométrie de masse par ionisation à transfert de proton (PTR-MS) (Lindinger et al., 1998). D'autres techniques par analyseur de gaz ou échantillonnage par prélèvement sous vide permettent d'avoir accès à un nombre plus restreint de COV (éthylène, formaldéhyde…). Des études par biosurveillance sont également mises en place pour observer la contamination atmosphérique en COV.

I.4. La biosurveillance

La biosurveillance concerne toute utilisation d'un organisme sensible à son milieu environnant pouvant faire état de ce dernier, soit par prélèvement direct depuis le milieu (bioindication passive), soit à travers la transplantation d'échantillon par bioindication active (Agnan, 2013). Garrec et Van Haluwyn (2002) donnant un sens plus restrictif au terme de bioindicateur dans la mesure où ils le considèrent comme un simple relais ne faisant référence qu'à des effets observables au niveau de l'individu se traduisant par des altérations morphologiques, tissulaires ou physiologiques et caractérisant ainsi un potentiel impact sur un organisme vivant en fonction de l'exposition.
La biosurveillance se décline en plusieurs outils de diagnostic environnemental bien distinct :

- **Biointégration** : Observation de changements structurels en réponse à un stress environnemental.

- **Bioindication** : Observation des réponses biologiques (morphologiques, physiologiques, tissulaires…) d'un organisme vivant en réponse à un polluant.

- **Biomarqueur** : Utilisation de marqueurs au niveau de la biologie structurelle ou fonctionnelle (enzyme, physiologie, protéine…) indiquant une influence du milieu environnant sur les fonctions biologiques.

- **Bioaccumulation** : Détermination des teneurs en éléments chimiques bioaccumulés dans un organisme vivant en réponse à une exposition plus ou moins diffuse.

La biosurveillance est une discipline en plein essor, permettant à la fois de réduire considérablement les coûts d'une étude mais aussi de palier au besoin d'utilisation d'appareils de mesures très perfectionnés. Depuis ses débuts en 1978 sur des études de la qualité de l'air (Swieboda et Kalemba, 1978), plusieurs végétaux sensibles ont été développés pour la surveillance de divers polluants atmosphériques. Il peut notamment être cité l'étude du SO2 par les lichens (Swieboda et Kalemba, 1978, Gibson et al., 2013 ; Stephano, 2014), l'ozone par le tabac (Gombert et al, 2006) ou encore le mercure par les Ray Grass (De Temmerman et al, 2007).

PARTIE II. MATERIEL ET METHODE

II.1. *Pétunia hybrida* comme bioindicateur de la qualité de l'air.

II.1.1. Bioindication

De nombreuses études ont montré que des concentrations élevées en COV présentes dans les gaz d'échappement ou les rejets industriels peuvent être nuisibles pour les plantes (Ackerly et Bazzaz, 1995, Grantz et al., 2003). Des travaux de recherche en biosurveillance de l'environnement ont plus précisément mis en avant la sensibilité des Pétunias aux COV et plus exactement aux hydrocarbures et à l'éthylène. C'est Posthumus (1983) qui a suggéré l'utilisation de Pétunia comme bioindicateur après avoir observé une réponse des Pétunias aux polluants par une diminution de la taille des fleurs ainsi qu'une augmentation de l'avortement des boutons floraux.

De cette hypothèse s'en suivent plusieurs études de biosurveillance des niveaux phytotoxiques des COV à l'aide des Pétunias. D'abord à proximité d'une autoroute, ou l'étude du poids sec en fin d'étude en fonction de la distance à l'autoroute a permis de mettre en évidence une augmentation de ce dernier avec l'éloignement à l'autoroute (Pleijel, 1994).

En 2003, Tonneijcka et son équipe propose de biosurveiller un complexe industriel fabriquant du polyéthylène. Cette étude a permis de mettre en avant plusieurs réponses en fonction de la distance au complexe, allant d'une inhibition totale des plants en contact direct avec l'usine jusqu'à une réduction de croissance moins importante à plusieurs centaines de mètres mais également une inhibition observable de la floraison en se rapprochant de la source en éthylène.

II.1.2. Développement morphologique

Au delà de l'aspect bibliographique, le Pétunia présente beaucoup de caractéristiques lui permettant d'être utilisé pour cette étude (**Tableau 1**). En effet, une croissance rapide ainsi qu'une période de floraison correspondant à l'intervalle de temps de l'étude de bioindication environnementale mise en place étaient indispensables pour le bioindicateur considéré. C'est pour cela que le Pétunia, avec une croissance et une floraison rapide et importante, présente toutes les caractéristiques requises pour étudier son développement morphologique durant le temps imparti à cette étude.

Tableau 1 : Fiche technique de *Pétunia hybrida*

Nom vernaculaire	Pétunia hybride
Nom latin	*Pétunia hybrida*
Ordre	Solanales
Famille	Solanaceae
Genre	Pétunia
Type de végétation	Vivace à fleurs, annuelle
Type de feuillage	Persistant
Croissance	Rapide et très florifère.
Floraison	Importante. Printemps, été et automne.
Hauteur	30 à 50 cm

Le paysage très contrasté du territoire Ouest-Provence, mêlant espaces fortement industrialisés, urbanisés mais également ruraux nous permet d'envisager l'utilisation de *Pétunia hybrida* pour une biosurveillance active de la qualité de l'air au sein du territoire tout en considérant l'hypothèse de caractériser le degré de pollution en fonction des différentes sources d'exposition.

II.1.2. Adaptabilité citoyenne.

Le choix du bioindicateur utilisé pour cette étude ne se limite pas seulement à une adaptabilité ou faisabilité au sein du territoire. Il doit avant tout intégrer entièrement le citoyen, dans le cadre du programme VOCE. C'est pour cela que le Pétunia s'est avéré un candidat très pertinent pour une bioindication de la pollution atmosphérique de la zone Ouest Provence. En effet, la biosurveillance par les Pétunias demande un certain nombre de manipulations et prises d'informations précises sans pour autant mobiliser de grandes connaissances scientifiques, de matériels scientifiques perfectionnés ou encore d'analyses en laboratoire. Le protocole de bioindication ne devait pas se résumer à simplement utiliser la localisation des volontaires, les volontaires vont utiliser leurs capacités de prise de données, de mesures et de volonté à participer à une étude scientifique concernant leurs propre environnement et surtout essayant de répondre à leurs questionnement portant sur l'impact d'une telle zone industrialo-portuaire.

II.2. Conditions de culture

Les plants de Pétunia nécessaires pour la mise en place de l'étude ont été acquis au sein d'un organisme spécialisé, à la pépinière Super Plan située à Berre l'Etang. Les soixante plants ont subi les mêmes conditions de germination et de croissance jusqu'à l'obtention des plants, que ce soit au niveau de la date des semis, des conditions d'irrigation, de l'exposition ou encore de l'apport en intrant. Pour une pertinence scientifique et statistique suffisante, chaque station d'étude est constituée d'un total de six pots de *Pétunia hybrida* (**Figure 2**). Chaque plant a été mis en culture dans des pots ronds identiques avec un substrat également identique de type « terreau universel ». La culture s'est étalée sur 7 semaines pour l'ensemble des stations.



Figure 2 : Six plants de *Pétunia hybrida* composant une station d'étude

Pour mettre en avant l'impact de la pollution sur nos stations d'étude, il est primordial de limiter les facteurs pouvant induire un impact sur les plants autre que la pollution. C'est pour cela que plusieurs aspects ont été définis dans le protocole concernant les stations d'étude pour obtenir le traitement le plus analogue possible entre les stations. Un terreau de type universel a été préféré pour l'ensemble des stations, ainsi qu'une proscription totale d'intrants chimiques ou naturels discréditant ainsi un impact du substrat sur les différentes stations. Concernant l'exposition à l'ensoleillement des stations, ces dernières sont placées sous un ensoleillement permanent tout au long de la journée limitant de ce fait les différences d'exposition au soleil entre les stations. Pour finir, une eau identique (Cristalline©) est fournie à chaque volontaire pour une fréquence d'irrigation définie de 250 ml d'eau par pot tous les deux jours.

II.3. Sites d'étude

La disposition des stations au sein du territoire d'étude était dépendante des volontaires participant à l'étude. Après une campagne de recrutement essayant d'impliquer des volontaires couvrant au mieux le territoire Ouest-Provence en fonction de leur distance à la ZIP de Fos-sur-Mer, un total de dix stations pour huit volontaires et soixante plants de Pétunia hybrida ont été mobilisés pour cette étude. Ne pouvant donc pas positionner nos stations d'étude selon nos volontés, nous avons détaillé les caractéristiques de chaque station de l'étude (**Tableau 2**) avec notamment la distance à la ZIP de Fos-sur-Mer (ou Lavéra), la catégorie paysagère où se trouve la station mais également la contamination potentielle individuelle à chaque station.

Tableau 2 : Caractéristique de chaque station d'étude. (Distance à la ZIP de Fos-sur-Mer ou Lavéra, Catégorie, contamination et commune)

Nom station	Distance à la ZIP	Catégorie	Contamination potentielle	Commune
Témoin	>20 km	Rurale	Routière	Grans
Grans	>20 km	Rurale	Routière	Grans
Istres	10 km	Urbaine	Routière Urbaine	Istres
Fos 1	1,4 km	Industrielle	Routière Urbaine Industrielle	Fos-sur-Mer
Fos 2	1,5 km	Industrielle	Routière Urbaine Industrielle	Fos-sur-Mer
Fos 3	<1 km	Industrielle	Routière Urbaine Industrielle	Fos-sur-Mer
Fos 4	5 km	Industrielle	Routière Urbaine Industrielle	Fos-sur-Mer
Lavéra	< 1km	Industrielle	Routière Urbaine Industrielle	Martigues
Port-de-Bouc	2 km	Industrielle	Routière Urbaine Industrielle	Port-de-Bouc
Grans-Route	>20 km (70 m d'une autoroute)	Rurale	Autoroutière	Grans

II.3.1. Stations à prédominance industrielle

Six stations d'étude sont considérées comme ayant une proximité industrielle forte en comparaison à l'ensemble des stations d'études. En premier lieu, quatre stations situées à Fos-sur-Mer (**Figure 3**) sont au plus proche de la ZIP de Fos (- de 5 km) regroupant des industries considérablement consommatrices et émettrices en COV au niveau national.

Secondement, une station située dans le village de Lavéra et une dans la ville de Port-de-Bouc (**Figure 4**) sont à proximité du complexe industriel du même nom composé de la plus importante raffinerie du Sud-Est de la France (pouvant traiter 10 millions de pétrole brut annuellement) ainsi qu'un site chimique très important (fabriquant des monomère comme l'éthylène et le propylène et les transformant ensuite en plastiques et intermédiaire chimiques), constituent notre seconde zone d'exposition industrielle importante.
L'implantation de ces six stations pourrait permettre de caractériser une pollution en COV atmosphérique engendrée par une pollution et exposition industrielle, urbaine, et routière importante.



Figure 3 : Cartographie des stations situées à Fos-sur-Mer



Figure 4 : Cartographie des stations situées à Port-de-Bouc et Lavéra.

II.3.2. Station à prédominance urbaine.

Une station d'étude positionnée à Istres (**Figure 5**), une commune de plus de 40 000 habitants, est assez éloignée de la ZIP de Fos-sur-Mer pour la dissocier des stations de Fos-sur-Mer, Port-de-Bouc et Lavéra. Se trouvant à plus d'une dizaine de kilomètres de la ZIP et située dans un environnement essentiellement urbain, la contamination potentielle en COV peut être envisagée essentiellement comme étant routière et urbaine.



Figure 5 : Cartographie de la station située à Istres

II.3.3. Stations à prédominance rurale.

Les stations Grans et notre Témoin localisées dans la commune de Grans (**Figure 6**) représentent les stations les plus éloignées de la ZIP de Fos-sur-Mer (>20km) parmi l'ensemble des stations de cette étude. Au sein d'un paysage à dominance rurale, ces stations sont les plus éloignées de toute forme d'exposition à la pollution, hormis une pollution routière relativement ubiquiste. C'est grâce à cette non proximité à des sources potentielles de polluants atmosphériques qu'une de ces deux stations sera utilisée comme station témoin au cours de l'étude. La pertinence du choix du témoin par rapport à l'autre station Grans s'explique par la distance la plus élevée par rapport au village de Grans mais aussi en fonction de toutes autres contaminations potentielles.



Figure 6 : Cartographie des stations situées à Grans

II.3.4. Particularité de la station Grans-Route

Une dernière station, appelée Grans-Route (**Figure 6**), représente un enjeu important dans la prise de données. En effet, station située au sein d'un paysage totalement rural, elle se situe à quelques dizaines de mètres d'une autoroute. Elle représente la station la plus éloignée de la ZIP de Fos-sur-Mer en considérant l'ensemble des stations d'études mais elle est positionnée à moins d'une centaine de mètres d'une autoroute. Un véritable questionnement se pose autour de cette localisation et de l'exposition potentielle en COV. En effet, Grans-Route pourrait permettre de déterminer et de caractériser un degré de pollution par rapport à une source de COV précise, le trafic autoroutier étant la seule source d'émission de COV à proximité (limitant une contamination urbaine et industrielle).

II.4. Mesure des paramètres physiologiques

L'objectif de cette étude sur la biosurveillance environnementale de la pollution atmosphérique à l'aide de *Petunia hybrida* est de caractériser cette pollution par des modifications morphologiques chez la plante et ainsi évaluer l'impact environnemental. De fait, la prise de données concerne plusieurs paramètres physiologiques pour essayer de caractériser au mieux ces changements en fonctions des sites d'études. A noter que la prise de données a été réalisée toutes les semaines le même jour pour tous les volontaires participant à l'étude, homogénéisant ainsi l'échantillonnage et limitant les biais.

II.4.1. Sélection des paramètres morphologiques mesurés

- **Nombre de fleurs fraîches, et de fleurs fanées**

Pleijel et son équipe, (1994) ont dénombré, lors de leur évaluation du niveau phytotoxique d'une autoroute à l'aide de pétunias, le nombre de fleurs fraîches et de fleurs fanées en fonction de la distance à l'autoroute. Les résultats obtenus ont montré une augmentation du nombre de fleurs fraîches avec l'éloignement à l'autoroute et inversement. Par ailleurs, des résultats similaires ont été obtenus par Tonneilck et son équipe en 2003 montrant que le nombre de fleurs fraîches augmente avec la distance à un complexe industriel produisant de l'éthylène. De fait, ce paramètre a été sélectionné et un dénombrement hebdomadaire du nombre de fleurs fraîches et fanées a été réalisé sur l'ensemble des stations.

- **Nombre de bourgeons floraux viables et avortés**

Lors de ces travaux, Pleijel et son équipe (1994) ont également utilisé le nombre de bourgeons floraux vivants et avortés chez *Petunia hybrida* pour caractériser l'impact d'une autoroute rurale. Ayant prouvé que le nombre de bourgeons floraux avortés augmentait légèrement à proximité de l'autoroute mais surtout que le nombre de bourgeons floraux viables augmentait significativement avec la distance à l'autoroute (dû à l'effet de maturation induit par l'éthylène), ce paramètre a été inclus dans le protocole de prise de données et un dénombrement hebdomadaire des bourgeons floraux vivants et avortés a été réalisé sur chacune des stations.

- **Diamètre des fleurs**

Pleijel et al. (1994) ont, par ailleurs, mis en évidence l'impact des COV sur les pétunias par une diminution du diamètre des fleurs en fin d'étude. 12 fleurs par plant on alors été mesurées pour mettre en évidence cet impact.
Pour cette étude, l'impact de la pollution atmosphérique sur l'évolution du diamètre des fleurs a été caractérisé en mesurant chaque semaine au maximum 10 fleurs par plant, pour un total de 60 fleurs par station et par semaine. A noter qu'après chaque mesure les fleurs mesurées étaient « marquées » permettant ainsi de ne pas les mesurer lors de la prochaine prise de données, concédant ainsi un échantillonnage plus vaste et représentatif.

- **Poids sec en fin d'étude**

Le poids sec en fin d'étude est un paramètre morphologique important à intégrer dans le protocole. Le poids sec, ne comprenant que l'appareil aérien (excluant l'appareil racinaire) permet de mettre en évidence le développement foliaire des plants de *Petunia hybrida* tout au long des sept semaines d'exposition.
Après la récolte, les plants ont été placés 96 h à l'étuve à 40 °C, jusqu'à observer une perte inférieure à 5 % du poids en 24 h, et le poids sec a été déterminé à l'aide d'une balance de précision.

- **Taille des plants**

Tonneilck et son équipe (2003), lors de leurs travaux sur l'effet phytotoxique d'un complexe industriel producteur d'éthylène sur les Pétunias, ont estimé la croissance de la végétation à l'aide d'un indice allant de 1 (croissance légèrement réduite par rapport au témoin) à 3 (croissance extrêmement perturbée par rapport au témoin) mettant ainsi en évidence une croissance des plants inhibée à proximité de l'usine.
Il semble donc que la croissance des plants, outre le poids sec en fin d'étude, est un paramètre morphologique essentiel. Voulant donner un caractère quantitatif à cette mesure mais également plus de précision, l'évolution de la croissance des plants de *Petunia hybrida* sera caractérisée par une mesure hebdomadaire de la taille des plants allant de la base du tronc à l'extrémité la plus haute (extrémité centrale).

- **Nombre de feuilles mortes, nombre de feuilles nécrosées, fleurs nécrosées**

Le nombre de feuilles mortes, de feuilles nécrosées et de fleurs nécrosées sont aussi des paramètres morphologiques qui ont été intégrés dans le protocole de prise de données.
Ces trois paramètres n'ont jamais été utilisés dans une étude de bioindication à l'aide de Pétunias mais sont des paramètres fréquemment mesurés lors de campagne de bioindication de la qualité de l'air sur des espèces végétales comme par exemple dans des études de bioindication de l'ozone par le tabac ou le trèfle (Davranche et al., 2009 ; Manes et al., 2003). De fait, chaque fleur morte ou feuille et fleur ayant subi une décoloration partielle ou totale est dénombrée chaque semaine sur les différentes stations.

Au cours de cette étude, neuf paramètres morphologiques vont donc être contrôlés hebdomadairement, et complétés par une mesure de biomasse sèche en fin d'étude (**Figure 7**).

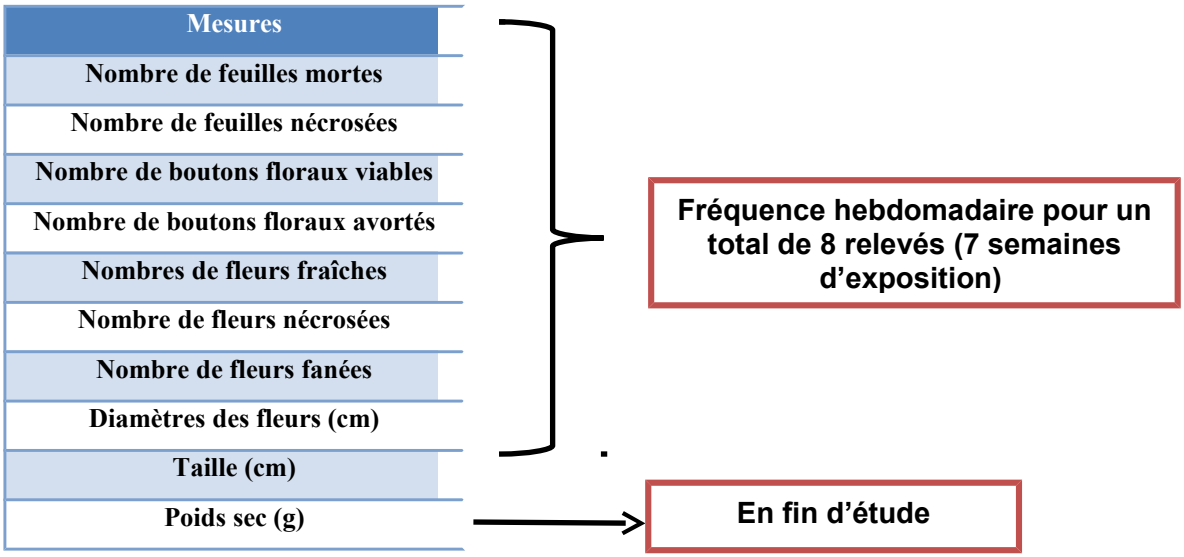


Figure 7 : Paramètres morphologiques contrôlés et fréquence de contrôle

II.4.2. Formation des volontaires

Toutes les mesures morphologiques à effectuer sur les différentes stations d'étude ne demandent pas de connaissance scientifique poussée. Cependant, une rigueur dans la prise de données mais également une homogénéité de cette prise de données au sein de toutes les stations sont primordiales. Pour pallier à cela et rendre la prise de données la plus cohérente et pertinente possible, il a été fourni à chaque volontaire deux fiches de relevés pré remplies (**Annexe 1)** ainsi qu'un protocole permettant d'assurer des mesures morphologiques similaires entre ces stations (**Annexe 2**) permettant de faciliter cet échantillonnage hebdomadaire. Outre le fait de détailler l'entretien demandé des stations (arrosage, proscription d'intrant…), ce protocole détaillé définit les paramètres à prendre en compte dans la prise de données, notamment pour bien évaluer les paramètres morphologiques tels que les fleurs ou feuilles nécrosées, mais également pour éviter toute confusion entre, par exemple, un bourgeon floral et une fleur fraîche ou encore une fleur fraîche et une fleur fanée. Les mesures morphologiques réalisées avec une règle graduée, notamment le diamètre des fleurs et la taille des plants, ont également été détaillées pour qu'elles soient réalisées de manière homogène entre les stations et les observateurs.

Pour finir, une réunion de formation a été orchestrée permettant ainsi, d'une part, de répondre à tout questionnement pouvant émerger du protocole mais, d'autre part, de réaliser un premier relevé de tous les paramètres avec les volontaires possédant une station d'étude. Ce premier relevé a permis d'illustrer mais également de vérifier la prise de données du protocole d'échantillonnage réalisé par les volontaires.

II.5. Traitements statistiques

Les analyses statistiques seront réalisées en utilisant le logiciel statistique R , Version 3.0.1 (R Core Team, 2013).

II.5.1. Test de comparaison de moyenne

Pour décider si deux échantillons peuvent raisonnablement être considérés comme à l'origine de la même distribution ou population, un certain nombre de tests statistiques peuvent être utilisés. La taille de nos échantillons par station (6) est trop peu importante pour considérer une distribution normale, un test paramétrique n'est donc pas réalisable. Dans ce cas, un test non paramétrique à deux échantillons peut offrir des avantages tels qu'une efficacité et surtout une pertinence relative supérieure (Wijnand et Van de Velde, 2000).

Les données obtenues seront donc regroupées par station pour ainsi caractériser individuellement chaque site d'étude et tester deux à deux chaque station d'étude et chaque paramètre à l'aide de tests non paramétriques de Mann Whitney à trois temps différents :

- T=0, représentant les données initiales en début d'étude
- T=3 semaines d'exposition, correspondant ici à la moitié de notre étude.
- T=7 semaines d'exposition, en fin d'étude.

A noter que les tests de Mann Whitney pour le paramètre « croissance » n'ont pas été réalisés à T=0 mais à T=1 semaine d'exposition. En effet, la croissance végétale représentant l'ensemble des changements quantitatifs de la plante se produisant au cours du temps n'est observable que lors du deuxième relevé, après une semaine d'exposition.

II.5.2. Analyse en composante principale

Une Analyse en Composante Principale (ACP) est une technique de coordination multivariée utilisée pour afficher des modèles de données multivariées. Elle vise à afficher graphiquement les positions relatives des points de données en moins de dimensions tout en

conservant autant d'informations que possible et d'explorer les relations entre les variables de l'étude (Syms, 2008). C'est une technique génératrice d'hypothèses qui vise à décrire les caractéristiques d'un tableau de données. C'est pour cela que des ACP seront réalisées après avoir conçu un tableau de données comprenant tous les paramètres mesurés de chaque plant pour essayer de mettre en évidence des corrélations entre variables.

En conséquence, les centres de gravité des individus vont être représentés sur les plans factoriels, et une variable qualitative supplémentaire va être ajoutée, la variable qualitative « Ville ». Tout cela dans le but, après indication pour chaque axe, d'une probabilité critique pour juger de la significativité de l'écart entre un centre de gravité et l'origine, de mettre en évidence les différentes populations au sein de notre étude.

.

PARTIE III. RESULTATS

L'étude des paramètres physiologiques sur une durée d'exposition de 7 semaines a révélé une réponse différente suivant les variables étudiées. Seules l'évolution et l'étude des données récoltées de 5 paramètres physiologiques (**Annexe 3**), les plus pertinents dans l'évaluation de l'impact physiologique des polluants atmosphériques et plus particulièrement de l'éthylène, seront présentées dans ce rapport. Le détail de ces 5 paramètres physiologiques permet de caractériser plusieurs stades différents du développement de la plante avec la floraison (diamètre moyen des fleurs), la croissance (croissance moyenne totale, poids sec moyen), la préfloraison (nombre moyen de bouton floraux viables) ainsi que le bon développement foliaire (nombre moyen de feuilles nécrosées). Les données récoltées pour les paramètres restant (**Annexe 3**) ainsi que les tests statistiques et les graphiques réalisés pour ces paramètres (**Annexe 4**) ne seront pas détaillés dans les résultats.

Pour illustrer au mieux les différences au sein des stations d'étude, 3 paramètres sont représentés selon un pourcentage de variation par rapport au témoin, illustrant ainsi plus précisément les différences entre toutes les stations d'étude et également l'hétérogénéité de ces dernières face au témoin.

III.1. Evolution générale moyenne de la croissance des stations

En observant les résultats obtenus lors de l'évolution de la croissance suivant les sept semaines d'exposition (**Figure 8**) une divergence au niveau du taux de croissance moyen des stations est observée.

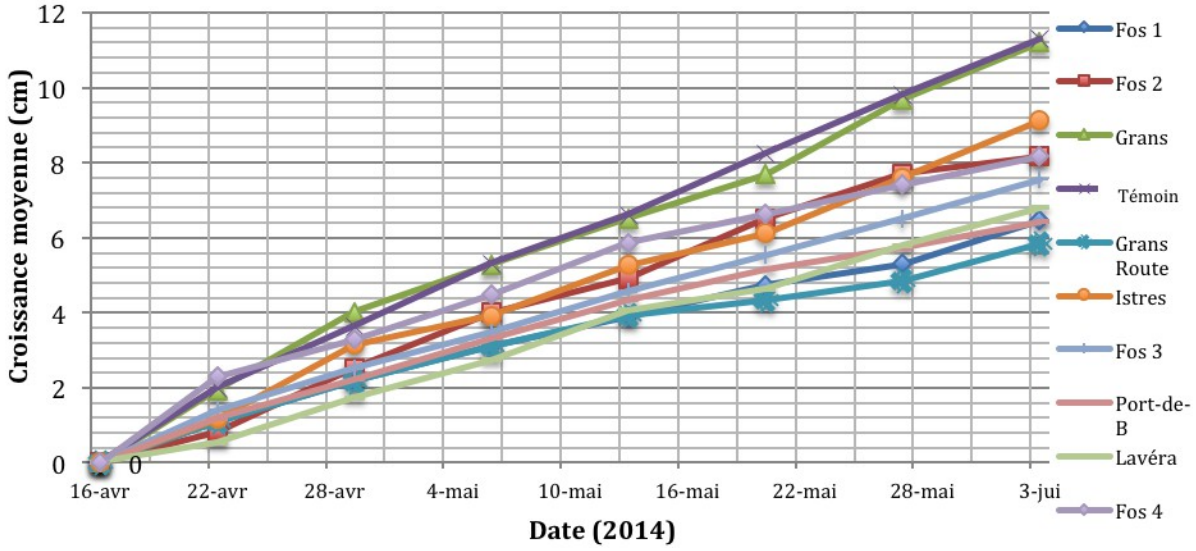


Figure 8 : Evolution de la croissance moyenne suivant les stations d'étude.

En étudiant plus précisément les éléments de croissance, un accroissement plus important au sein de certaines stations prises en compte est observé. C'est ainsi que la station témoin, similairement à la seconde station située à Grans, présente une évolution bien supérieure par rapport à toutes les autres stations atteignant en fin d'échantillonnage une croissance moyenne totale de 11,3 cm pour la station témoin, et de 11,2 cm pour la station de Grans représentant ainsi pour cette dernière une croissance étant seulement 0,71 % plus faible que la station témoin.

La station établie à Istres présente également une croissance assez importante en comparaison aux autres stations d'étude, avec un développement total de 9,11 cm caractérisant une valeur 19,18 % plus faible que la valeur témoin.
A l'opposé, plusieurs sites nous indiquent un taux de croissance assez faible par rapport aux autres et plus précisément en comparaison avec le témoin. La station caractérisant le taux de croissance le plus faible après 7 semaines de culture est la station Grans-Route exposée à proximité de l'autoroute, la réduction de croissance par rapport au témoin est de 48,14 %, atteignant ainsi en fin de période expérimentale un développement total moyen de 5,85 cm par plant. Les stations de Port-de-Bouc, Fos 1 et Lavéra avec une croissance totale avoisinant les 6 cm ont montré un accroissement également très faible étant respectivement de 43,11 %, 42,85 % et 39,86 % plus faibles que la station témoin localisée à Grans.

Les résultats obtenus, en testant statistiquement les paramètres physiologiques détaillés dans les résultats à l'aide des tests de Mann-Whitney et en comparant toute nos stations deux à deux, sont présent en **Annexe 5**. Ici, les tests statistiques de la croissance moyenne de tous nos sites d'étude face à la croissance moyenne de la station témoin à trois temps différents (**Figure 9**) permettent, d'une part, d'observer plus précisément l'hétérogénéité de nos différentes valeurs de croissances moyennes observées à l'aide de la **figure 8** mais, d'autre part, de mettre en évidence les différences significatives de cette croissance moyenne en début, milieu et fin d'étude par rapport au témoin.

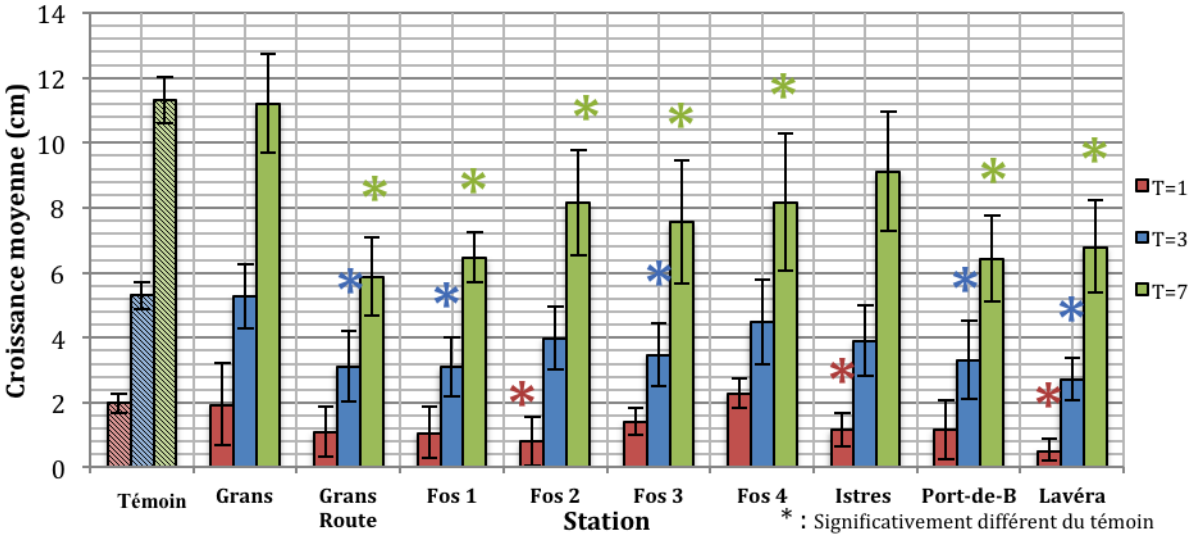


Figure 9 : Comparaison statistique des croissances moyennes des différentes stations à T=1 semaine, T=3 semaines et T=7 semaines. n=6, p<0,05.

En début d'étude à T=1 semaine, seules les stations de Lavéra, Istres et Fos 2 présentent une différence statistique plus faible de la croissance moyenne face à celle du témoin, alors que tous les autres sites considérés ont statistiquement un développement identique après une seule semaine d'exposition respective.

En observant les résultats après T=3 semaines d'exposition, les stations d'étude de Port-de-Bouc, Fos 3, Fos 1 et Grans-Route se rajoutent à celle de Lavéra pour témoigner d'une croissance significativement plus faible en comparaison avec la station témoin. A ce pas de temps, les stations de Grans, Fos 2, Fos 4 et Istres ne présentent aucune différence significative vis-à-vis de ce paramètre morphologique.

Enfin, à T=7 semaines d'exposition, il est intéressant de relever le fait que, d'une part, la station témoin présente la croissance la plus importante en fin d'étude avec un accroissement de 11,28 cm et, d'autre part, que seules les stations Grans et Istres ne présentent aucune différence significative au niveau de la croissance moyenne des plants. Toutes les autres stations prises en compte dans l'étude attestent d'une différence significative de la croissance par rapport au témoin.

III.2. Evolution générale moyenne du diamètre des fleurs

En 1994, Pleijel et son équipe ont pu mettre en avant une réponse morphologique importante du diamètre des fleurs face à une exposition à des polluants tels que les COV. La prise de données hebdomadaire de dix fleurs par plant permet d'observer l'évolution du diamètre moyen des fleurs par station tout au long des sept semaines d'exposition (**Figure 10**).

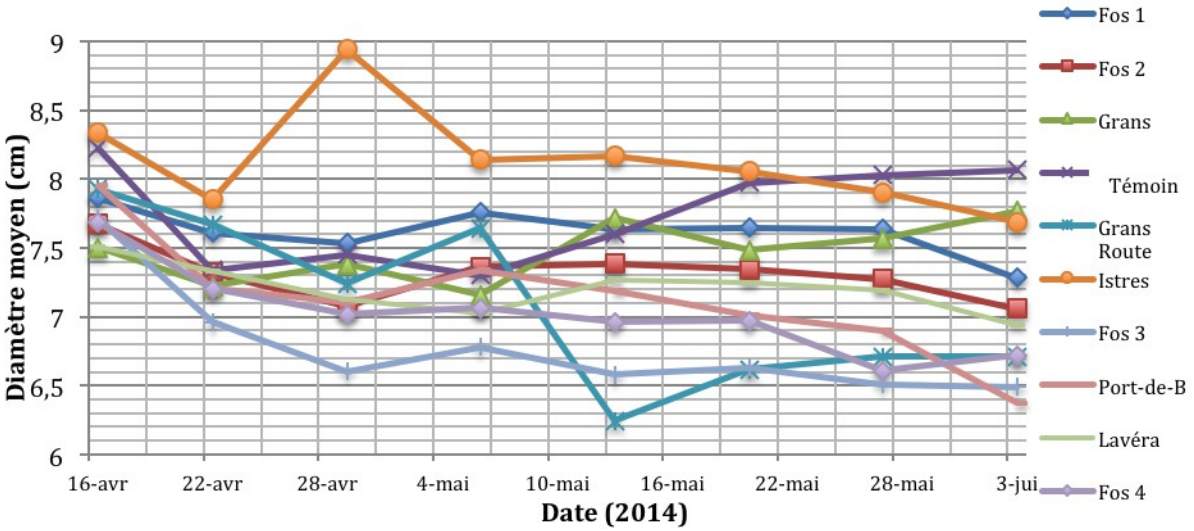


Figure 10 : Evolution du diamètre moyen des fleurs suivant les stations d'étude.

Les diamètres étant compris entre 7,5 et 8,3 cm en début d'étude se retrouvent beaucoup plus irréguliers en fin d'échantillonnage. En effet, la station témoin présente le diamètre moyen de fleurs le plus important avec une moyenne de 8,1 cm par plant. Similairement aux résultats obtenus pour la croissance moyenne, les stations Grans ainsi que Istres présentent un diamètre moyen de fleur proche du témoin étant respectivement de 7,8 cm et 7,7 cm. Le diamètre moyen le plus faible obtenu en fin d'étude est enregistré à la station située sur le port de Port-de-Bouc avec une valeur moyenne de 6,38 cm en fin d'étude. Suivi de près par la station de Fos 3 et de Fos 4 avec respectivement un diamètre moyen de 6,5 et 6,7 cm. A noter que la station de Grans située à proximité de l'autoroute possède un diamètre floral moyen de 6,7 cm en fin d'expérience. Il est intéressant d'observer ici que lors de l'étude, le diamètre moyen de cette station à fortement chuter du 6 mai au 20 mai avec un minima de 6,28 cm.

Les résultats des diamètres des fleurs obtenus pour toutes les stations d'étude, en comparant statistiquement le diamètre moyen des fleurs avec le témoin, sont reportés dans le même graphique regroupé en trois temps différents, T=0, T=3 et T=7 semaines d'exposition

(**Figure 11**). Cela permet de visuellement mettre en évidence l'évolution hétérogène des différents diamètres démontrés par la **Figure 10**.

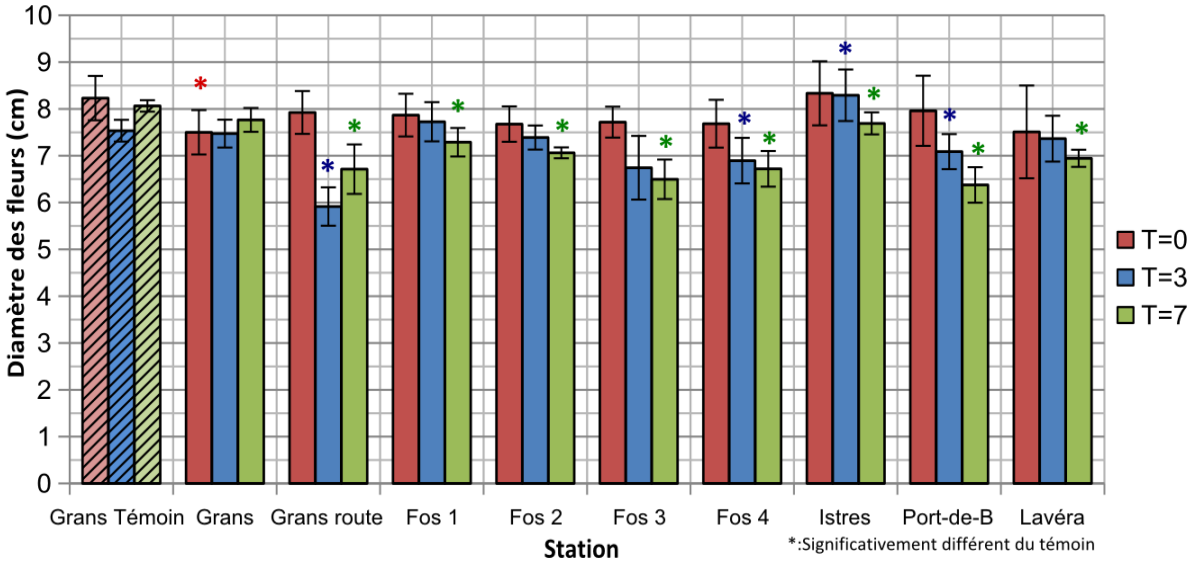


Figure 11 : Comparaison statistique du diamètre moyen des fleurs des différentes stations à T=1 semaine, T=3 semaines et T=7 semaines. n=6, P<0,05

Le détail de ces résultats montre que le début d'étude est marqué par seulement une station présentant un diamètre moyen de ses fleurs significativement plus faibles que le témoin, avec une variation de 8,87 % par rapport à la station témoin.

A T=3 semaines d'exposition, 4 stations (Grans route, Fos 3, Fos 4 et Port de Bouc) présentent une réduction significative du diamètre des fleurs par rapport au témoin. La diminution de leur diamètre moyen est de 21,47 % pour Grans-Route, 10,47 % pour Fos 3 ainsi que 8,46 % pour Fos 4. Ces stations, situées à proximité de la ZIP de Fos, semblent avoir été impactées par les émissions polluantes des industries et du trafic routier et maritime importants sur la zone. Par ailleurs, la station Grans ne présente plus de différence significative par rapport au témoin. A noter qu'à ce même temps d'exposition, la station d'étude à Istres présente un diamètre moyen significativement plus important de 10,12 % que le témoin.

Après 7 semaines de culture, les résultats attestent d'une différence par rapport au témoin bien plus marqué. A T=7 semaines, la station témoin présente le diamètre moyen de fleurs le plus important, seule la station Grans ne présente pas de différence significative. Avec un diamètre moyen légèrement plus faible de 4,59 %, il est suffisant pour que la station positionnée à Istres soit statistiquement plus faible que les plants témoins.

Cette absence de différences significatives est en partie expliquée par de faibles écarts-types, caractérisant un diamètre homogène des fleurs mais aussi des mesures certainement de qualités et réalisées de manière répétable et cohérente.

Toutes les autres stations, exposées à des niveaux plus élevés en polluants (ZIP de Fos et Lavéra, proximité axes routiers importants), présentent une taille de fleur significativement plus faible par rapport à celle des plants témoin avec comme diamètre moyen minimum les stations Port de Bouc et Fos 3 avec une valeur moyenne étant respectivement de 20,9% et 19,4 % plus faible. Malgré une très forte différence observable chez la station Grans route, le diamètre moyen diminue significativement par rapport au témoin de 16,73 %.

III.3. Evolution générale du nombre moyen de feuilles nécrosées

La mesure du nombre de feuilles nécrosées à été intégrée dans cette étude en tant que paramètre morphologique précurseur pour une étude de la pollution atmosphérique à l'aide de *Petunia hybrida*. L'évolution du nombre moyen de feuilles nécrosées (**Figure 12**) montre en premier lieu que la majorité des stations possèdent en moyenne entre 0 et 15 feuilles nécrosées par plant et par station en fin d'expérience.

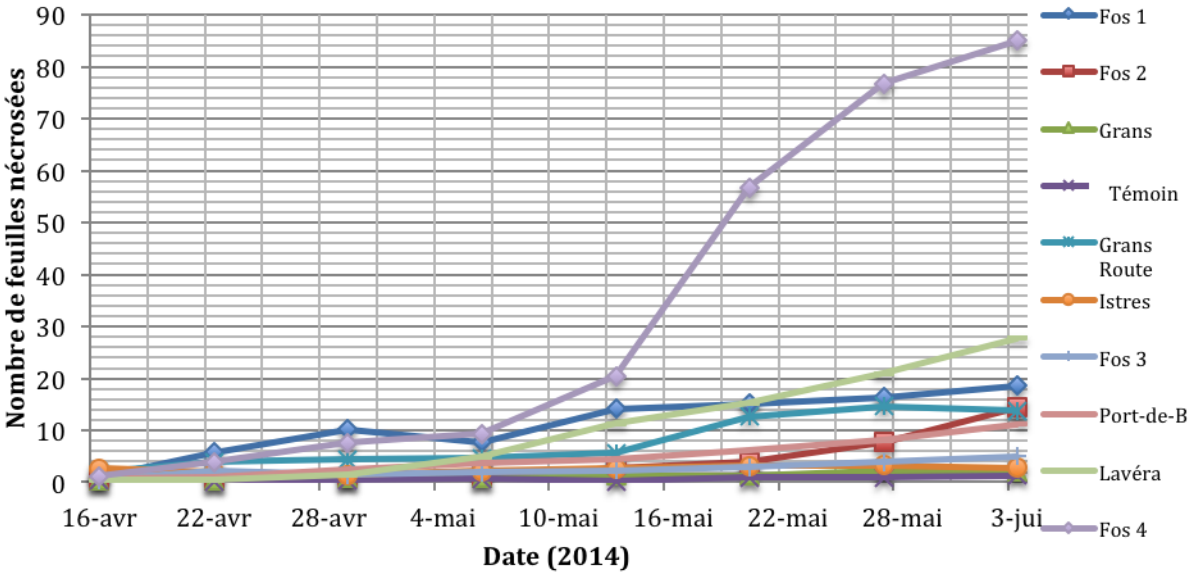


Figure 12 : Evolution du nombre moyen de feuilles nécrosées suivant les stations d'étude.

La station Fos 4 se retrouve avec un nombre de feuilles nécrosées très important par rapport aux autres stations considérées ici, à hauteur de 84,8 feuilles nécrosées par plant à T=7 semaines d'exposition, témoignant d'une nécrose de la quasi totalité des feuilles de chacun des six plants exposés au sein de ce site d'étude. La station présente à proximité de Lavéra, avec un nombre moyen de 27,6 feuilles nécrosées par plant, présente le deuxième taux le plus important de feuilles nécrosées.

Il est également à noter que la station témoin se distingue par une moyenne de feuilles nécrosées la plus faible, à hauteur de 1,2 feuilles nécrosées par plant en fin d'échantillonnage. Une valeur non loin de l'autre station présente à Grans avec un nombre moyen de 2 feuilles nécrosées par plant en fin d'étude. Ce résultat met en évidence des altérations dans le développement des plants de Pétunia cultivés à proximité de la zone industrialo-portuaire.
Les différences statistiques du nombre total moyen de feuilles nécrosées pour les différentes stations en fonction du témoin est présenté en **Figure 13**.

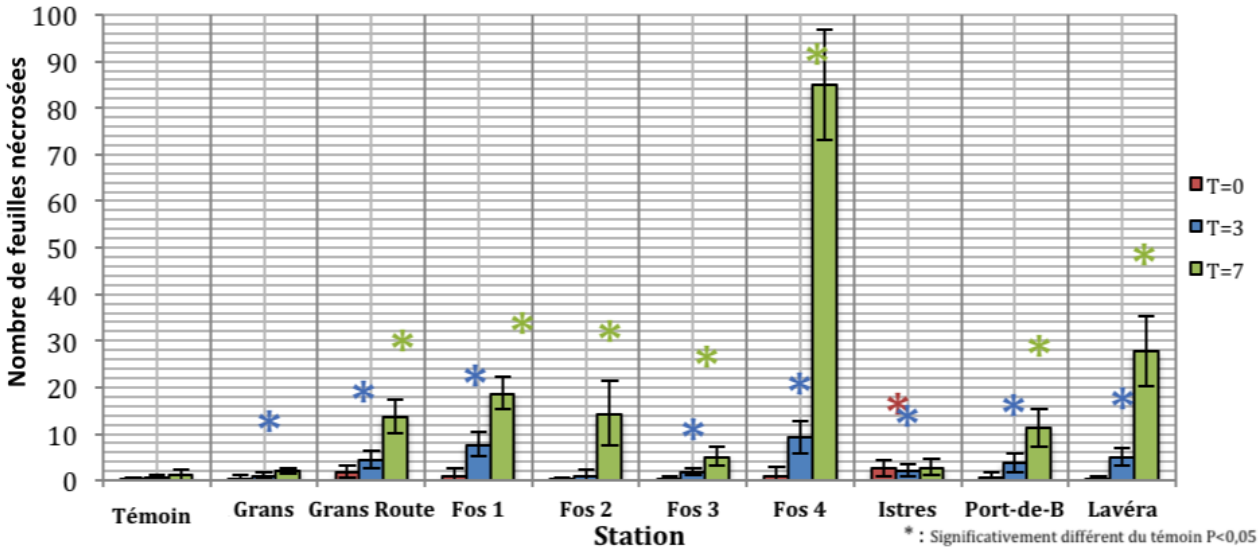


Figure 13 : Comparaison statistique du nombre moyen de feuilles nécrosées des différentes stations à T=1 semaine, T=3 semaines et T=7 semaines. n=6, p<0,05

A T=0 semaine d'exposition, seulement la station Istres présente un nombre moyen de fleurs nécrosées significativement différent du témoin et peut ainsi amener un biais dans l'analyse de ces résultats pour cette station. Après un temps d'exposition de trois semaines, il est intéressant de noter qu'une évolution est observable au niveau du nombre total de feuilles nécrosées suivant les stations. Même si les valeurs du nombre de feuilles nécrosées restent faibles, à T=3 semaine d'exposition, toutes les stations sont significativement différentes du témoin à l'exception de la station Fos 2. Après 7 semaines d'exposition, seules les stations de Grans (2 feuilles nécrosées en moyenne) et Istres (2,7 fleurs nécrosées en moyenne) ne sont pas significativement différentes du témoin. Les valeurs très importantes pour la station Fos 4 dévoilées par la **Figure 12** montrent un résultat statistiquement différent de cette station comparé à tous les autres sites d'étude.

III.4. Evolution générale du nombre moyen de boutons viables

L'étude de la phase de préfloraison des plants de Pétunias est mise en avant par le paramètre physiologique concernant le nombre total moyen de boutons floraux viables suivant les stations d'étude considérées. L'évolution du nombre de boutons floraux viables durant les 7 semaines d'exposition (**Figure 14**) laisse apparaître un total, en fin d'étude, supérieur à plus de 50 boutons viables en moyenne pour une grande majorité de nos stations (Témoin, Fos 1, Fos 2, Fos 4, Grans, Istres, Grans-Route, Port-de-Bouc) pour un maxima de 69 boutons moyen total pour la station Port-de-Bouc.

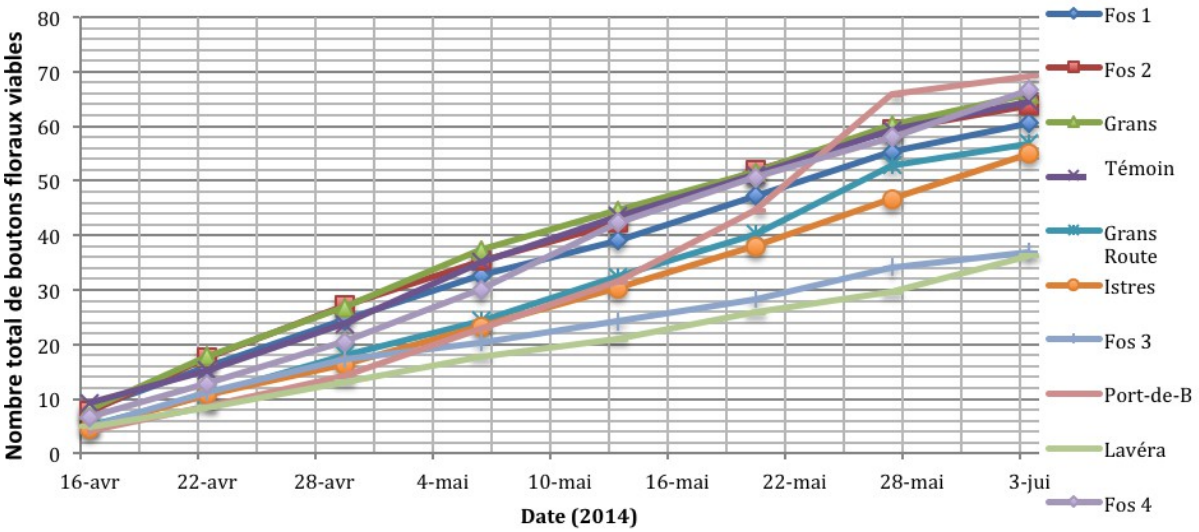


Figure 14 : Evolution du nombre total moyen de boutons floraux viables suivant les stations d'étude

A contrario, les stations Lavéra et Fos 3 présentent une valeur totale en fin d'étude bien plus faible par rapport à toutes les autres stations mais également notre témoin (64,5 boutons moyen au total en fin d'étude) avec respectivement un total moyen de 36,1 et 37 boutons floraux viables.

Les résultats concernant le nombre total de boutons viables pour toutes les stations d'étude en comparant statistiquement le nombre moyen avec le témoin à T=7 semaines d'exposition (**Figure 15**) permettent de, visuellement, mettre en évidence l'évolution des différentes valeurs illustrées par la **Figure 14**. Les différences observées pour nos paramètres précédemment détaillés (**Figure 9, 11 et 13**) sont moins visibles pour les boutons floraux en fin d'exposition. En effet, avec une valeur témoin de 64,5 boutons floraux viables en fin d'étude, les stations d'Istres (54,8), Lavéra (36,6) et Fos 3 (37) présentent alors une différence révélée par les tests statistiques.

Les autres stations considérées ayant une valeur comprise dans un intervalle de 56,8 boutons moyens (Grans-Route) et 69,1 (Port-de-Bouc) ne présentent aucune différence statistique en comparaison avec notre témoin.

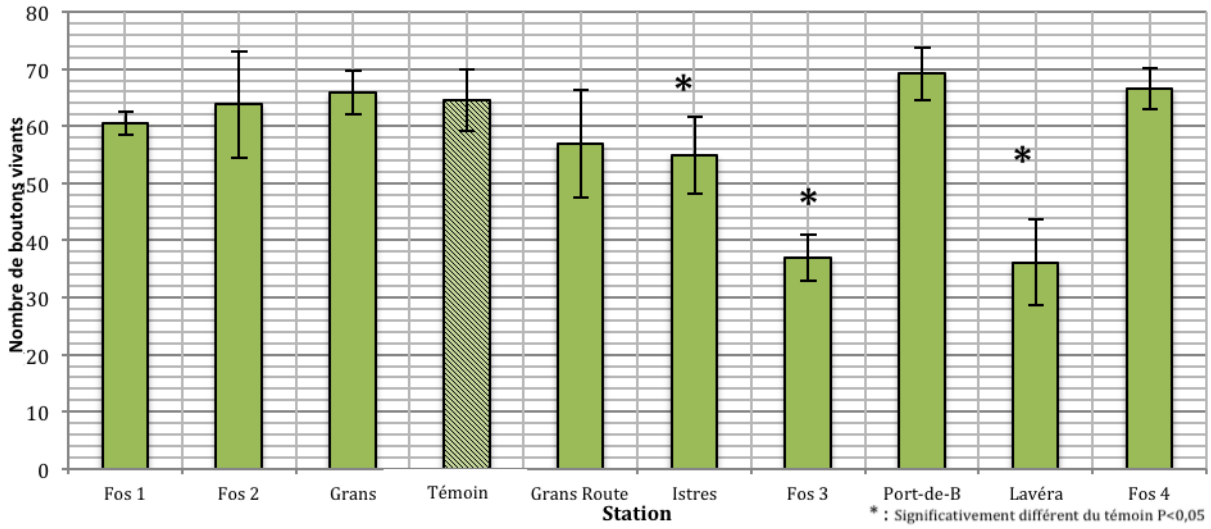


Figure 15 : Comparaison statistique du nombre total moyen de boutons floraux viables des différentes stations à T=7 semaines. n=6, p<0,05.

III.5. Etude du poids sec en fin d'étude

Les poids sec de chaque plant récolté en fin d'étude après sept semaines d'exposition sont moyennés par station et comparés statistiquement (**Figure 16**). Permettant ainsi de mettre en évidence que, comme pour l'étude de la croissance totale (**Figure 8 et 9**) et du nombre de feuilles nécrosées (**Figure 12 et 13**) seules les stations positionnées à Grans et Istres ne présentent pas une différence significative du poids sec face au témoin en fin de culture.

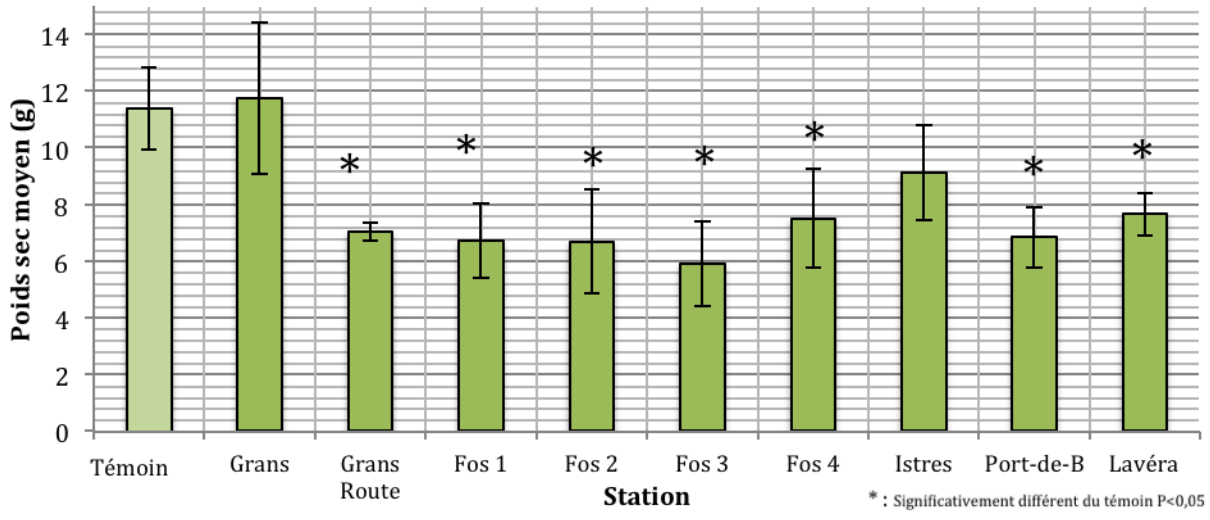


Figure 16 : Comparaison statistique du poids sec moyen des plants à T = 7 semaines. n=6, p<0,05.

Le poids sec moyen des plants témoins est de 11,3 g en fin de culture sensiblement identique à celui mesuré à la station de Grans, présentant une valeur moyenne de 11,7 g (3,18 % plus élevé que le témoin). De même, la station positionnée à Istres, malgré un poids moyen de 9,1 g (19,83% plus faible que celui du témoin), ne montre pas de différence significative. Similairement aux résultats obtenus pour l'analyse de la croissance moyenne et du nombre moyen de feuilles nécrosées après sept semaines d'exposition, l'ensemble des autres stations présentent des différences significatives avec les plants témoin en fin d'étude.

Les sept autres stations, positionnées à proximité des sites industriels de la ZIP de Fos et Lavéra, présentent une différence significative du poids sec moyen face au témoin allant de -34,0 % pour Fos 4 à -48,0 % pour Fos 3 portant respectivement les poids sec moyen à 7,5 g et 5,9 g par plant. Contrairement aux résultats obtenus sur la croissance (**Figure 9**), ce n'est pas la station Grans-Route (variation de 38,2 % par rapport au témoin) qui présente la différence de poids sec la plus élevée mais la station Fos 3. Les stations de Fos 1 et Fos 2 se distinguent également par une différence supérieure à 40 % avec respectivement un poids moyen 40,8 % (6,7 g) et 41,3 %(6,7 g) plus faible que le témoin.

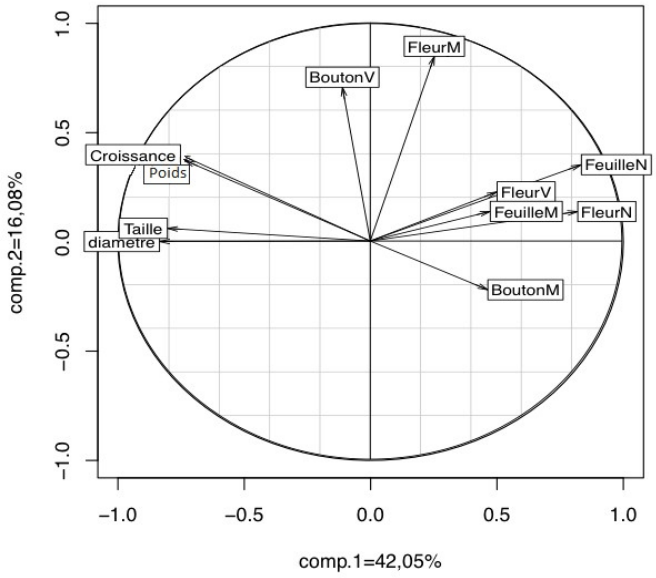
PARTIE IV. DISCUSSION

IV.1. Un témoin validé

L'étude des différents paramètres détaillés dans les résultats laisse apparaître un développement physiologique optimal pour les plants témoins cultivés en périphérie de Grans en zone rurale. En effet, cette station témoin a été déterminée et privilégiée en fonction de sa distance importante aux différentes sources de contaminations potentielles. Localisée en milieu rural, elle est la station la plus éloignée de toute source industrielle ou urbaine parmi toutes les stations à l'étude. Il s'avère ainsi, qu'après examen des résultats, que cette station présente la croissance, le diamètre des fleurs et le nombre moyen de feuilles les plus importants en comparaison avec toutes les autres stations d'étude. Ces paramètres, utilisés comme indicateur de l'impact des COV sur les Pétunias (Pleijel et al., 1994 ; Underwood et al, 2005), mettent en évidence une exposition relativement plus faible de cette station aux émissions de COV industrielles ou routières. La deuxième station localisée à Grans, montre des paramètres physiologiques faiblement impactés, un poids sec moyen en fin d'étude supérieur à celui mesuré dans la station témoin et confirme ainsi la faible exposition de la commune de Grans aux pollutions atmosphériques d'origine anthropique ainsi que la qualité de station témoin attribuée à la station située en zone rurale sur la commune de Grans.

IV.2. Réponse physiologique des Pétunias et pollution atmosphérique

Une ACP a été effectuée sur les dix stations d'étude pour mettre en évidence les relations existantes entre les individus de chaque station et les variables à l'aide du cercle de corrélation et de la projection des points (**Figure 17**).



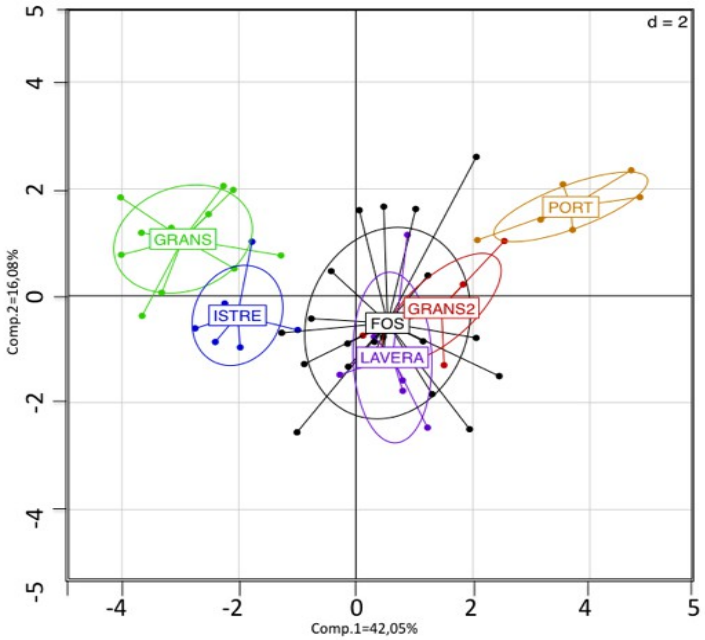


Figure 17 : Cercle de corrélation et projection sur le plant factoriel des individus en intégrant leur localisation. .n=60.

Sont pris en considération, ici, les onze paramètres morphologiques mesurés tout au long de la période expérimentale (**Tableau 3**).

Tableau 3: Paramètres morphologiques pris en compte dans l'ACP

Diamètre	Diamètre moyen en fin d'étude
Taille	Taille moyenne en fin d'étude
Poids	Poids sec moyen en fin d'étude
Croissance	Croissance totale moyenne en fin d'étude
BoutonV	Boutons viables moyens en fin d'étude
FleurM	Fleurs fanées moyennes en fin d'étude
FeuilleN	Feuilles nécrosées moyennes en fin d'étude
FleurV	Fleurs vivantes moyennes en fin d'étude
FeuilleM	Feuilles mortes moyennes en fin d'étude
Fleur N	Fleurs nécrosées moyennes en fin d'étude
BoutonM	Boutons avortés moyens en fin d'étude

Les deux premiers axes de cette analyse permettent d'expliquer 58,1 % de la variance. Le premier axe avec une valeur de 46,1 % permet de distinguer les individus de chaque station ayant eu, d'une part, une bonne croissance générale caractérisée par un diamètre des fleurs, une croissance, une taille ainsi qu'un poids sec important et, d'autre part, une croissance générale marquée par de nombreuses modifications morphologiques (Feuilles/Fleurs nécrosées, feuilles mortes et boutons avortés).

Ainsi, le cercle de corrélation met en évidence des niveaux logiquement élevés de corrélation entre la croissance moyenne totale et le poids sec moyen en fin d'étude et entre la taille des plants et le diamètre des fleurs. Pour déterminer l'influence des variables sur les individus, les individus ont été projetés sur le plant factoriel en fonction de leur localisation (**Figure 17**).

L'analyse de ces résultats laisse apparaître en premier lieu un isolement de certaines stations. En effet, les stations de Grans et Istres sont regroupées et bien différenciées des autres stations. En couplant cette analyse au cercle de corrélation, il apparaît que celles-ci sont corrélées positivement aux paramètres physiologiques et mettent ainsi en évidence de plus faibles perturbations des plants de *Petunia hybrida* sur ces stations éloignées de toutes sources anthropiques de contamination (industrie, trafic, urbaine). Par ailleurs, la station de Port-de-Bouc est elle aussi excentrée des autres stations et corrélée négativement aux paramètres physiologiques. Ce résultat met en évidence d'importantes altérations physiologiques dans le développement des Pétunias sur cette station. En 2014, Gonzalo et son équipe ont pu mettre en évidence un stress génétique sur *Pétunia hybrida* induit par une concentration élevée en sodium impactant le développement morphologique chez cette plante. La station Port-de-Bouc se situant à quelques mètres de la mer, nous pouvons nous demander si les modifications physiologiques observées sur cette station ne sont pas amplifiées par les embruns marins. Cependant, en observant les tests statistiques comparant la station Port-de-Bouc à toutes les stations à l'étude (**Annexe 5**), il s'avère que pour les paramètres physiologiques (à T=7 semaines d'exposition) croissance, poids sec, feuilles nécrosées et diamètres floraux, aucune différence significative n'est observée entre la station Port-de-Bouc et les stations Fos 3 et Grans-Route étant très éloignées d'une quelconque exposition aux embruns marins. Ce qui semble alors indiquer que cette zone est vraisemblablement exposée à une pollution atmosphérique importante. En effet, il s'agit d'une commune située entre le complexe pétrochimique de Lavéra et la ZIP de Fos et traversée par la RN 568 qui abrite un trafic dense tout au long de la journée.

Il est également très intéressant de noter que tous les plants de Pétunias cultivés sur des communes industrielles (Fos-sur-Mer et Lavéra) sont regroupés et isolés des autres stations d'étude. Leur projection sur le plan factoriel met en évidence une altération des paramètres physiologiques moins marquée que pour les Pétunias cultivés à Port de Bouc. De même, la station de Grans, intitulée ici Grans 2, située à proximité de l'autoroute, est regroupée avec les deux stations précédentes, ce qui met en avant un développement et une croissance des Pétunias perturbés sur cette station.

Ainsi, la station de Port de Bouc cumulant pollution routière et industrielle présente la plus forte altération dans le développement du Pétunia et semble donc être la station la plus exposée aux COV atmosphériques.

Après avoir confronté les deux stations rurales les moins exposées, il est très intéressant d'intégrer la station présente à Istres. En effet, l'enjeu autour de cette station était très important dans cette étude. Avec son exposition urbaine, mais encore éloignée de toute exposition industrielle, cette station localisée à Istres représente une véritable transition entre les deux stations rurales de Grans et les autres stations positionnées en zone industrielle. Il s'avère ainsi, en observant les résultats en fin d'étude pour les différents paramètres étudiés, que cette station présente des performances légèrement plus faibles concernant la croissance moyenne par plant, le poids sec moyen et le diamètre des fleurs en fin d'étude en comparaison à la station témoin (ainsi que la deuxième station de Grans). De même pour l'étude du nombre de feuilles nécrosées moyen qui présente également un chiffre que très légèrement supérieur de feuilles nécrosées face aux stations de Grans. Cependant, ces variations ne sont pas significatives et permettent de conclure que la station d'Istres semble peu exposée aux polluants qui agissent sur le développement des Pétunias.

IV.4. Une réponse physiologique différente en fonction de l'exposition

Les résultats permettent ainsi de distinguer le fait que les stations ayant l'exposition potentiellement la plus faible en COV présentent le meilleur développement physiologique des plants de Pétunias en comparaison avec les stations les plus fortement exposées situées sur les communes de Lavéra, Fos-sur-Mer ou Port-de Bouc.

En effet, plusieurs études (Abeles, 1973 ; Underwood et al, 2005 ; Singh et Tripathi, 2007 ; Yang et al, 2007) mettent en évidence un effet important des COV et plus particulièrement de l'éthylène sur les plants de par augmentation de la senescence des feuilles, accélération de la maturation des fleurs et diminution de la croissance générale. La croissance générale (présentée dans notre étude par les paramètres poids sec et croissance totale) ainsi que la senescence des feuilles détaillée dans nos résultats attestent d'un impact plus important et observable dans des zones ayant une exposition industrielle, routière et urbaine importante témoignant ainsi d'une contamination en COV potentiellement plus forte. Un impact plus faible observé chez la station Istres, mais moins important que les stations localisée au plus loin de la ZIP de Fos-sur-Mer, nous permet, d'une part, d'observer un impact transitoire entre

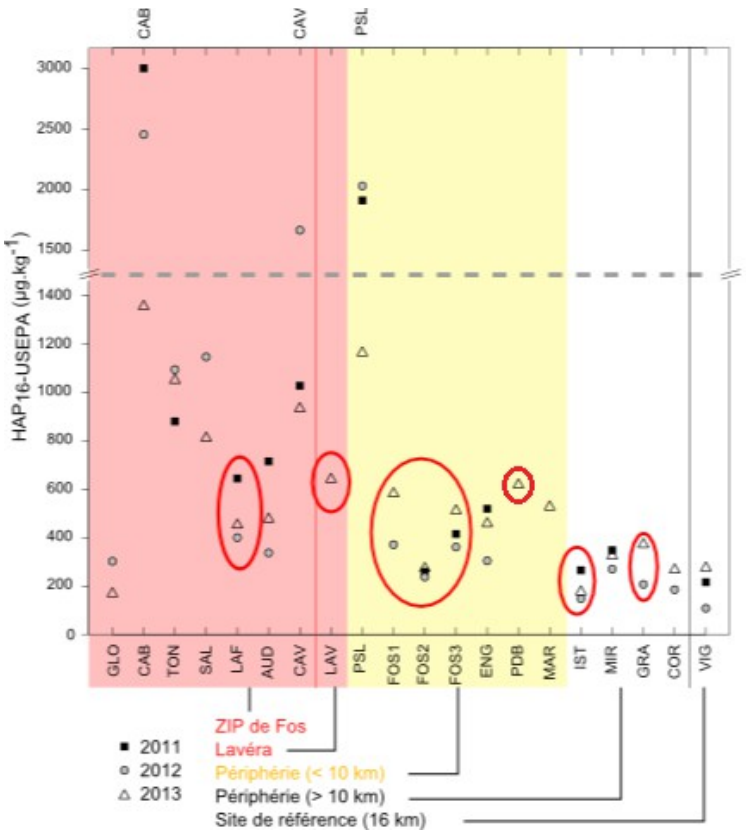
une zone exposée industriellement et une autre urbaine mais, d'autre part, de mettre en avant l'impact certain de la ZIP de Fos sur le développement de *Pétunia hybrida*.
L'accélération de la maturation des fleurs, caractérisée dans cette étude par une diminution du diamètre floral générée par une éclosion plus rapide des fleurs (Pleijel et al, 1994) témoigne des mêmes conclusions. Les plants exposés dans des zones ayant une exposition en COV hypothétiquement plus élevée présentent un diamètre floral plus faible en comparaison aux stations ayant une exposition vraisemblablement plus faible. Ces résultats témoignent ainsi d'un impact physiologique post-floraison sur les organes reproducteurs des Pétunias, caractéristique de l'effet de l'éthylène (Rudolph, 1977). C'est pour cela que l'absence d'un impact physiologique en phase de préfloraison expliquerait, selon toute vraisemblance, les résultats obtenus pour notre paramètre prenant en compte le nombre de boutons floraux viables. En effet, aucune différence significative avérée entre le nombre total de boutons floraux de notre témoin et les stations exposées à une contamination en polluants atmosphériques importante n'a été observée. L'impact de l'éthylène sur les bouton floraux de Pétunias se traduit généralement par un avortement de ces derniers (Pleijel et al, 1994). Ceci étant en accord avec d'autres résultats observés lors de cette étude (**Annexe 4**) témoignant d'un nombre significativement plus élevé de boutons floraux avortés dans des zones industrielles que dans des zones rurales.

La station Grans-Route, ayant la caractéristique de se trouver en milieu rural mais à une centaine de mètres d'une voie autoroutière, témoigne, après sept semaines de culture, d'une différence significativement plus faible des paramètres croissance, poids sec, feuilles nécrosées et diamètre floral en comparaison à nos plants témoins ainsi que ceux cultivés à Istres. La station Grans-Route est donc significativement différente des sites d'études ayant obtenu les meilleures performances au niveau du développement physiologique, mais elle est surtout statistiquement différente des localités ou l'exposition en COV est potentiellement faible. De ce fait, la comparaison avec les stations ayant une exposition potentiellement forte en COV, due à la proximité de la ZIP de Fos ou Lavéra, montre de nombreuses analogies. Les stations Fos 1 et Port-de-Bouc ne présentent aucun paramètre morphologique statistiquement différent en fin d'étude en comparaison avec la station Grans Route (**Annexe 5**). Ces résultats mettent en évidence une similitude plus marquée de la station Grans-Route avec les sites potentiellement exposés à une pollution atmosphérique en COV. Corroboré par l'ACP, témoignant d'une modification physiologique chez Grans-Route comparable aux stations de Fos et Lavéra ayant une contamination en COV hypothétiquement plus importante. A noter que le faible nombre d'échantillons de la station Grans-Route (6), comparé aux stations Fos (24), ne nous permet pas de faire une comparaison statistiquement réellement pertinente.

Cependant, à la vue des résultats, cette réponse pourrait devenir un nouvel axe de recherche essayant de caractériser la réponse des Pétunias face à une exposition industrielle forte comparée à une contamination routière importante.

IV.5. Niveau d'exposition aux polluants atmosphériques

Ainsi, ces résultats mettent en évidence la réponse physiologique des Pétunias en fonction de l'exposition potentielle aux COV à laquelle ils sont soumis. Cette étude ne permettant pas de mesures précises de la qualité de l'air et plus exactement du niveau de COV et d'éthylène atmosphérique à proximité des stations, il est difficile de faire un lien incontestable entre les effets morphologiques observés sur les Pétunias et la concentration atmosphérique en COV. C'est pour cela que les niveaux de pollution sont considérés ici comme hypothétiques, en fonction de leur exposition industrielle et/ou urbaine et/ou routière. Cependant, une étude réalisée récemment par l'Institut Ecocitoyen, concernant une biosurveillance environnementale (bioindication et bioaccumulation) par les lichens sur le territoire de Ouest-Provence, permet d'évaluer qualitativement l'exposition de ces stations aux HAP (**Figure 18**) (Dron et al, 2014). Ainsi, les résultats de bioaccumulation des HAP dans les lichens mettent en évidence une exposition à ces polluants plus importante sur les stations situées dans la ZIP de Fos ou Lavéra ou à proximité. C'est le cas des stations à Fos-sur-Mer, Lavéra et Port de Bouc. Cette dernière station présente la plus importante accumulation d'HAP dans les lichens, elle est aussi la station où les Pétunias présentent les plus fortes perturbations physiologiques. Ce constat semble donc mettre en évidence que les stations à proximité de la ZIP de Fos-sur-Mer présentent une exposition en polluants atmosphériques ainsi que la pertinence de l'utilisation du *Petunia hybrida* comme bioindicateur de la pollution atmosphérique en COV.



Station	Correspondance avec nos stations d'étude
GRA	Grans
IST	Istres
Fos 1	Fos-sur-Mer
Fos 2	
Fos 3	
LAF	Fos 4
PDB	Port-de-Bouc
LAV	Lavéra

Figure 18 : Teneur en HAP présente dans les lichens de vingt stations du territoire Ouest-Provence en 2011, 2012 et 2013 et relation avec nos stations d'étude de bioindication par pétunia hybrida.

IV.4. VOCE, un outil efficace pour l'observation du territoire

L'utilisation du réseau de volontaires VOCE c'est avéré être un outil indispensable concernant la prise de données nécessaire à ce type d'étude. Essayant de représenter un territoire de plus de 355 km^2, l'échantillonnage dédié à cette étude ne pouvait être concevable qu'avec la participation et l'implication d'une équipe importante. Et ce sont les volontaires du réseau VOCE qui ont constitué cette équipe, portant l'étude sur la bioindication de la pollution atmosphérique du territoire par *Pétunia hybrida* à son terme.

Couvrant un panel de 6 villes différentes, pour un total de 10 stations et 8 volontaires, cette étude a pu tirer les avantages apportés par des volontaires impliqués et en recherches d'informations et de réponses sur l'état écologique de leur propre environnement.

Le temps dédié à l'échantillonnage propre à toutes les stations, évalué à une heure en moyenne par station, rend inconcevable la réalisation de 10 échantillonnages le même jour permettant une cohérence scientifique certaine.

D'autre part, l'implication et la pertinence de l'utilisation de ce réseau pour la prise de données dans cette étude ne se résument pas simplement par un volontariat au sein de VOCE, mais par la détermination à réaliser un échantillonnage scientifiquement rigoureux. Chaque volontaire étant assidument formé en début d'étude, des contrôles sporadiques réalisés sur la majorité des stations à l'étude témoignent d'une prise de données efficace et applicable à un traitement scientifique. A noter que, sur un nombre de 8 volontaires (deux stations étant échantillonnées par le rédacteur de cette étude (Fos 4 et Grans-Route), 5 stations ont eu la possibilité d'être contrôlées (**Tableau 4**).

Tableau 4 : Données des volontaires comparées au contrôle à une semaine d'exposition aléatoire.

	29/04/14		06/05/14		27/05/14		20/05/14		20/05/14	
	Fos 1	**Contrôle**	**Fos 2**	**Contrôle**	**Fos 3**	**Contrôle**	**Témoin**	**Contrôle**	**Grans**	**Contrôle**
Feuilles mortes	0,66	0,66	1,33	1,33	2,83	3,33	6,33	6,5	0,33	0,33
Feuilles nécrosées	10,16	10	1,17	1,5	3,83	4,16	0,83	0,83	1,5	1,67
Boutons floraux viables	8,66	8,66	8,16	8,16	6,16	6,16	7,66	7,66	7	7
Boutons floraux avortés	0	0	1	1,16	0	0	0	0	0,33	0,17
Nombre de fleurs fraiches	8,16	8,16	14,47	14,47	9,83	9,83	7,16	7,16	9,5	9,5
Nombre de fleurs fanées	2	2	1,67	1,67	6,33	6,33	6,67	6,83	12,7	12,7
Nombre de fleurs nécrosées	0,66	0,83	0	0	1,66	1,83	0,33	0,33	0,2	0,2
Longueur de la tige principale	14,33	14,3	16,82	16,94	18,05	18,18	20,46	20,47	17,42	17,31
Diamètre floral	7,54	7,41	7,39	7,43	6,51	6,47	7,97	7,89	7,48	7,53

Ces différents contrôles mettent en évidence la qualité de l'échantillonnage effectué par les volontaires. En effet, pour le décompte de boutons floraux viables ou de fleurs vivantes, aucune différence n'est observée entre le contrôle et le relevé réalisé par le volontaire. Pour les autres paramètres, une rare différence est discernable pour certaines stations, allant d'une différence de quelques millimètres, pour la longueur de la tige principale ou le diamètre floral, à un oubli de un ou deux individus concernant les autres paramètres, rendant le pourcentage d'erreur très faible en moyennant avec les six pots propres à chaque station.

Les volontaires du réseau VOCE sont un atout indéniable pour une prise de données scientifique propre à cette étude, permettant à la fois une représentation scientifiquement valable du territoire, mais également l'obtention d'une quantité de données suffisante pour évaluer l'exposition des communes du territoire aux émissions d'éthylène d'origine industrielle, urbaine et routière pour ainsi réaliser une biosurveillance environnementale de la qualité de l'air sur l'ensemble du territoire Ouest-Provence.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

L'apport vers l'atmosphère en polluants par les activités humaines impacte durablement les écosystèmes continentaux en ayant conjointement un effet sanitaire pouvant devenir potentiellement inquiétant. Ainsi, l'évaluation de l'impact et du niveau d'exposition en polluants atmosphériques, tels que les COV, induits par une émission industrielle, urbaine ou routière, reste complexe. Les données réalisées en mesure directe concernant les COV et plus précisément l'éthylène étant bien trop peu conséquentes, la biosurveillance par des espèces sensibles apparaît comme une démarche nécessaire pour une prospection s'intéressant aux différents niveaux de contamination de l'air en polluants. Ce travail se place donc dans un contexte de contamination atmosphérique visant à caractériser le niveau d'exposition induit par des activités anthropiques par une approche de bioindication, visant également à valider la pertinence d'un bioindicateur précis : *Pétunia hybrida.*

La particularité de cette étude est d'observer les effets physiologiques induits sur un bioindicateur au travers de 6 communes ayant un niveau d'exposition en polluants bien distinct, en reliant directement le niveau de COV atmosphérique en fonction des activités anthropiques de chaque zone considérée. Cette hétérogénéité du niveau de contamination se traduit d'une part par la distance séparant les communes d'une des plus grandes zones industrielles d'Europe et d'autre part en fonction de l'exposition urbaine et routière des différentes stations.

La bioindication par *Pétunia hybrida* permet de mettre en évidence une réponse différente en fonction des communes, et surtout en fonction du niveau d'exposition en polluants atmosphériques. De ce fait, les modifications physiologiques les plus importantes observables chez *Pétunia hybrida* sont directement reliées à des communes ayant à la fois la proximité la plus conséquente à la zone industrielle, mais également une contamination urbaine et routière omniprésente. C'est en s'éloignant de cette exposition industrielle que les modifications physiologiques observées chez cette plante bioindicatrice deviennent moins importantes. En observant une station située à une dizaine de kilomètres de la zone industrielle, il a été mis en évidence un impact sur les Pétunias, induit assurément par une pollution urbaine, mais ici significativement plus faible par rapport aux stations situées à proximité de la zone industrielle, témoignant alors d'une influence certaine de la ZIP de Fos-sur-Mer sur le bon développement de *Pétunia hybrida*.

Les analyses réalisées sur des stations d'études localisées en milieu rural, à plus d'une vingtaine de kilomètres d'une exposition industrielle, ont révélé un développement général plus important en comparaison à toutes nos stations considérées à l'étude, confirmant ainsi un état atmosphérique écologiquement de meilleur qualité, car beaucoup moins impacté par les émissions anthropiques.

La pertinence du choix de *Pétunia hybrida* comme bioindicateur, en premier lieu déterminé par une croissance, un développement foliaire et une floraison importante couplée à une mise en culture élémentaire s'est avérée plus robuste en faisant le lien entre une bibliographie scientifique existante établissant la sensibilité des Pétunias face à niveau d'exposition en COV comme l'éthylène et les réponses physiologiques observées dans cette étude. Ceci nous permet ainsi d'évaluer à la fois l'exposition des communes du territoire de Ouest-Provence en COV et éthylène d'origine industrielle, urbaine ou routière mais également de proposer *Pétunia hybrida* comme un candidat adéquat et efficace pour la biosurveillance environnementale de la qualité de l'air sur l'ensemble de ce territoire en y intégrant une approche éco-citoyenne.

Ces travaux ont permis de mettre en évidence une exposition différente en polluants atmosphériques sur cette intercommunalité par une approche de bioindication. La biosurveillance se déclinant en plusieurs outils de diagnostic environnemental, ces travaux pourront par exemple être couplés à une étude de bioaccumulation chez *Pétunia hybrida* pouvant donner plus de poids aux conclusions alors tirées de cette étude.
L'éthylène atmosphérique n'étant certainement pas le seul facteur influençant la croissance physiologique générale des Pétunias, il serait pertinent de confronter les résultats ainsi obtenus avec des mesures météorologiques hebdomadaires mais également avec des données reflétant le large panel de polluants atmosphériques présents dans cette zone géographique tels que l'ozone (0_3), le dioxyde de soufre ($S0_2$) ou les oxydes d'azote (NOx), données notamment disponibles par l'observatoire régional de la qualité de l'air (Air PACA).
Pour finir, l'Institut Ecocitoyen pour la Connaissance des Pollutions a décidé de reconduire cette étude de biosurveillance de la qualité de l'air à l'aide de *Pétunia hybrida* mais en y intégrant ici un échantillonnage direct des COV propres à chaque station d'étude permettant ainsi de réaliser une relation entre l'impact physiologique des Pétunias et les concentrations atmosphériques en COV.

BIBLIOGRAPHIE

Abeles F.B., 1973. Ethylene in plant biology. Academic Press.

Ackerly D.D., Bazzaz F.A., 1995. Plant-growth and reproduction along CO2 gradients nonlinear responses and implications for community change. Global change biology 1 : 199-207.

Agnan Y., Séjakon-Delmas N., Probst A., 2013. Comparing early twentieth century and present-day atmospheric pollution in SW France : A story of lichens. Environmental Pollution 172 : 139-148.

Asensio D. , Peñuelas J. , Ogaya R. , Llusià J. , 2007. Seasonal soil VOC exchange rates in a Mediterranean holm oak forest and their responses to drought conditions. Atmospheric Environment 41 : 2456-2466.

BASOL, 2014. Base de données sur les sites et sol pollués ou potentiellement pollués appelant à une action des pouvoirs publics, à titre préventif ou curatif. Ministère de l'Ecologie, du Développement Durable et de l'Energie. (www.basol.developpement-durable.gouv.fr).

Brophy N., Dore C., Hann M.R., Jackson J., King K., Murells T.P., Passant N., Thistlewaite G., Wagner A., 2007. Air quality polluant inventories for England, Scotland, Wales and Northern Ireland. Annual Report for submission under the UNECE-Convention on Long-Range Transboundary Air Pollution.

Casale R., 2006. Biosurveillance de la qualité de l'air dans la région d'Ajaccio : mise en œuvre de quelques protocoles et d'opérations de communication. Institut Universitaire de Technologie Génie Biologique

Caselles J., Colliga C., Zornoza P., 2002, Evaluation of trace element pollution from vehicule emissions in petunia plants. Water. Air, and Soil Pollution 136 : 1–9 .

Collins, C.D., Bell, J.N.B., 2002. Effects of volatile organic compounds. Air Pollution and Plant Life 22 :173–186.

Davranche L., Desailly G, Conseil P., Cuny D., 2009. Structure et aspects pédagogiques d'un réseau regional de bioindication de l'ozone par le tabac en Nord-Pas de Calais. Air pur 77 : 59-63.

De Richter R., Caillol S., 2011. Fighting global warming: The potential of photocatalysis against CO2, CH4, N2O, CFCs, tropospheric O3, BC and other major contributors to climate change. Journal of Photochemistry and Photobiology 12 : 1-19.

De Temmerman L., Claeys N., Roekens E. , Guns M. , 2007. Biomonitoring of airborne mercury with perennial ryegrass cultures. Environmental Pollution 146 : 458-462

Dron J.,Austruy A., Agnan Y., Giraudeau P., Chamaret P., 2014. Utilisation de la biosurveillance lichénique sur la zone industrialo-portuaire de Fos-sur-Mer : retour sur trois ans de suivi à l'échelle d'un territoire intercommunal. Biosurveillance végétale et fongique de la qualité de l'air, Pollution Atmosphérique.

Garrec J.P., Van Haluwyn C.,2002, Biosurveillance végétale de la qualité de l'air. Tec & Doc : 117

Gibson, Mark D., 2013. The spatial and seasonal variation of nitrogen dioxide and sulfur dioxide in Cape Breton Highlands National Park, Canada, and the association with lichen abundance. Atmosphéric environment 64 : 303-311.

Gombert S., Asta J.,Seaward M.R.D, 2006. Lichens and tobacco plants as complementary biomonitors of air pollution in the Grenoble area (Isère, southeast France). Ecological Indicators 6 : 429-443

Grantz D.A ,Garner J.H.B.,Johnson D.W., 2003. Ecological effects of particulate matter. Environment International 29 : 213-239.

Kampa, M., Castanas, E., 2008. Human health effects of air pollution. In: Proceedings of the 4th International Workshop on Biomonitoring of Atmospheric Pollution. Environmental Pollution 151 : 362-367

Lindinger, W., Hansel, A., Jordan, A., 1998. On-line monitoring of volatile organic compounds at pptv levels by means of proton-transfer-reaction mass spec- trometry (PTR-MS) e medical applications, food control and environmental research. International Journal of Mass Spectrometry 173 : 191-241.

Manes F., De Santis F., Giannini M.A., Vazzana C., Capogna F., Allegrini I, 2003. Integrated ambient ozone evaluation by passive samplers and clover biomonitoring mini-stations. Science of The Total Environment 308 : 133-141.

Pédro G., 2007. Cycles biogéochimiques et écosystèmes continentaux. EDP Sciences : 434.

Pleijel, H., Ahlfors, A., Ska¨ rby, L., Pihl, G., Sellde´ n, G., 1994. Sjo¨ din, A˚ , Effects of air pollutant emissions from a rural motorway on Petunia and Trifolium. The Science of the Total Environment 146/ 147 : 117–123.

Pompe, M., Owen, S., Hewitt, C.N., Basla, H., Veber, M., 2000. Development of a calibration system to evaluate VOC losses in a branch enclosure. Journal of Environmental Monitoring 2 : 133-138.

Posthumus, A.C., 1983. Higher plants as indicators and accumulators of gaseous air pollution. Environmental Monitoring and Assessment 3 : 263–272.

R Core Team (2013). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Rauch J. N., Pacyna J. M., 2009. Earth's global Ag, Al, Vr, Cu, Fe, Ni, Pb, and Zn cycles. Global Biogeochimical Cycles 23 :16-28.

Rudolph E., 1977 . Staub-Reinhaltung der Luft 37 : 467-474.

Squillace, P.J., Moran, M.J., Lapham, W.W., Price, C.V., Clawges, R.M., Zogorski, J.S., 1999. Volatile organic compounds in untreated ambient groundwater of the United States, 1985e1995. Environmental Science & Technology 33 : 4176-4187.

Shao M.,Zhang Y., Zeng L.,Tang X.,Zhang J.,Zhong L., Wang B., 2009. Ground-level ozone in the Pearl River Delta and the roles of VOC and NOx in its production. Journal of Environmental Management 90 : 512-518.

Singh S.N., Tripathi R.D., 2007. Environment Bioremediation Technologies (Book).

Stefano L., 2014. Lichens as sentinels for air pollution at remote alpine areas (Italy). Environmental science and pollution research 21 : 2563 – 2571.

Swieboda M., Kalemba A., 1978. The lichens Parmelia physodes (L.) Ach. As indicator for determination of the degree of atmosphéric pollution in the area contaminated by fluorine and sulphur dioxine emision. Acta Societatis Botanicorum Poloniae 47 :25 – 40.

Syms C., 2008. Principal Components Analysis, In Encyclopedia of Ecology, edited by Sven Erik Jørgensen and Brian D. Fath. Academic Press : 2940-2949.

Tonneijcka A.E.G, Bergeb W.F., Jansenc B.P., 2003. Monitoring the effects of atmospheric ethylene near polyethylene manufacturing plants with two sensitive plant species. Environmental Pollution 123 : 275–279

Underwood B.A., Tieman D.M., Shibuya K, Dexter R.J., Loucas H.M., Simkin A.J., Sims C.A., Schmelz E.A., Klee H.J., Clark D.G., 2005. Ethylene-regulated floral volatile synthesis in petunia corollas. Plant Physiology 138 : 255-266.

Wellburn A.R, 1990, Why are atmospheric oxides of nitrogen usually phytotoxic and not alternative fertilisers ? New Phytologist 115 : 395-429.

Wijnand H.P., van de Velde R., 2000. Mann–Whitney/Wilcoxon's nonparametric cumulative probability distribution. Computer Methods and Programs in Biomedicine 63 : 21-28

Yang T.F., Gonzalez-Carranza Z.H., Maunders M.J., Roberts J.A., 2007. Ethylene and the Regulation of Senescence Processes in Transgenic Nicotiana sylvestris Plants. Annals of botany 101 : 301-310.

Annexes

Annexe 1 : Fiches hebdomadaires de prise de données

A. Fiche hebdomadaire de prise de données fournies aux volontaires concernant tous les paramètres morphologiques étudiés excluant le diamètre des fleurs. ***B.*** *Fiche hebdomadaire de prise de données fournie aux volontaires dédiée au diamètre de dix fleurs.*

A.

Station
Date : … /... / 2014

Nombre de boutons floraux vivants						
Nombre de boutons floraux avortés						
Nombre de fleurs fraîches						
Nombre de fleurs fanées						
Nombre de fleurs nécrosées						
Diamètre des fleurs (cm)	Utilisation de la fiche dédiée					
Longueur de la tige Principale (cm)						

B.

Station : ...
Date : … /... / 2014

Diamètre des fleurs	Plant 1	Plant 2	Plant 3	Plant 4	Plant 5	Plant 6
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						

VOLONTAIRES POUR L'OBSERVATION CITOYENNE DE L'ENVIRONNEMENT

2014

Étude scientifique écocitoyenne de bioindication des Composés Organiques Volatils atmosphériques à l'aide de *Pétunia hybrida*

Protocole d'échantillonnage

Chargée de mission VOCE : Véronique Granier

Stagiaire chargé d'étude VOCE : Charles-Enzo Dauphin

Tableau récapitulatif

Mesures	Fréquence	Action / Commentaire
Nombre de feuilles mortes	Une fois par semaine	Dénombrer les feuilles mortes puis les retirer.
Nombre de feuilles nécrosées	Une fois par semaine	Dénombrer les feuilles nécrosées, puis les retirer **lorsqu' elles sont mortes** (les comptabiliser alors dans le nombre de feuilles mortes)
Nombre de boutons floraux vivants	Une fois par semaine	Dénombrer le nombre de boutons floraux vivants (de l'apparition des pétales jusqu'à l'éclosion totale)
Nombre de boutons floraux avortés	Une fois par semaine	Dénombrer le nombre de boutons floraux n'ayant pas éclos.
.		
Nombre de fleurs fraîches	Une fois par semaine	Dénombrer le nombre de fleurs fraîches. Si une même fleur reste fraîche durant deux relevés consécutifs (1 semaine) elle sera de nouveau dénombrée.
Nombre de fleurs nécrosées	Une fois par semaine	Dénombrer le nombre de fleurs nécrosées. Retirer les fleurs nécrosées **lorsqu'elles sont fanées** (les comptabiliser alors dans le nombre de fleurs fanées)
Nombre de fleurs fanées	Une fois par semaine	Dénombrer le nombre de fleurs fanées puis les retirer.
Diamètre des fleurs	Une fois par semaine	Tendre légèrement la fleur lors de la mesure (10 fleurs max par plant)
Longueur de la tige principale	Une fois par semaine	Tendre légèrement la tige. Arrêter la mesure avant la fleur.

Préconisations

- Il est essentiel de toujours **faire correspondre le numéro du pot** de Pétunia au numéro présent sur la fiche de relevé.

- Il est important de toujours **noter la date** lors du relevé.

- Il est important de réaliser les mesures **toujours le même jour** (défini lors de la réunion).

- Il est important de réaliser les mesures **toujours de la même façon** et de **respecter les consignes** (tendre les feuilles ou la tige principale, retirer les fleurs fanées/ feuilles mortes/ bourgeons avortés…)

- Il est important de toujours arroser les plants de Pétunia avec l'eau remise par nos soins. **Un jour sur deux avec une bouteille d'eau pour 6 plants** (équivalent à deux verres d'eau par plant, un jour sur deux).

- Ne surtout pas hésiter à nous contacter en cas de quelconques problèmes ou questions (difficulté pour la prise de mesure, indisponibilité pour une mesure ou un arrosage...), une solution sera rapidement trouvée.

I. Mise en place de la station d'étude

- **Exposition**

Il est important d'exposer les plants de la station d'étude à un niveau d'ensoleillement similaire. C'est pour cela que les plants de Pétunia seront disposés côte à côte (figure 1) avec préférentiellement un **niveau d'ensoleillement maximal**.

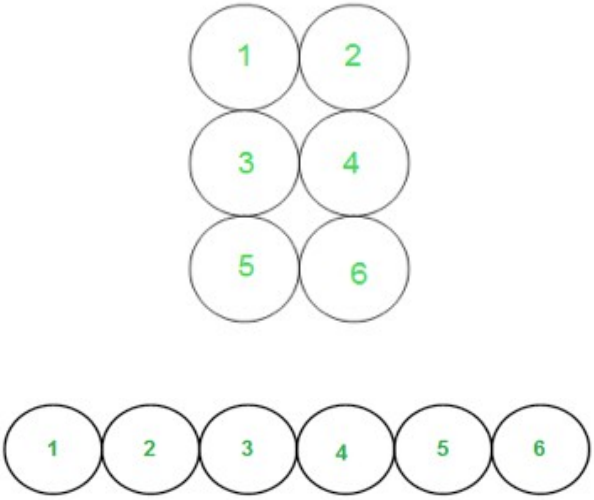


Figure1 : Positionnement des pots au sein de la station d'étude

Si le développement des plants devient trop important, il sera nécessaire d'espacer les pots d'une distance de 20 à 30 cm

- **Entretien**

Pour le bon fonctionnement de cette étude scientifique, il est très important d'arroser les Pétunias de façon régulière et identique. Les plants seront arrosés **un jour sur deux** avec **une bouteille d'eau pour 6 plants, équivalent à deux verres d'eau par plant**.

Si une pluie survient le jour de l'arrosage il n'est pas nécessaire d'arroser les plants, évitant ainsi un excès d'eau fortement préjudiciable pour les Pétunias.

Les fleurs et les feuilles mortes ainsi que les bourgeons floraux avortés seront retirés après une comptabilisation individuelle (détail dans la partie Protocole d'échantillonnage).

- **Protection**

Si vous possédez des animaux de compagnie ou une autre source de dégradation potentielle, veuillez à surélever la stations d'étude pour éviter toute détérioration des plantes qui pourrait fausser les données ainsi obtenues.

II. Protocole d'échantillonnage

Pour étudier l'impact des hydrocarbures sur la croissance des Pétunias, plusieurs mesures non destructives sont à réaliser sur la plante. Il est important de signaler que ces mesures doivent être réalisées **toujours de la même façon** et **toujours le même jour** à une semaine d'intervalle.

Les plants en votre possession sont numérotés, veillez à faire concorder le numéro du pot et le numéro sur la fiche de relevé.

- **Nombre de feuilles mortes**

Le nombre de feuilles mortes présentes sur le plant est à dénombrer chaque semaine. Les feuilles mortes comptabilisées doivent être sèches.

Il est important de **retirer ces feuilles mortes** après qu'elles aient été dénombrées.

- **Nombre de feuilles nécrosées**

Les feuilles présentant des nécroses ou des décolorations sont à dénombrer chaque semaine. Il est impératif d'**enlever les feuilles nécrosées** quand elles sont mortes et de les comptabiliser dans le nombre de feuilles mortes.

Si une feuille nécrosée déjà dénombrée est encore nécrosée la semaine suivante, il est nécessaire de la **dénombrer une nouvelle fois**.

La nécrose d'une feuille peut se présenter suivant plusieurs formes (figure 2) comme une décoloration totale ou partielle de la feuille, des tâches brunes ou blanches plus ou moins importantes.



Figure 2 : Différentes apparitions de nécroses foliaires

- **Nombre de boutons floraux vivants**

Le nombre de boutons floraux est à dénombrer chaque semaine. Pour faciliter la prise de données, les boutons floraux sont comptabilisés selon **leurs différents stades** (figure 3) jusqu'à l'éclosion totale de la fleur (figure 4).

Pour des raisons de clarté, les boutons floraux seront dénombrés dès l'apparition des premièrs pétales (couleur blanchâtre sur le bouton) jusqu'à l'**éclosion totale de la fleur.**

Si les boutons n'éclosent pas au dernier moment, ils seront alors comptabilisés en tant que boutons floraux avortés.



Figure 3 : Bouton floral de Pétunia



Figure 4 : Différence entre un bouton floral et une fleur totalement éclose

- **Nombre de boutons floraux avortés**

Le nombre de boutons n'ayant pas éclos est à dénombrer chaque semaine. Les boutons floraux avortés sont repérables par une non éclosion et un « fanage ».Il est important de **retirer ces boutons avortés** après qu'ils aient été dénombrés

- **Nombre de fleurs fraîches**

Le nombre de fleurs fraîches (Figure 5) est à dénombrer chaque semaine, ces fleurs seront comptabilisées jusqu'à leur fanage (elles seront alors comptabilisées dans les fleurs fanées) .
A noter que **toutes les fleurs fraîches doivent être comptées,** même si certaines étaient déjà fraîches lors du précédent relevé.



Figure 5 : Fleur fraîche de Pétunia

- **Nombre de fleurs fanées**

Le nombre de fleurs fanées (Figure 6) est à dénombrer chaque semaine. Les fleurs fanées se repèrent facilement par un manque de vivacité, de maintien et un assèchement. Il est important de **retirer ces fleurs fanées** après qu'elles aient été dénombrées.



Figure 6 : Fleur fanée de Pétunia

- **Nombre de fleurs nécrosées**

Le nombre de fleurs nécrosées (figure 7) devra être dénombré chaque semaine. Toutes les fleurs étant blanches, les nécroses se repéreront facilement par l'**apparition de tâches brunes** sur les fleurs.



Figure 7 : Petite nécrose sur une fleur de Pétunia

- **Diamètre des fleurs (cm)**

Le diamètre des fleurs est à échantillonner chaque semaine à l'aide de la règle graduée fournie.
Chaque fleur ne devra être mesurée qu'une seule fois. Si une fleur déjà mesurée est encore fraîche la semaine suivante, aucune nouvelle mesure n'est nécessaire. C'est pour cela qu'il est important de **marquer les fleurs,** après la mesure, d'un signe bien visible à l'aide du scotch dédié (figure 8), pour ne pas mesurer la même fleur lors de deux échantillonnages consécutifs.



Figure 8 : Marquage de fleur après mesure du diamètre

Pour éviter une prise de données trop fastidieuse, le nombre maximal de fleurs à mesurer par plant est fixé à **10 nouvelles fleurs par semaine**. Si d'une semaine à une autre il est observé une formation de plus de 10 fleurs fraîches sur un seul plant, seulement 10 fleurs fraîches devront être sélectionnées aléatoirement. Le seul critère de sélection est une éclosion totale de la fleur, elles ne doivent **surtout pas être choisies en fonction de leur beauté ou de leur grande taille**.
Pour mesurer de façon simple et identique chaque fleur, le départ de la mesure se fera à l'**intersection de deux pétales jusqu'au bout du pétale opposé** (figure 9).
Il est important de « **tendre** » légèrement la fleur pour mesurer le diamètre correct, tout en faisant attention de ne pas abîmer ou déchirer la fleur.

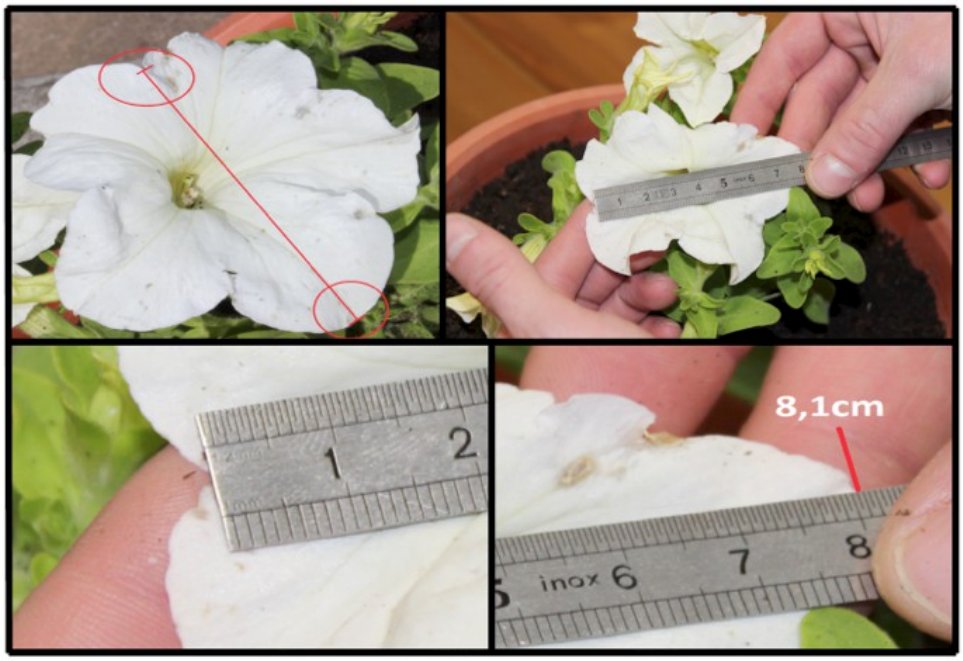


Figure 9 : Détail de la mesure de diamètre d'une fleur

- **Longueur de la tige principale (cm)**

La longueur de la tige principale est à échantillonner chaque semaine. Évaluez la longueur totale de plante en positionnant la règle graduée à la base du tronc jusqu'au **segment le plus haut du plant** de Pétunia en prenant soin de tendre le plant avec délicatesse.
Attention, si une fleur est présente au sommet de la tige principale, il est important de ne pas prendre en compte la mesure de la fleur et d'arrêter la mesure au niveau du bouton floral (Figure 10).



Figure 10 : Mesure de la tige principale d'un Pétunia

N'hésitez pas à nous contacter si vous rencontrez des difficultés, ou simplement pour nous poser vos questions.

Des visites de chaque station seront réalisées durant cette étude, permettant à la fois de surveiller votre station, de récupérer les fiches de relevés mais aussi pour recueillir vos impressions et retours d'expériences sur cette étude de la pollution de l'air à l'aide des Pétunias.

Nous vous remercions de l'intérêt et de l'aide que vous portez à notre étude et à l'Institut Ecocitoyen pour la Connaissance des Pollutions.

Charles-Enzo Dauphin

04-90-55-49-94

06-28-40-09-79

charles-enzo.dauphin@institut-écocitoyen.fr

Annexe 3 : Données récoltées pour tous les paramètres morphologiques

*Données obtenues à T=0 semaine, T=3 semaines et T=7 semaines d'exposition de tous les paramètres morphologiques pris en compte dans l'étude concernant **A.** Le diamètre floral. **B.** Le poids sec (T=7) **C.** La croissance **D.** Le nombre total de feuilles nécrosées. **E.** Nombre total de fleurs fraîches. **F.** Nombre total de feuilles mortes. **G**. Nombre total de fleurs mortes. **H.** Nombre total de boutons floraux avortés. **I.** Nombre total de boutons floraux vivants. **J**. Nombre total de fleurs nécrosées.*

A.

	Diamètre (cm)	Fos 1	Fos 2	Grans	Grans Témoin	Grans Route	Istres	Fos 3	Port-de-Bouc	Lavéra	Fos 4
T = 0	16/04/14	7,37	8,3	7	9,15	8,75	8,5	8,1	8,5	8,2	8
	16/04/14	7,75	7,8	7	8,3	7,92	9	7,5	8,2	8,65	7,6
	16/04/14	8,55	7,4	7,5	8	7,9	9,2	7,2	8,9	6,4	7
	16/04/14	7,63	7,6	7,5	7,9	7,55	7,5	7,8	8	8,3	8,5
	16/04/14	8,3	7,75	7,75	8,1	7,45	8,05	8	7	6,5	7,5
	16/04/14	7,6	7,2	8,25	7,93	7,97	7,75	7,7	7,15	7	7,5
T=3	06/05/14	7,71	7,25	7,45	7,66	6,24	8,64	5,94	7,52	7,39	7,16
	06/05/14	7,01	7,53	7,41	7,77	5,25	8,93	7,44	6,84	7,94	7,05
	06/05/14	7,82	7,06	7,9	7,43	5,61	8,5	7,06	7,28	6,88	7,22
	06/05/14	8,32	7,63	7,42	7,27	5,93	7,6	7,3	7,01	7,71	7,37
	06/05/14	7,69	7,68	7,65	7,78	6,28	8,45	6,84	7,36	6,68	6,26
	06/05/14	7,8	7,18	7	7,29	6,17	7,63	5,87	6,51	7,58	6,3
T=7	03/06/14	6,82	6,97	7,67	8,06	7,24	7,43	6,75	6,52	7,01	7,14
	03/06/14	7,2	7,04	7,43	8,01	5,73	7,6	6,86	6,52	7,06	6,87
	03/06/14	7,39	6,99	7,8	8,01	6,85	7,7	6,39	6,55	6,91	7,01
	03/06/14	7,48	7,25	7,95	8,12	7,04	7,69	6,51	6,61	6,74	6,72
	03/06/14	7,7	7,15	8,14	7,91	6,59	7,59	6,75	6,44	6,74	6,11
	03/06/14	7,14	6,96	7,6	8,27	6,82	8,13	5,71	5,61	7,2	6,46

B.

	Poids sec (g)	Fos 1	Fos 2	Grans	Grans Témoin	Grans Route	Istres	Fos 3	Port-de-Bouc	Lavéra	Fos 4
T=7	03/06/14	7,142	6,872	8,942	13,192	7,362	8,422	5,092	6,552	7,672	6,542
	03/06/14	5,352	7,332	10,292	12,032	6,982	10,882	5,672	5,712	6,402	5,862
	03/06/14	6,592	4,132	10,982	10,842	6,802	11,272	5,282	7,612	7,472	7,422
	03/06/14	6,692	5,332	14,982	12,442	7,142	9,392	5,422	6,092	7,632	10,442
	03/06/14	5,582	6,902	10,062	9,142	6,602	7,542	8,962	6,562	8,192	6,152
	03/06/14	9,052	9,532	15,192	10,632	7,372	7,232	5,062	8,562	8,562	8,632

C.

	Croissance (cm)	Fos 1	Fos 2	Grans	Grans Témoin	Grans Route	Istres	Fos 3	Port-de-Bouc	Lavéra	Fos 4
T=1	22/04/14	0,8	2	0,5	1,9	2,3	1	1,3	1	0,3	1,9
	22/04/14	0,8	1,5	3	2,2	1,2	2	0,9	3	0,2	3
	22/04/14	1,1	0,3	3	1,6	1,6	1	1,3	0,7	0,3	2,4
	22/04/14	2,5	0,3	3,2	2,4	0,7	0,5	2	0,7	1	2,5
	22/04/14	1,1	0,4	0,8	1,8	0,4	1	1,8	0,7	0,4	2,2
	22/04/14	0,8	0,3	1	1,9	0,3	1,4	1,1	0,9	0,9	1,7
T=3	06/05/14	3,4	4,9	5,5	4,9	3,4	5,3	2,8	4,7	2,8	4,7
	06/05/14	3,1	5,1	5,5	5,7	4,6	4	2	4,8	2	5,5
	06/05/14	3,9	2,5	6,5	4,9	3,4	3,9	3,3	2,5	2,5	4,9
	06/05/14	3,8	3,9	5,9	5,8	2,8	4	4,5	2	3,6	5,1
	06/05/14	3,2	5,1	4,3	5,3	1,9	5,9	4,5	3,4	2,1	4,6
	06/05/14	3,2	3,4	3,9	5	2,5	2,5	3,5	2,5	3,2	4,9
T=7	03/06/14	6	8,2	10,1	10,9	6,4	8,4	5,3	8,6	7,1	8,4
	03/06/14	7,1	9,3	12,8	11,5	6	10,5	6,2	7,2	5,2	9,7
	03/06/14	8,2	5,9	12,1	10,8	6,2	8,8	6,8	5,9	5,6	10,3
	03/06/14	7,1	8,7	12,5	12,5	5,3	9,9	9,9	5,1	9	8,6
	03/06/14	6,2	7,3	7	11,3	6,3	11,9	9,9	6	7,7	7,8
	03/06/14	7	8,6	10,8	10,7	4,9	7,1	7,2	5,5	6	8,8

D.

	Feuilles nécrosées	Fos 1	Fos 2	Grans	Grans Témoin	Grans Route	Istres	Fos 3	Port-de-Bouc	Lavéra	Fos 4
T=0	16/04/14	4	0	0	0	3	5	0	0	0	2
	16/04/14	0	0	0	0	0	2	1	1	0	0
	16/04/14	0	0	0	1	3	2	0	0	1	0
	16/04/14	1	0	0	0	2	0	1	0	1	0
	16/04/14	0	0	0	0	2	2	0	1	0	0
	16/04/14	1	1	2	0	0	4	0	2	0	4
T=3	06/05/14	9	0	0	1	8	1	2	1	3	14
	06/05/14	7	0	1	0	5	4	1	2	4	9
	06/05/14	8	1	1	1	3	1	1	6	6	7
	06/05/14	11	2	1	0	3	1	2	5	3	4
	06/05/14	8	3	0	0	4	3	3	3	8	9
	06/05/14	3	0	2	1	4	2	2	5	5	12
T=7	03/06/14	25	14	1	0	16	2	4	8	21	75
	03/06/14	16	8	2	0	17	6	9	11	19	79
	03/06/14	19	9	3	1	10	2	4	18	27	85
	03/06/14	15	12	2	2	17	3	4	7	31	79
	03/06/14	18	16	2	3	9	1	4	9	40	83
	03/06/14	19	27	2	1	13	2	5	14	28	108

E.

	Fleurs fraîches	Fos 1	Fos 2	Grans	Grans Témoin	Grans Route	Istres	Fos 3	Port-de-Bouc	Lavéra	Fos 4
T=0	16/04/14	3	1	2	2	2	1	1	1	1	1
	16/04/14	2	1	2	2	0	1	1	2	2	2
	16/04/14	2	2	1	1	3	1	1	1	2	1
	16/04/14	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	16/04/14	1	2	2	2	2	2	1	2	1	1
	16/04/14	1	1	2	3	3	2	1	2	2	1
T=3	06/05/14	30	36	24	28	17	22	19	28	21	20
	06/05/14	32	29	28	21	26	13	31	29	19	28
	06/05/14	23	41	21	16	20	11	29	35	32	25
	06/05/14	24	26	27	21	21	23	29	22	28	24
	06/05/14	22	47	28	23	21	24	26	23	32	20
	06/05/14	21	23	23	21	23	26	38	31	23	31
T=7	03/06/14	89	102	69	57	53	62	47	99	97	71
	03/06/14	97	89	84	62	70	62	75	96	60	87
	03/06/14	74	113	80	64	62	55	78	91	89	101
	03/06/14	83	78	61	52	54	82	72	94	91	85
	03/06/14	74	114	74	58	52	64	64	92	116	79
	03/06/14	69	79	50	57	67	70	80	118	82	114

F.

	Feuille mortes	Fos 1	Fos 2	Grans	Grans Témoin	Grans Route	Istres	Fos 3	Port-de-Bouc	Lavéra	Fos 4
T=0	16/04/14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	16/04/14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	16/04/14	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	16/04/14	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0
	16/04/14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	16/04/14	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
T=3	06/05/14	3	2	0	1	0	0	8	0	2	2
	06/05/14	4	3	0	1	0	1	7	0	2	3
	06/05/14	10	0	0	2	1	0	8	0	3	5
	06/05/14	3	1	0	6	0	2	6	3	1	2
	06/05/14	2	1	0	1	4	3	4	2	4	1
	06/05/14	1	6	0	7	0	0	9	1	1	1
T=7	03/06/14	7	4	6	7	10	4	14	8	5	12
	03/06/14	22	6	6	7	18	3	16	8	8	15
	03/06/14	17	5	6	10	19	1	14	15	8	13
	03/06/14	16	4	5	12	9	9	16	15	8	5
	03/06/14	12	5	2	12	12	4	16	20	5	6
	03/06/14	11	9	4	16	10	0	18	17	7	10

G.

	Fleurs fanées	Fos 1	Fos 2	Grans	Grans Témoin	Grans Route	Istres	Fos 3	Port-de-Bouc	Lavéra	Fos 4
T=0	16/04/14	0	0	0	0	1	2	0	1	1	1
	16/04/14	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1
	16/04/14	1	0	0	1	2	1	1	0	2	1
	16/04/14	1	0	0	1	1	2	2	1	1	1
	16/04/14	1	0	0	1	1	1	0	1	2	1
	16/04/14	1	1	0	1	0	0	1	0	1	1
T=3	06/05/14	6	2	7	10	13	9	13	5	3	8
	06/05/14	7	5	6	8	19	7	5	5	4	9
	06/05/14	7	8	7	11	14	4	4	7	6	7
	06/05/14	7	3	11	14	11	9	9	9	2	7
	06/05/14	7	4	14	15	15	4	11	5	8	10
	06/05/14	4	4	14	18	12	10	8	6	5	7
T=7	03/06/14	28	23	53	27	47	42	32	59	36	50
	03/06/14	36	28	57	35	59	40	35	55	34	58
	03/06/14	28	28	60	51	45	36	35	53	35	55
	03/06/14	33	19	38	53	40	51	49	69	45	53
	03/06/14	30	26	54	60	38	32	36	60	67	51
	03/06/14	34	15	42	49	44	42	44	64	38	66

H.

	Boutons avortés	Fos 1	Fos 2	Grans	Grans Témoin	Grans Route	Istres	Fos 3	Port-de-Bouc	Lavéra	Fos 4
T=0	16/04/14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	16/04/14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	16/04/14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	16/04/14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	16/04/14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	16/04/14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T=3	06/05/14	2	2	0	0	0	0	1	0	1	0
	06/05/14	0	1	0	0	0	2	2	0	0	0
	06/05/14	1	1	0	0	0	1	2	0	1	0
	06/05/14	0	4	0	0	0	0	0	1	2	0
	06/05/14	0	2	0	0	0	0	2	0	0	0
	06/05/14	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
T=7	03/06/14	3	8	1	2	1	0	1	11	2	1
	03/06/14	0	4	0	0	3	2	3	3	4	0
	03/06/14	3	4	0	0	1	3	3	2	4	2
	03/06/14	4	5	0	0	4	0	2	5	3	0
	03/06/14	1	6	3	0	1	0	5	9	2	2
	03/06/14	0	8	0	0	3	1	0	0	2	1

I.

	Boutons vivants	Fos 1	Fos 2	Grans	Grans Témoin	Grans Route	Istres	Fos 3	Port-de-Bouc	Lavéra	Fos 4
T=0	16/04/14	6	9	5	10	5	6	1	3	1	6
	16/04/14	9	7	8	6	8	3	5	4	4	9
	16/04/14	9	10	6	8	4	1	5	5	7	7
	16/04/14	8	5	8	11	4	7	5	8	7	3
	16/04/14	8	8	10	8	6	2	8	2	6	6
	16/04/14	8	7	11	12	4	8	5	3	4	8
T=3	06/05/14	33	33	37	32	22	19	17	25	18	27
	06/05/14	33	34	37	28	29	22	21	18	12	30
	06/05/14	35	43	33	31	19	19	24	25	23	24
	06/05/14	28	29	41	43	18	32	21	28	19	28
	06/05/14	30	39	40	33	31	20	19	25	21	37
	06/05/14	36	33	35	43	27	27	20	16	13	34
T=7	03/06/14	58	62	61	58	48	45	30	73	41	67
	03/06/14	59	72	68	58	67	55	41	62	28	72
	03/06/14	64	72	66	67	54	54	38	67	39	63
	03/06/14	61	47	65	71	45	66	35	72	34	67
	03/06/14	60	63	72	65	60	54	38	74	47	62
	03/06/14	61	67	63	68	67	55	40	67	28	68

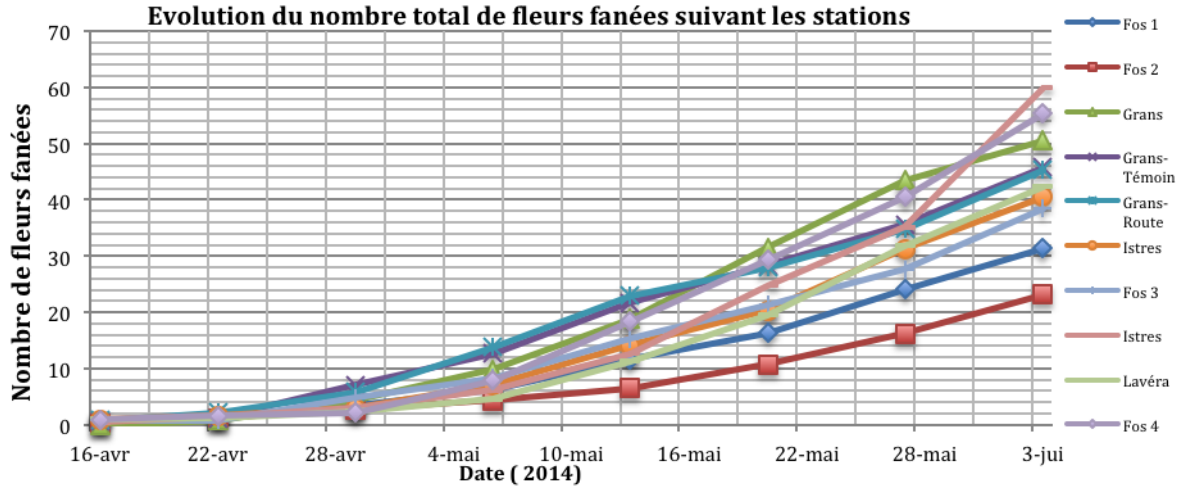
J.

	Fleurs nécrosées	Fos 1	Fos 2	Grans	Grans Témoin	Grans Route	Istres	Fos 3	Port-de-Bouc	Lavéra	Fos 4
T=0	16/04/14	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	16/04/14	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	16/04/14	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
	16/04/14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	16/04/14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	16/04/14	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
T=3	06/05/14	3	0	0	0	2	0	6	5	0	0
	06/05/14	0	0	1	0	3	1	2	6	4	2
	06/05/14	2	0	2	0	2	0	0	5	3	3
	06/05/14	0	0	2	0	4	1	2	12	0	1
	06/05/14	3	0	1	1	5	1	2	7	2	2
	06/05/14	0	0	0	0	6	3	2	2	1	3
T=7	03/06/14	7	7	0	1	7	1	8	18	2	4
	03/06/14	3	3	4	0	12	3	7	23	11	8
	03/06/14	3	7	5	2	11	1	3	13	6	13
	03/06/14	4	1	4	1	13	2	9	27	8	12
	03/06/14	3	4	4	3	14	2	7	25	10	10
	03/06/14	0	5	0	1	16	7	7	14	11	16

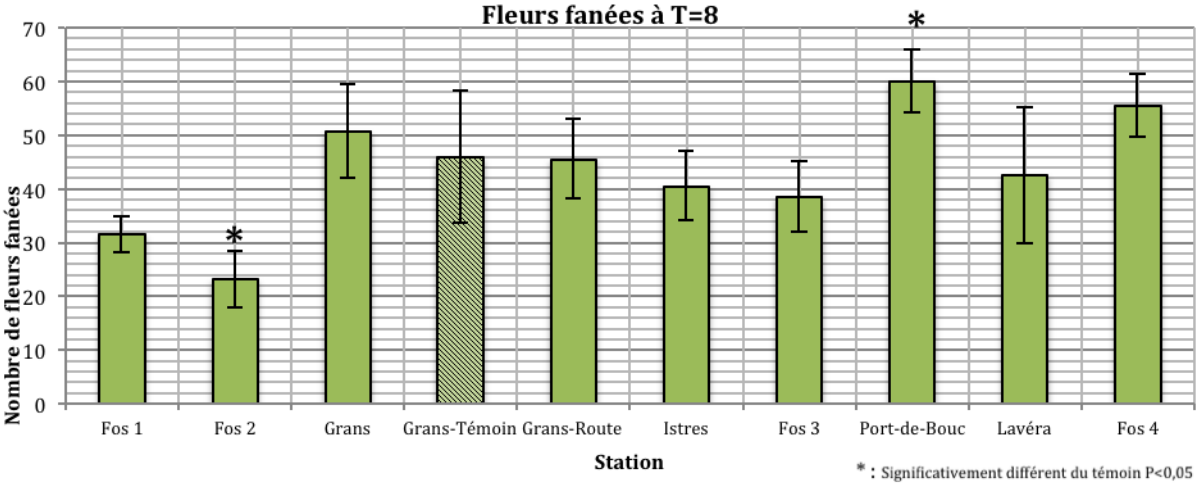
Annexe 4 : Graphiques obtenus pour les paramètres non détaillés dans l'étude

Graphiques obtenus pour les paramètres non détaillés dans l'étude concernant :
A. *Le nombre total de fleurs fanées.* ***B.*** *Le nombre total de fleurs nécrosées.* ***C.*** *Le nombre total de fleurs fraîches.* ***D.*** *Le nombre total de boutons avortés.* ***E.*** *Le nombre total de feuilles mortes..*
Les résultats étant détaillés pour chaque paramètre sous la forme ***1.*** *Evolution durant les sept semaines d'exposition.* ***2.*** *Les valeurs en fin d'étude* ***3****. P.Value des tests statistiques en comparant toute les stations deux à deux à T=7 semaines d'exposition.*

A.1.



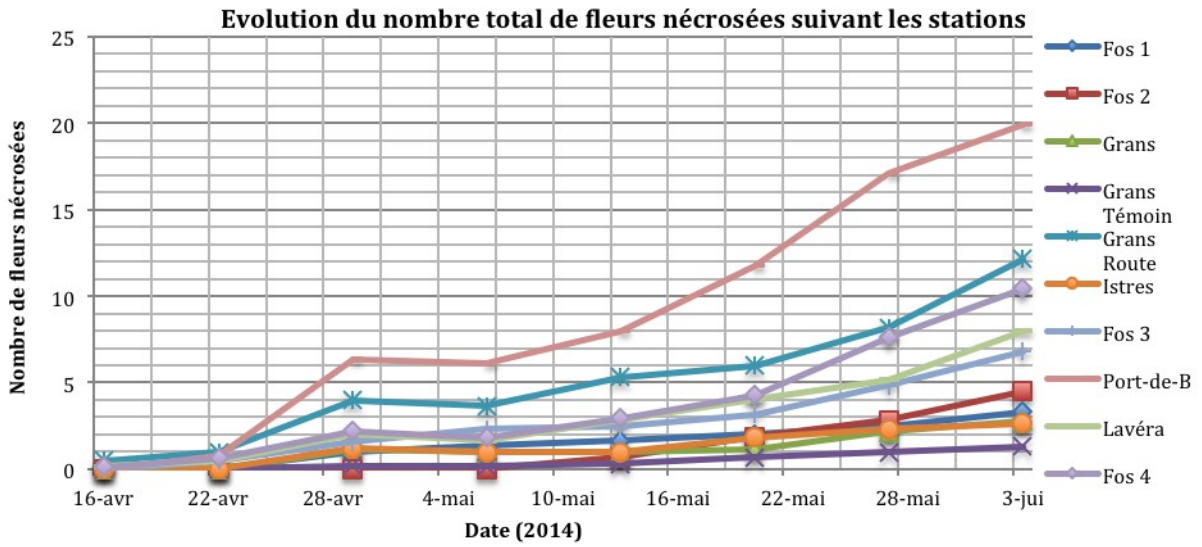
A.2.



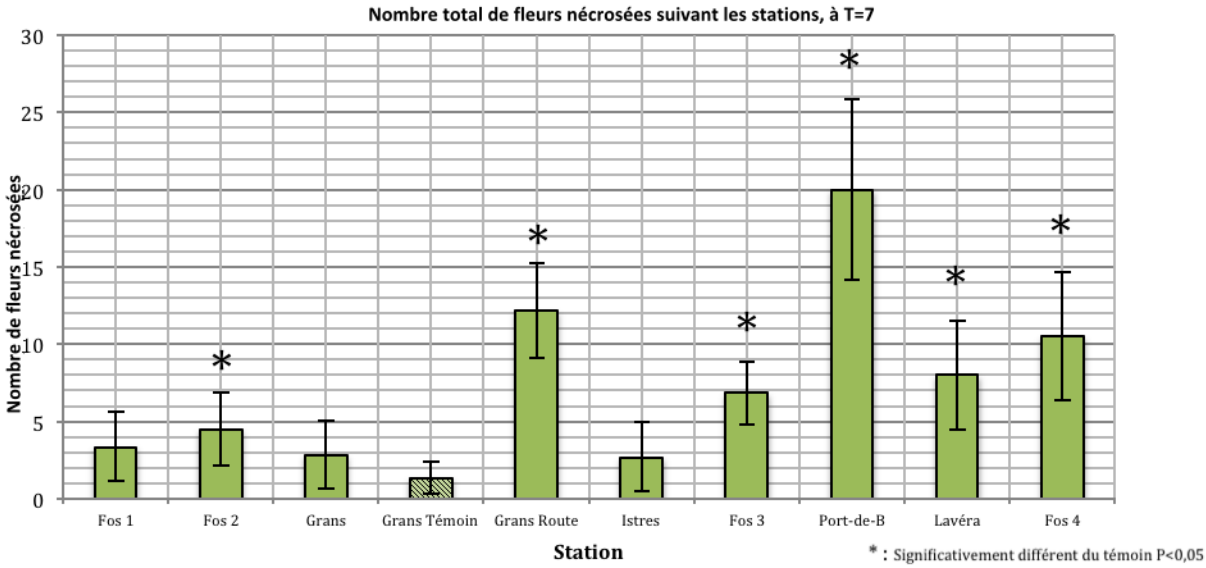
A.3.

	Fos 1	Fos 2	Grans	Témoin	Grans-Route	Istres	Fos 3	Port-deBouc	Lavéra	Fos 4
Fos 1		0.01152	0.004998	0.09213	0.004998	0.02422	0.0534	0.004998	0.01959	0.004998
Fos 2	0.01152		0.004998	0.01291	0.004998	0.004922	0.004922	0.004998	0.004998	0.004998
Grans	0.004998	0.004998		0.3768	0.4225	0.06367	0.03035	0.09155	0.1488	0.6304
Témoin	0.09213	0.01291	0.3768		0.6991	0.4217	0.2581	0.03006	0.6304	0.172
Grans-Route	0.004998	0.004998	0.4225	0.6991		0.2607	0.1081	0.01612	0.2281	0.04113
Istres	0.02422	0.004922	0.06367	0.4217	0.2607		0.5725	0.004998	0.8723	0.01014
Fos 3	0.0534	0.004922	0.03035	0.2581	0.1081	0.5725		0.004998	0.6279	0.004998
Port-de-Bouc	0.004998	0.004998	0.09155	0.03006	0.01612	0.004998	0.004998		0.04113	0.172
Lavéra	0.01959	0.004998	0.1488	0.6304	0.2281	0.8723	0.6279	0.04113		0.06494
Fos 4	0.004998	0.004998	0.6304	0.172	0.04113	0.01014	0.004998	0.172	0.06494	

B.1.



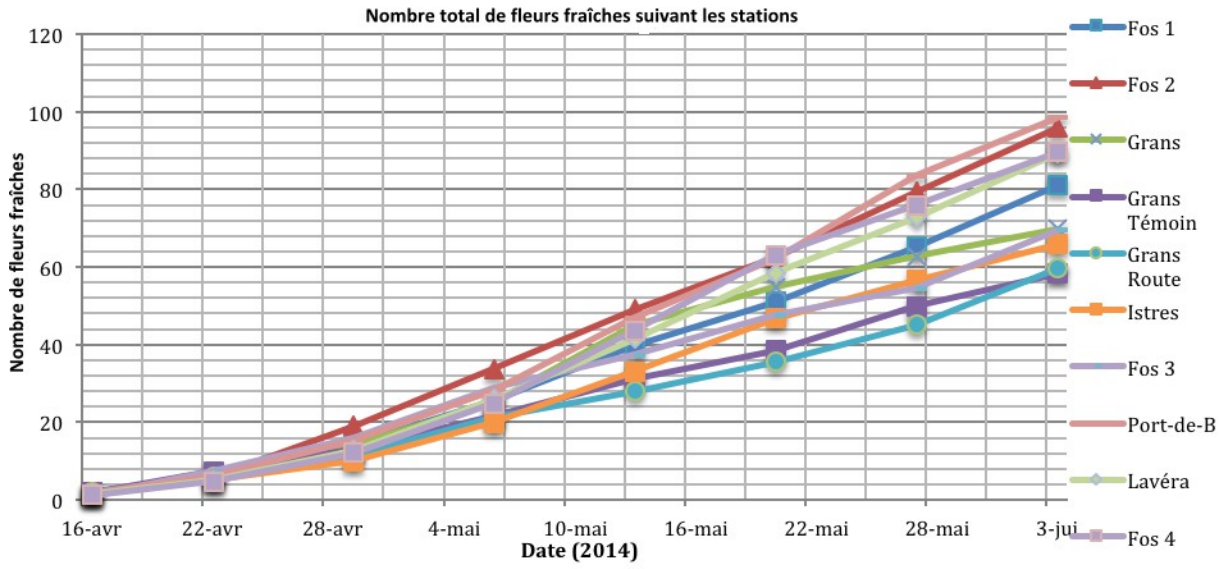
B.2.



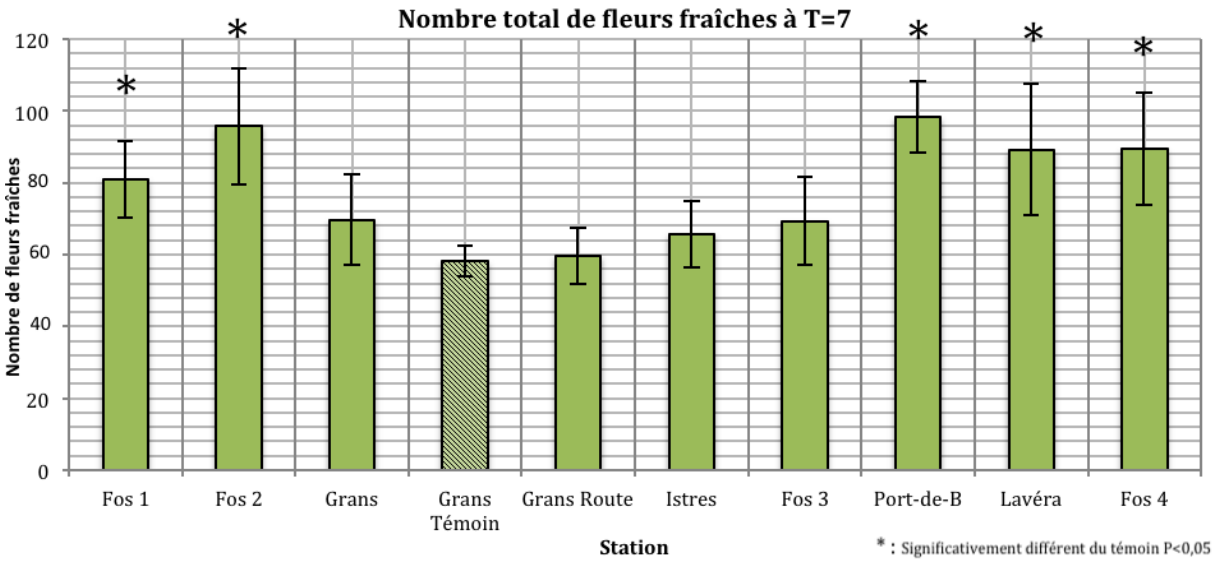
B.3.

	Fos 1	Fos 2	Grans	Témoin	Grans-Route	Istres	Fos 3	Port-deBouc	Lavéra	Fos 4
Fos 1		0.3656	0.8686	0.08412	0.006027	0.3674	0.03794	0.004772	0.0632	0.009745
Fos 2	0.3656		0.2867	0.02721	0.007796	0.1922	9621	0.004998	0.09155	0.02447
Grans	0.8686	0.2867		0.2876	0.004698	0.8079	0.02805	0.004698	0.02891	0.01431
Témoin	0.08412	0.02721	0.2876		0.004772	0.2407	0.005674	0.004772	0.009616	0.004772
Grans-Route	0.006027	0.007796	0.004698	0.004772		0.006208	0.02249	0.03006	0.04383	0.5196
Istres	0.3674	0.1922	0.8079	0.2407	0.006208		0.01748	0.004922	0.02891	0.008016
Fos 3	0.03794	9621	0.02805	0.005674	0.02249	0.01748		0.004772	0.4184	0.07557
Port-de-Bouc	0.004772	0.004998	0.004698	0.004772	0.03006	0.004922	0.004772		0.004998	0.01612
Lavéra	0.0632	0.09155	0.02891	0.009616	0.04383	0.02891	0.4184	0.004998		0.2954
Fos 4	0.009745	0.02447	0.01431	0.004772	0.5196	0.008016	0.07557	0.01612	0.2954	

C.1.



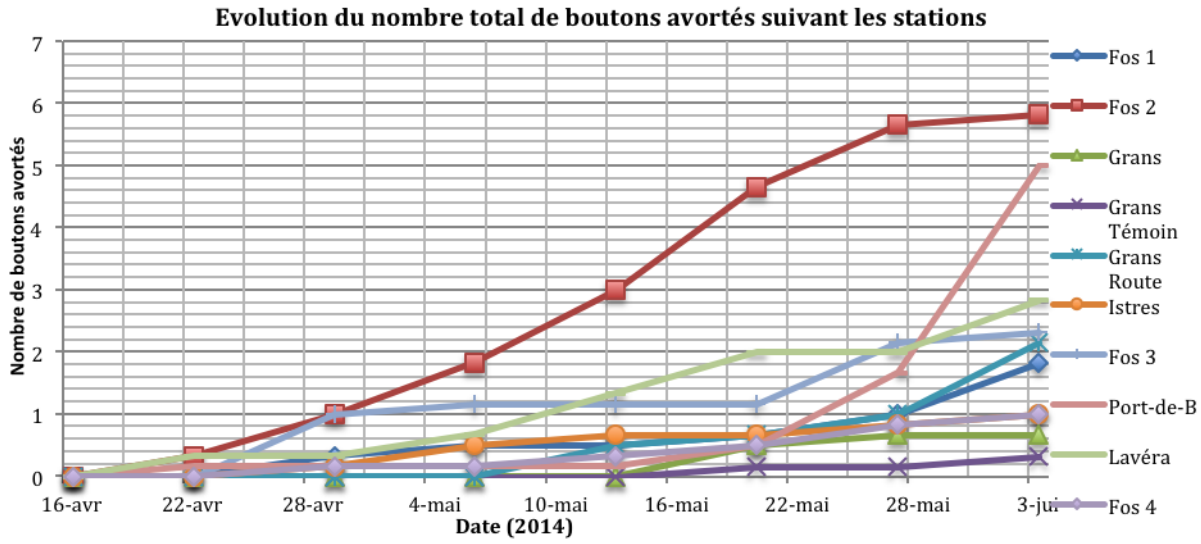
C.2.



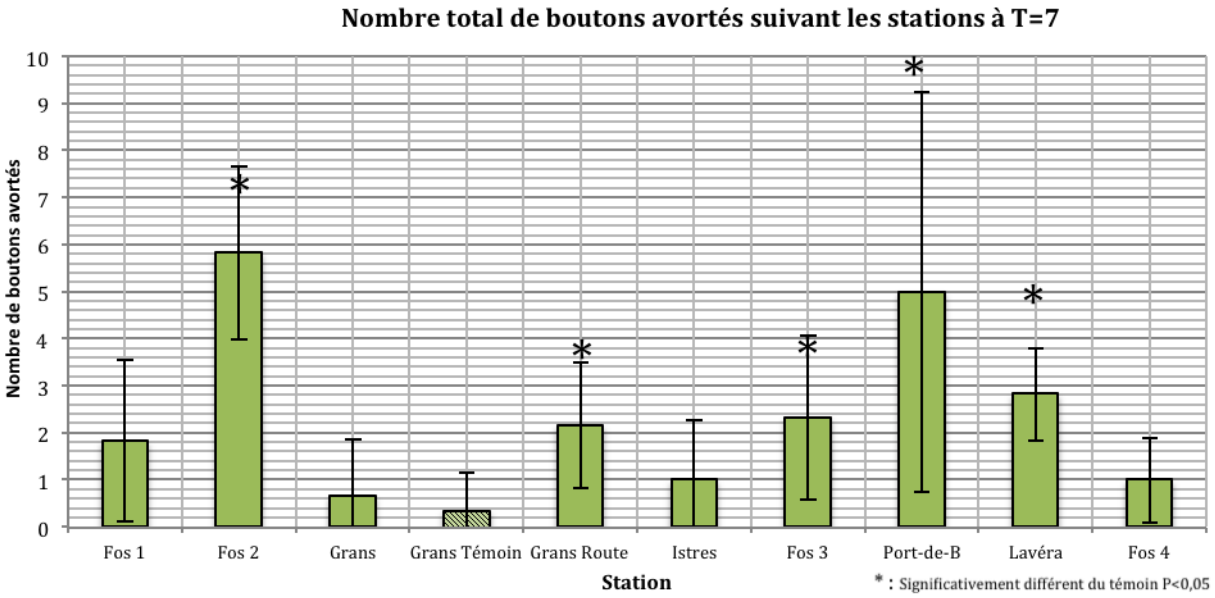
C.3.

	Fos 1	Fos 2	Grans	Témoin	Grans-Route	Istres	Fos 3	Port-deBouc	Lavéra	Fos 4
Fos 1		0.1081	0.1962	0.004922	0.008127	0.03006	0.229	0.03035	0.376	0.3776
Fos 2	0.1081		0.02597	0.004998	0.002165	0.01291	0.01612	0.6991	0.8726	0.5738
Grans	0.1962	0.02597		0.1275	0.2403	0.6884	1	0.002165	0.06494	0.04113
Témoin	0.004922	0.004998	0.1275		0.9358	0.1453	0.07713	0.004998	0.01291	0.004998
Grans-Route	0.008127	0.002165	0.2403	0.9358		0.2581	0.132	0.002165	0.01515	0.002165
Istres	0.03006	0.01291	0.6884	0.1453	0.2581		0.4217	0.004998	0.05382	0.01291
Fos 3	0.229	0.01612	1	0.07713	0.132	0.4217		0.002165	0.04113	0.04113
Port-de-Bouc	0.03035	0.6991	0.002165	0.004998	0.002165	0.004998	0.002165		0.1994	0.2403
Lavéra	0.376	0.8726	0.06494	0.01291	0.01515	0.05382	0.04113	0.1994		0.8182
Fos 4	0.3776	0.5738	0.04113	0.004998	0.002165	0.01291	0.04113	0.2403	0.8182	

D.1.



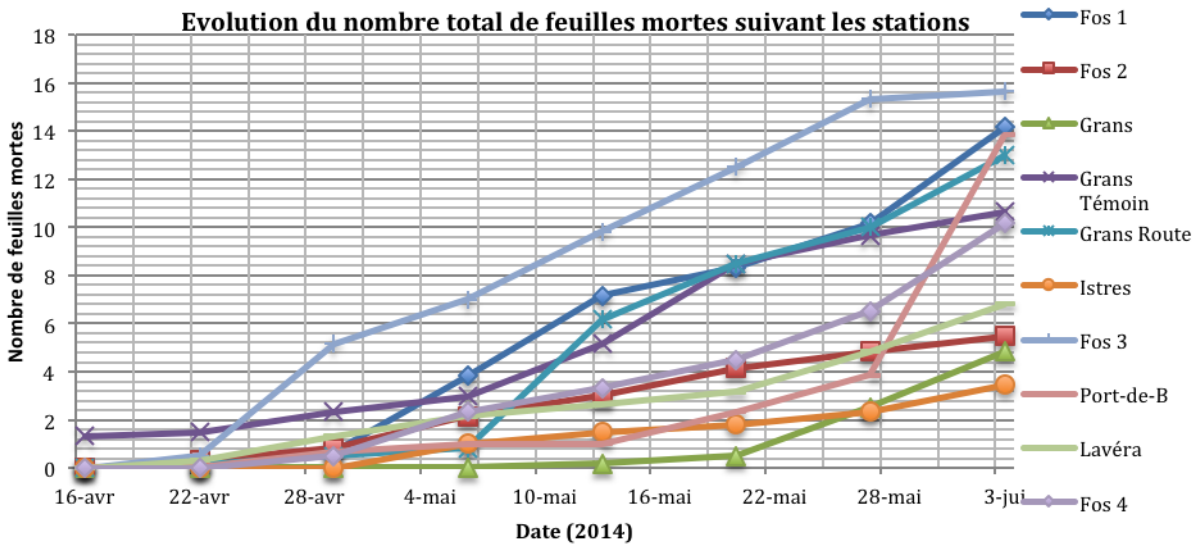
D.2.



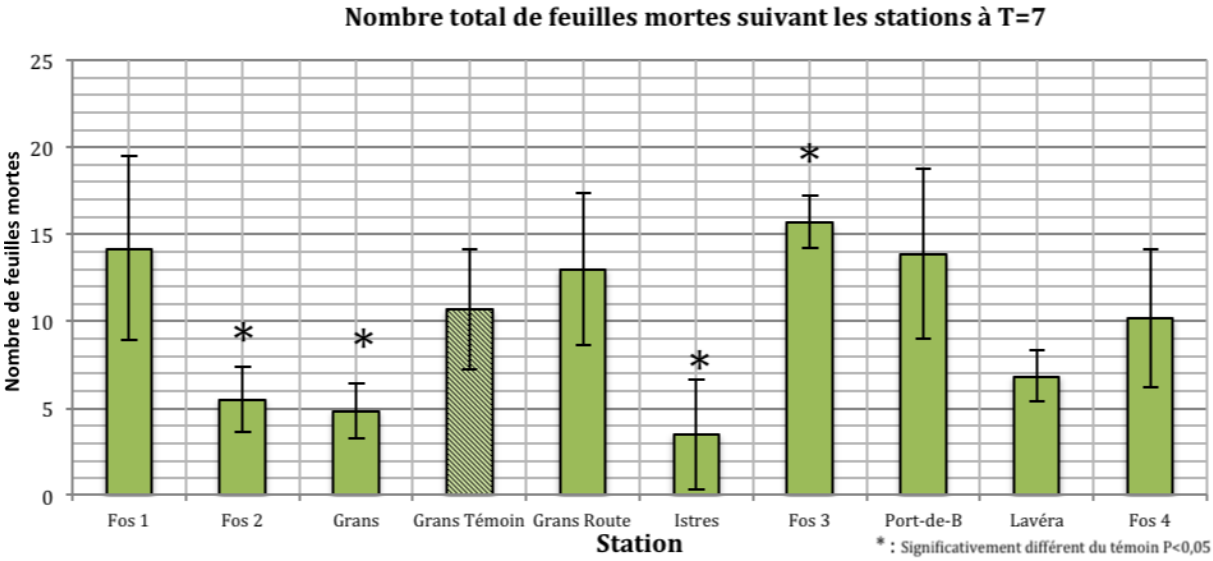
D.3.

	Fos 1	Fos 2	Grans	Témoin	Grans-Route	Istres	Fos 3	Port-de-Bouc	Lavéra	Fos 4
Fos 1		0.007472	0.2268	0.08913	0.6769	0.402	0.7422	0.2232	0.3674	0.4583
Fos 2	0.007472		0.004197	0.003538	0.007155	0.004624	0.01557	0.6291	0.01078	0.004698
Grans	0.2268	0.004197		0.5993	0.04468	0.6539	0.0937	0.04591	0.02104	0.4372
Témoin	0.08913	0.003538	0.5993		0.01508	0.2935	0.03194	0.02077	0.006661	0.1757
Grans-Route	0.6769	0.007155	0.04468	0.01508		0.1365	1	0.2911	0.3647	0.1558
Istres	0.402	0.004624	0.6539	0.2935	0.1365		0.1874	0.07193	0.03939	0.9328
Fos 3	0.7422	0.01557	0.0937	0.03194	1	0.1874		0.3307	0.6217	0.1636
Port-de-Bouc	0.2232	0.6291	0.04591	0.02077	0.2911	0.07193	0.3307		0.4616	0.06132
Lavéra	0.3674	0.01078	0.02104	0.006661	0.3647	0.03939	0.6217	0.4616		0.01547
Fos 4	0.4583	0.004698	0.4372	0.1757	0.1558	0.9328	0.1636	0.06132	0.01547	

E.1.



E.2.



E.3.

	Fos 1	Fos 2	Grans	Témoin	Grans-Route	Istres	Fos 3	Port-de-Bouc	Lavéra	Fos 4
Fos 1		0.008016	0.004772	0.2547	0.7479	0.008127	0.6242	1	0.02347	0.1994
Fos 2	0.008016		1	0.01244	0.006117	0.1018	0.004551	0.01244	0.2173	0.03539
Grans	0.004772	1		0.004624	0.004698	0.2232	0.004408	0.004624	0.08584	0.04123
Témoin	0.2547	0.01244	0.004624		0.4641	0.01259	0.02176	0.2265	0.08698	0.8714
Grans-Route	0.7479	0.006117	0.004698	0.4641		0.006208	0.3307	1	0.004624	0.5182
Istres	0.008127	0.1018	0.2232	0.01259	0.006208		0.004624	0.01259	0.06273	0.01291
Fos 3	0.6242	0.004551	0.004408	0.02176	0.3307	0.004624		0.6852	0.004337	0.01228
Port-de-Bouc	1	0.01244	0.004624	0.2265	1	0.01259	0.6852		0.01566	0.1697
Lavéra	0.02347	0.2173	0.08584	0.08698	0.004624	0.06273	0.004337	0.01566		0.1674
Fos 4	0.1994	0.03539	0.04123	0.8714	0.5182	0.01291	0.01228	0.1697	0.1674	

Annexe 5**: P.Value des différents tests statistiques**

P.Value des différents tests statistiques comparant toutes les stations deux à deux pour les paramètres détaillés dans les résultats ***A****. Croissance moyenne,* ***B.*** *Diamètre moyen des fleurs****, C.*** *nombre total de fleurs nécrosées moyen,* ***D.*** *Poids sec moyen en fin d'étude,* ***E.*** *Nombre moyen de boutons floraux viables (T=7 semaines). Les stations sont toute testées deux à deux à T=0, T=3 et T=7 semaines d'exposition. Sauf pour la croissance moyenne à T=1, T=3 et T=7 ainsi que le poids sec moyen à T=7.*

A.

T=0

P.Value : Croissance moyenne totale

	Fos 1	Fos 2	Grans	Témoin	Grans-Route	Istres	Fos 3	Port-deBouc	Lavéra	Fos 4
Fos 1		0.2223	0.5129	0.06273	0.6863	0.9352	0.1667	0.3708	0.06273	0.03539
Fos 2	0.2223		0.0632	0.02919	0.3691	0.2547	0.1954	0.2232	0.6177	0.01244
Grans	0.5129	0.0632		1	0.229	0.5669	0.936	0.3289	0.03638	0.9357
Témoin	0.06273	0.02919	1		0.05382	0.02919	0.0534	0.0632	0.004922	0.2248
Grans-Route	0.6863	0.3691	0.229	0.05382		0.8089	0.3776	0.8705	0.146	0.01515
Istres	0.9352	0.2547	0.5669	0.02919	0.8089		0.4184	0.4117	0.02224	0.01244
Fos 3	0.1667	0.1954	0.936	0.0534	0.3776	0.4184		0.1056	0.01001	0.02002
Port-de-Bouc	0.3708	0.2232	0.3289	0.0632	0.8705	0.4117	0.1056		0.1235	0.05256
Lavéra	0.06273	0.6177	0.03638	0.004922	0.146	0.02224	0.01001	0.1235		0.004998
Fos 4	0.03539	0.01244	0.9357	0.2248	0.01515	0.01244	0.02002	0.05256	0.004998	

T=3

	Fos 1	Fos 2	Grans	Témoin	Grans-Route	Istres	Fos 3	Port-deBouc	Lavéra	Fos 4
Fos 1		0.1705	0.006208	0.004922	0.4673	0.07661	0.936	0.7475	0.06367	0.004922
Fos 2	0.1705		0.07661	0.08984	0.1056	0.6868	0.2281	0.1453	0.03671	0.3717
Grans	0.006208	0.07661		0.8095	0.01275	0.1705	0.03006	0.03006	0.004998	0.4673
Témoin	0.004922	0.08984	0.8095		0.004922	0.1978	0.004922	0.004922	0.004998	0.1659
Grans-Route	0.4673	0.1056	0.01275	0.004922		0.1075	0.6291	0.8075	0.5732	0.006208
Istres	0.07661	0.6868	0.1705	0.1978	0.1075		0.2963	0.2257	0.02447	0.2963
Fos 3	0.936	0.2281	0.03006	0.004922	0.6291	0.2963		1	0.2273	0.004922
Port-de-Bouc	0.7475	0.1453	0.03006	0.004922	0.8075	0.2257	1		0.5182	0.02422
Lavéra	0.06367	0.03671	0.004998	0.004998	0.5732	0.02447	0.2273	0.5182		0.004998
Fos 4	0.004922	0.3717	0.4673	0.1659	0.006208	0.2963	0.004922	0.02422	0.004998	

T=7

	Fos 1	Fos 2	Grans	Témoin	Grans-Route	Istres	Fos 3	Port-deBouc	Lavéra	Fos 4
Fos 1		0.1081	0.02447	0.004998	0.06414	0.01244	0.7475	0.335	0.7466	0.008127
Fos 2	0.1081		0.04113	0.002165	0.02597	0.1797	0.6884	0.06461	0.1797	0.2615
Grans	0.02447	0.04113		1	0.002165	0.1797	0.02002	0.008658	0.01515	0.09307
Témoin	0.004998	0.002165	1		0.002165	0.04113	0.004998	0.002165	0.002165	0.002165
Grans-Route	0.06414	0.02597	0.002165	0.002165		0.002165	0.09098	0.8726	0.4225	0.002165
Istres	0.01244	0.1797	0.1797	0.04113	0.002165		0.1255	0.01515	0.03704	0.5738
Fos 3	0.7475	0.6884	0.02002	0.004998	0.09098	0.1255		0.2607	0.4704	0.229
Port-de-Bouc	0.335	0.06461	0.008658	0.002165	0.8726	0.01515	0.2607		0.6304	0.01612
Lavéra	0.7466	0.1797	0.01515	0.002165	0.4225	0.03704	0.4704	0.6304		0.02597
Fos 4	0.008127	0.2615	0.09307	0.002165	0.002165	0.5738	0.229	0.01612	0.02597	

B.

P.Value : Diametre floral moyen

T=0

	Fos 1	Fos 2	Grans	Témoin	Grans-Route	Istres	Fos 3	Port-deBouc	Lavéra	Fos 4
Fos 1		0,6291	0,1978	0,1994	0,8182	0,2615	0,8182	0,9372	0,6304	0,4217
Fos 2	0,6291		0.4209	0.03704	0.3095	0.1087	0.8095	0.5887	0.8726	1
Grans	0,1978	0.4209		0.03006	0.172	0.05214	0.3743	0.2937	1	0.5655
Témoin	0,1994	0.03704	0.03006		0.1488	0.9372	0.06461	0.8726	0.5211	0.3095
Grans-Route	0,8182	0.3095	0.172	0.1488		0.3095	0.6991	0.6991	0.6991	0.5745
Istres	0,2615	0.1087	0.05214	0.9372	0.3095		0.1488	0.4225	0.2403	0.1062
Fos 3	0,8182	0.8095	0.3743	0.06461	0.6991	0.1488		0.5211	1	0.7466
Port-de-Bouc	0,9372	0.5887	0.2937	0.8726	0.6991	0.4225	0.5211		0.4696	0.5189
Lavéra	0,6304	0.8726	1	0.5211	0.6991	0.2403	1	0.4696		0.8723
Fos 4	0,4217	1	0.5655	0.3095	0.5745	0.1062	0.7466	0.5189	0.8723	

T = 3

	Fos 1	Fos 2	Grans	Témoin	Grans-Route	Istres	Fos 3	Port-de-bouc	Lavéra	Fos 4
Fos 1		0.06494	0.1797	0.2403	0.002165	0.2403	0.01515	0.02472	0.1994	0.02597
Fos 2	0.06494		0.8182	0.2403	0.002165	0.02472	0.07765	0.1797	0.9372	0.06494
Grans	0.1797	0.8182		0.8182	0.002165	0.02597	0.04113	0.09307	0.8182	0.02597
Témoin	0.2403	0.2403	0.8182		0.002165	0.06494	0.04113	0.06494	0.6991	0.008658
Grans-Route	0.002165	0.002165	0.002165	0.002165		0.002165	0.09307	0.002165	0.002165	0.004329
Istres	0.2403	0.02472	0.02597	0.06494	0.002165		0.002165	0.002165	0.02597	0.002165
Fos 3	0.01515	0.07765	0.04113	0.04113	0.09307	0.002165		0.5211	0.132	0.8182
Port-de-bouc	0.02472	0.1797	0.09307	0.06494	0.002165	0.002165	0.5211		0.2403	0.5887
Lavéra	0.1994	0.9372	0.8182	0.6991	0.002165	0.02597	0.132	0.2403		0.132
Fos 4	0.02597	0.06494	0.02597	0.008658	0.004329	0.002165	0.8182	0.5887	0.132	

T = 7

	Fos 1	Fos 2	Grans	Témoin	Grans-Route	Istres	Fos 3	Port-de-bouc	Lavéra	Fos 4
Fos 1		0.1797	0.02597	0.004998	0.05424	0.05424	0.008127	0.004998	0.05382	0.02472
Fos 2	0.1797		0.002165	0.004998	0.1488	0.002165	0.004998	0.004998	0.3776	0.09307
Grans	0.02597	0.002165		0.06508	0.002165	0.5738	0.004998	0.004998	0.004998	0.002165
Témoin	0.004998	0.004998	0.06508		0.004998	0.04495	0.004922	0.004922	0.004922	0.004998
Grans-Route	0.05424	0.1488	0.002165	0.004998		0.002165	0.229	0.06508	0.5745	0.9372
Istres	0.05424	0.002165	0.5738	0.04495	0.002165		0.004998	0.004998	0.004998	0.002165
Fos 3	0.008127	0.004998	0.004998	0.004922	0.229	0.004998		0.5738	0.06461	0.3776
Port-de-bouc	0.004998	0.004998	0.004998	0.004922	0.06508	0.004998	0.5738		0.004922	0.1727
Lavéra	0.05382	0.3776	0.004998	0.004922	0.5745	0.004998	0.06461	0.004922		0.2607
Fos 4	0.02472	0.09307	0.002165	0.004998	0.9372	0.002165	0.3776	0.1727	0.2607	

C.

P.Value : Feuilles nécrosées moyen

T=0

	Fos 1	Fos 2	Grans	Témoin	Grans-Route	Istres	Fos 3	Port-deBouc	Lavéra	Fos 4
Fos 1		0.2482	0.3396	0.2482	0.4524	0.1174	0.5228	1	0.5228	0.8577
Fos 2	0.2482		1	1	0.05969	0.01585	0.5948	0.2482	0.5948	0.462
Grans	0.3396	1		1	0.08633	0.02922	0.7518	0.3889	0.7518	0.5271
Témoin	0.2482	1	1		0.05969	0.01585	0.5948	0.2482	0.5948	0.462
Grans-Route	0.4524	0.05969	0.08633	0.05969		0.5574	0.1023	0.2078	0.1023	0.4372
Istres	0.1174	0.01585	0.02922	0.01585	0.5574		0.02364	0.05574	0.02364	0.1495
Fos 3	0.5228	0.5948	0.7518	0.5948	0.1023	0.02364		0.5228	1	0.7745
Port-de-Bouc	1	0.2482	0.3889	0.2482	0.2078	0.05574	0.5228		0.5228	1
Lavéra	0.5228	0.5948	0.7518	0.5948	0.1023	0.02364	1	0.5228		0.7745
Fos 4	0.8577	0.462	0.5271	0.462	0.4372	0.1495	0.7745	1	0.7745	

T=3

	Fos 1	Fos 2	Grans	Témoin	Grans-Route	Istres	Fos 3	Port-deBouc	Lavéra	Fos 4
Fos 1		0.005938	0.004624	0.004408	0.08755	0.009616	0.005849	0.02422	0.08813	0.4184
Fos 2	0.005938		1	0.6628	0.00726	0.1874	0.2139	0.03474	0.007365	0.004698
Grans	0.004624	1		0.476	0.004551	0.103	0.06212	0.01748	0.004624	0.004624
Témoin	0.004408	0.6628	0.476		0.004337	0.02509	0.0145	0.008488	0.004408	0.004408
Grans-Route	0.08755	0.00726	0.004551	0.004337		0.02721	0.007155	0.6842	0.8047	0.02891
Istres	0.009616	0.1874	0.103	0.02509	0.02721		1	0.1402	0.02273	0.005938
Fos 3	0.005849	0.2139	0.06212	0.0145	0.007155	1		0.1174	0.00726	0.004624
Port-de-Bouc	0.02422	0.03474	0.01748	0.008488	0.6842	0.1402	0.1174		0.4159	0.01981
Lavéra	0.08813	0.007365	0.004624	0.004408	0.8047	0.02273	0.00726	0.4159		0.03638
Fos 4	0.4184	0.004698	0.004624	0.004408	0.02891	0.005938	0.004624	0.01981	0.03638	

`

T=7

	Fos 1	Fos 2	Grans	Témoin	Grans-Route	Istres	Fos 3	Port-deBouc	Lavéra	Fos 4
Fos 1		0.1081	0.004267	0.004847	0.0534	0.004698	0.004267	0.01594	0.01937	0.004922
Fos 2	0.1081		0.004337	0.004922	0.6874	0.004772	0.008981	0.4209	0.01612	0.004998
Grans	0.004267	0.004337		0.1791	0.004267	0.6539	0.003665	0.004337	0.004337	0.004267
Témoin	0.004847	0.004922	0.1791		0.004847	0.1174	0.004197	0.004922	0.004922	0.004847
Grans-Route	0.0534	0.6874	0.004267	0.004847		0.004698	0.005417	0.335	0.004998	0.004922
Istres	0.004698	0.004772	0.6539	0.1174	0.004698		0.04012	0.004772	0.004772	0.004698
Fos 3	0.004267	0.008981	0.003665	0.004197	0.005417	0.04012		0.01431	0.004337	0.004267
Port-de-Bouc	0.01594	0.4209	0.004337	0.004922	0.335	0.004772	0.01431		0.002165	0.004998
Lavéra	0.01937	0.01612	0.004337	0.004922	0.004998	0.004772	0.004337	0.002165		0.004998
Fos 4	0.004922	0.004998	0.004267	0.004847	0.004922	0.004698	0.004267	0.004998	0.004998	

D.

P.Value : Poids sec moyen

T = 7

	Fos 1	Fos 2	Grans	Témoin	Grans-Route	Istres	Fos 3	Port-deBouc	Lavéra	Fos 4
Fos 1		0.9372	0.004329	0.002165	0.2615	0.01515	0.132	1	0.1797	0.5887
Fos 2	0.9372		0.004329	0.004329	0.5887	0.04113	0.3939	1	0.1797	0.5887
Grans	0.004329	0.004329		0.9372	0.002165	0.132	0.004329	0.002165	0.002165	0.01515
Témoin	0.002165	0.004329	0.9372		0.002165	0.09307	0.002165	0.002165	0.002165	0.004329
Grans-Route	0.2615	0.5887	0.002165	0.002165		0.008658	0.06494	0.3939	0.06494	1
Istres	0.01515	0.04113	0.132	0.09307	0.008658		0.01515	0.04113	0.2403	0.132
Fos 3	0.132	0.3939	0.004329	0.002165	0.06494	0.01515		0.06494	0.06494	0.04113
Port-de-Bouc	1	1	0.002165	0.002165	0.3939	0.04113	0.06494		0.1994	0.6991
Lavéra	0.1797	0.1797	0.002165	0.002165	0.06494	0.2403	0.06494	0.1994		0.5887
Fos 4	0.5887	0.5887	0.01515	0.004329	1	0.132	0.04113	0.6991	0.5887	

E.

P.Value : Nombre moyen de boutons floraux viables

T=7

	Fos 1	Fos 2	Grans	Témoin	Grans-Route	Istres	Fos 3	Port-de-Bouc	Lavéra	Fos 4
Fos 1		0.1269	0.01937	0.2937	0.6291	0.06414	0.004922	0.008016	0.004922	0.01275
Fos 2	0.1269		1	0.8721	0.2257	0.09098	0.004922	0.2547	0.006208	0.8068
Grans	0.01937	1		0.8092	0.1275	0.02422	0.004998	0.1986	0.004998	0.7471
Témoin	0.2937	0.8721	0.8092		0.1697	0.01959	0.004922	0.1697	0.004922	0.6273
Grans-Route	0.6291	0.2257	0.1275	0.1697		0.7457	0.004922	0.02777	0.008016	0.06086
Istres	0.06414	0.09098	0.02422	0.01959	0.7457		0.004847	0.007905	0.007905	0.01259
Fos 3	0.004922	0.004922	0.004998	0.004922	0.004922	0.004847		0.004922	0.8721	0.004922
Port-de-Bouc	0.008016	0.2547	0.1986	0.1697	0.02777	0.007905	0.004922		0.004922	0.3682
Lavéra	0.004922	0.006208	0.004998	0.004922	0.008016	0.007905	0.8721	0.004922		0.004922
Fos 4	0.01275	0.8068	0.7471	0.6273	0.06086	0.01259	0.004922	0.3682	0.004922	

Liste des figures

Figure 1 : Cartographie du territoire SAN Ouest Provence……..……..11

Figure 2 : Six plants de *Pétunia hybrida* composant une station d'étude……..20

Figure 3 : Cartographie des stations situées à Fos-sur-Mer……..……..……...22

Figure 4 : Cartographie des stations situées à Port-de-Bouc et Lavéra ..……...…22

Figure 5 : Cartographie de la station située à Istres……...23

Figure 6 : Cartographie des stations situées à Grans……..24

Figure 7 : Paramètres morphologiques contrôlés et fréquence de contrôle……...27

Figure 8 : Evolution de la croissance moyenne suivant les stations d'étude…….30

Figure 9 : Comparaison statistique des croissances moyenne des différentes stations à T=1 semaine,T=3 semaines et T=7 semaines. n=6, p<0,05…… 32

Figure 10 : Evolution du diamètre moyen des fleurs suivant les stations d'étude……33

Figure 11 : Comparaison statistique du diamètre moyen des fleurs des différentes stations à T=1 semaine, T=3 semaines et T=7 semaines. n=6, P<0,05…….34

Figure 12 : Evolution du nombre moyen de feuilles nécrosées suivant les stations d'étude…….35

Figure 13 : Comparaison statistique du nombre moyen de feuilles nécrosées des différentes stations à T=1 semaine, T=3 semaines et T=7 semaines. n=6, p<0,05……...36

Figure 14 : Evolution du nombre total moyen de boutons floraux viables suivant les stations d'étude……37

Figure 15 : Comparaison statistique du nombre total moyen de boutons floraux viables des différentes stations à T=7 semaines. n=6, p<0,05…….38

Figure 16 : Comparaison statistique du poids sec moyen des plants à T = 7 semaines. n=6, p<0,05……38

Figure 17 : Cercle de corrélation et projection sur le plant factoriel des individus en intégrant leur localisation. .n=60……..……39-40

Figure 18 : Teneur en HAP présente dans les lichens de vingt stations du territoire Ouest-Provence en 2011, 2012 et 2013 et relation avec nos stations d'étude de bioindication par pétunia hybrida……...46

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Fiche technique de *Pétunia hybrida*……19

Tableau 2 : Caractéristique de chaque station d'étude. (Distance à la ZIP de Fos-sur-Mer ou Lavéra, Catégorie, contamination et commune) ……..……..21

Tableau 3: Paramètres morphologiques pris en compte dans l'ACP……41

Tableau 4 : Données des volontaires comparées au contrôle à une semaine d'exposition aléatoire…….47