

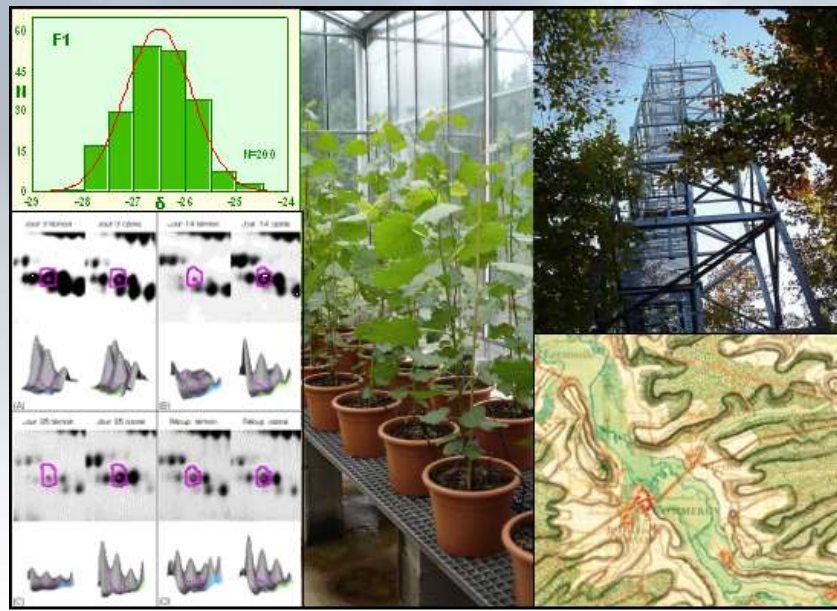
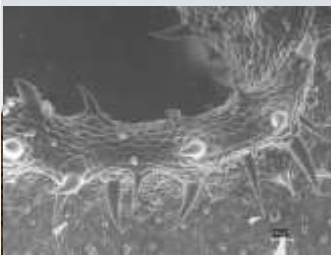
La pollution atmosphérique et les plantes

Intérêt de la microscopie électronique à balayage couplée à la microanalyse X

Didier Le Thiec - Christophe Rose

INRA - UMR Ecologie et Ecophysiologie Forestières

Centre INRA de Nancy-Lorraine



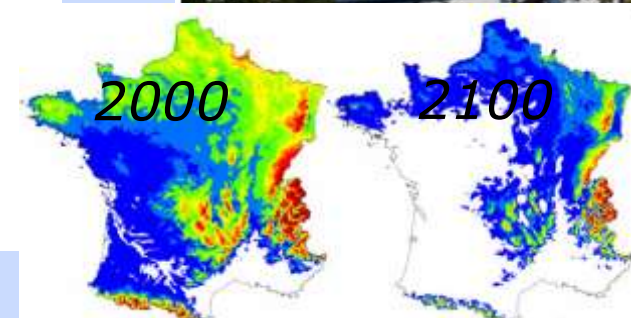
Plan

- ✓ Introduction de l'UMR et de la plateforme de microscopie
- ✓ La pollution atmosphérique
- ✓ Exemples avec particules
- ✓ Exemple de physiologie cellulaire

Trois grandes thématiques de recherche dans l'UMR EEF



- **Physiologie et diversité de la réponse des arbres aux contraintes de l'environnement** : approches biochimiques, moléculaires, microscopiques, gènes-candidats, biologie intégrative en réponse à: la lumière, la sécheresse, l'excès d'eau, la température, l'ozone, le CO₂,...
- **Fonctionnement intégré de l'arbre et de l'écosystème** : flux et cycles de l'eau et du carbone. Propriétés et fonctionnement des interfaces (sol-racine, feuille-atmosphère), réserves carbonées et azotées, hydraulique végétale.
- **Dynamique à long terme et dysfonctionnements des écosystèmes forestiers** : leur sensibilité aux accidents climatiques et aux changements globaux, impact de l'usage ancien des sols, pollution atmosphérique.



↳ **Microscope électronique à balayage (MEB) à pression contrôlée**

↳ Leo-Zeiss (INRA/Région Lorraine/FEDER), canon tungstène

↳ détecteurs d'électrons pour l'imagerie à haute résolution

↳ module de cryopréparation

↳ platine à effet Peltier (-50°C/+50°C)

↳ spectromètre d'analyse des rayons X (dispersion de longueur d'onde et sélection d'énergie (EDS et WDS))



↳ **Microscope à dissection laser (LCM)**

↳ Palm-Zeiss (INRA/Région Lorraine/FEDER)

↳ Pinces optiques + apotome



↳ Outils complémentaires

↳ microscope optique

↳ loupes binoculaires

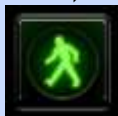
↳ cryostats

↳ métalliseurs

↳ congélateurs à -80°C/-20°C

↳ lyophilisateurs

↳ vibratome cryothermostaté



Relation efficience d'utilisation de l'eau - anatomie

Transcriptomique - effet de la sécheresse

Dendrochimie (nutrition, datation arbres tropicaux)

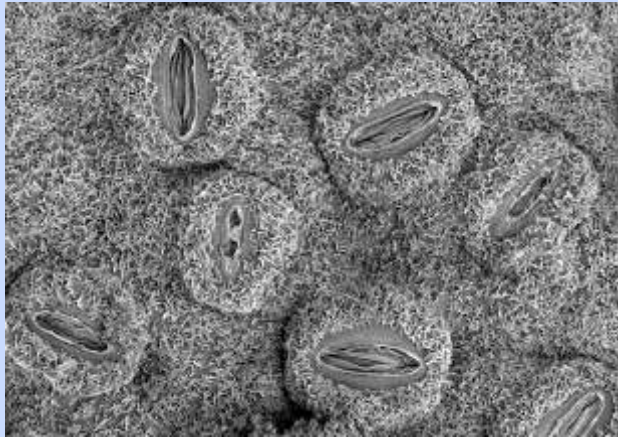
Expertises en pollution atmosphérique (bioindicateur-bioaccumulation)

↳ **À venir :**

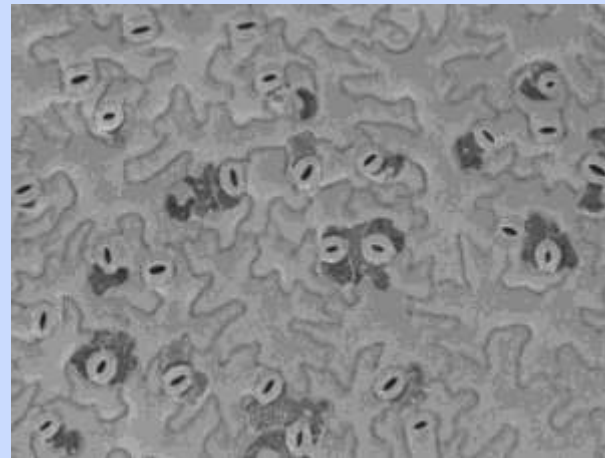
2014 : confocal

Observations sur des surfaces foliaires

Stomates de feuille de chêne (cryo, vide secondaire)

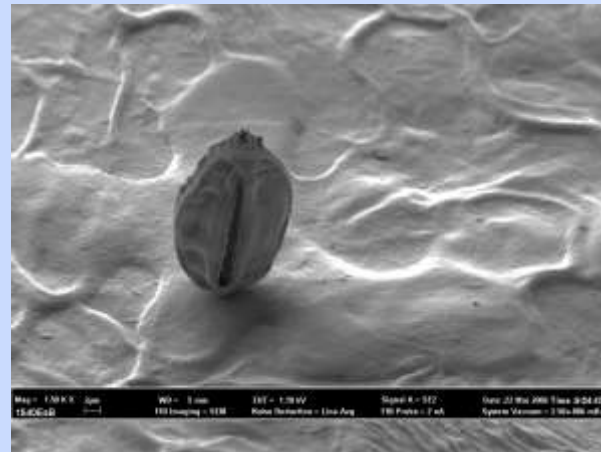


FEG



tungstène

tungstène



FIB

Stomates de feuille de peuplier (cryo, vide secondaire)



Les principaux polluants atmosphériques se classent dans deux grandes familles bien distinctes : les polluants **primaires** et les polluants **secondaires**.

Les polluants primaires sont directement issus des sources de pollution (trafic routier, industries, chauffage, agriculture...).

On y trouve des gaz tels que :

Des oxydes de carbone

Des oxydes de soufre

Des oxydes d'azote

Des hydrocarbures légers

Des composés organiques volatils (COV)

Des particules (PM10 et PM2.5)

Des métaux (plomb, mercure, cadmium...)

En revanche, les polluants secondaires ne sont pas directement rejetés dans l'atmosphère mais proviennent de réactions chimiques de gaz entre eux.

C'est le cas notamment :

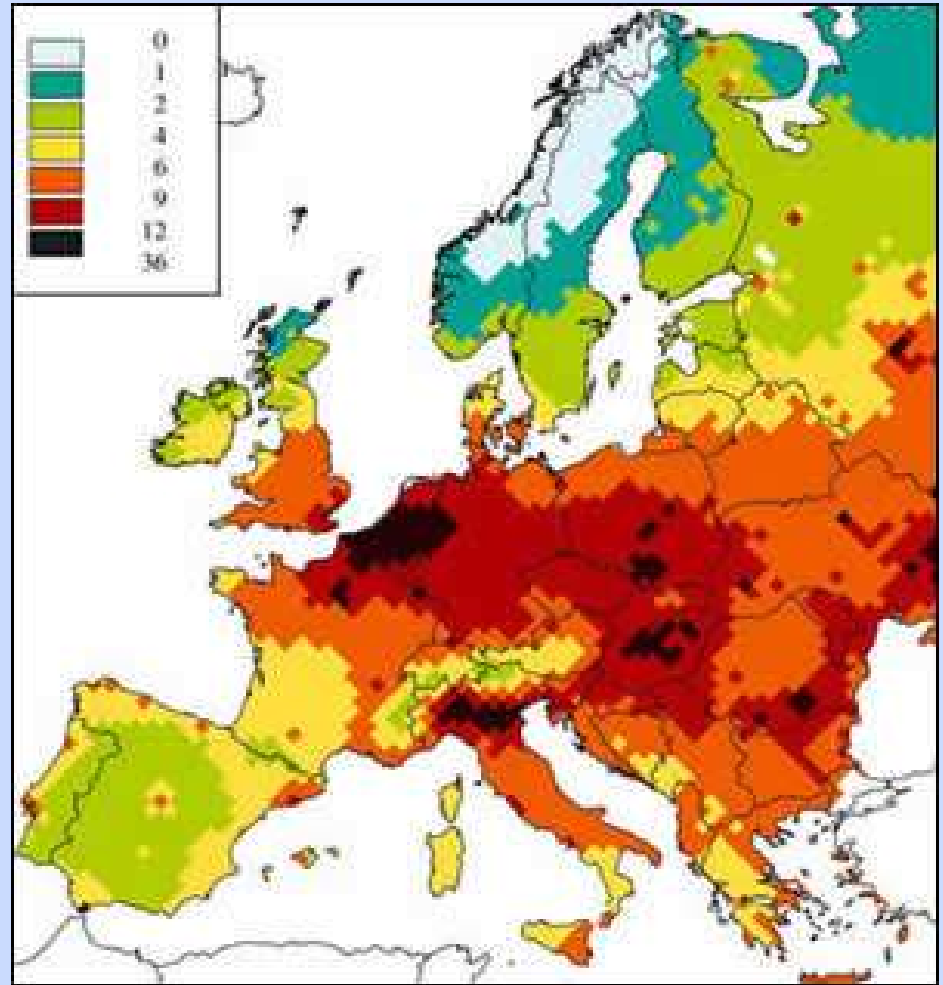
Des particules secondaires

De l'ozone

Du dioxyde d'azote...

La pollution réduit notre espérance de vie de neuf mois et engendre une augmentation des affections respiratoires telles que la bronchite et l'asthme.

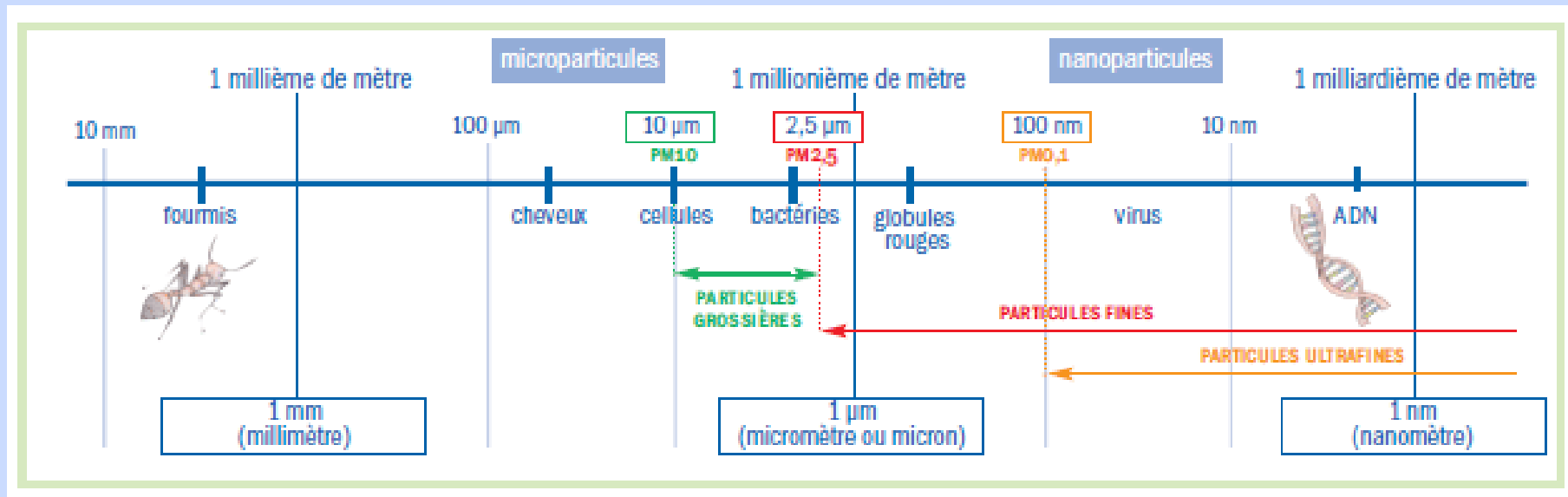
Selon les dernières études en date, quelque 400 000 Européens meurent prématurément chaque année à cause de la pollution atmosphérique. Les maladies provoquées par la concentration actuelle de particules en suspension dans l'air entraînent plus de 100 000 hospitalisations supplémentaires chaque année.



Pertes d'espérance de vie moyenne statistique (en mois) dues à des PM2,5 anthropogéniques

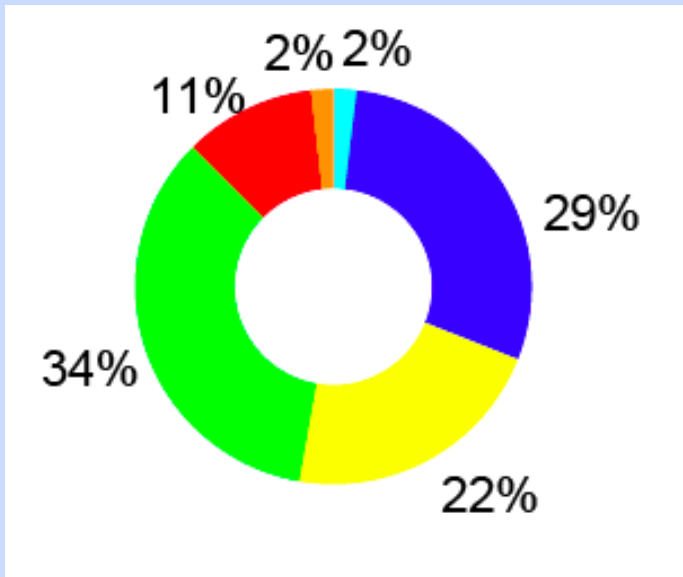
LES PARTICULES (PM10 ET PM2,5)

L'un des risques majeurs pour la santé publique est celui lié aux particules en suspension dans l'air. Le diamètre de ces particules, désignées sous l'acronyme PM (pour "particulate matter"), se mesure en millionième de mètre. Les particules "fines" dont le diamètre est inférieur ou égal à 10 millionièmes de mètre (les PM10 ou inférieures) s'inhalent facilement. Elles pénètrent profondément dans les poumons et sont à l'origine de graves troubles cardiaques et respiratoires.

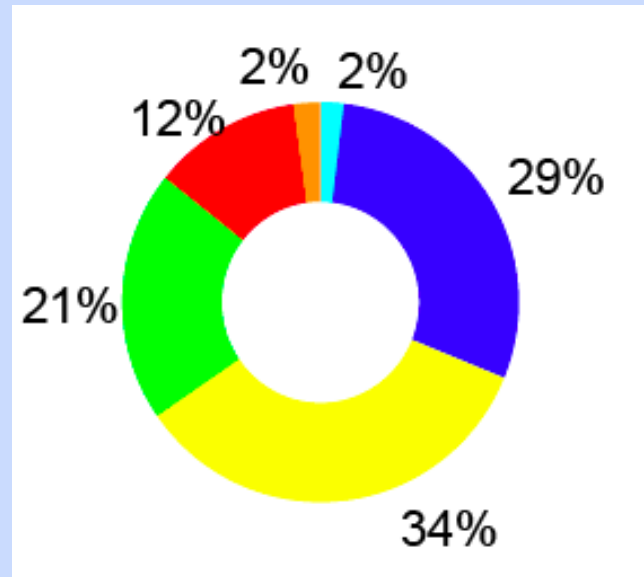


Sources d'émission

PM10



PM2,5



Transformation énergie

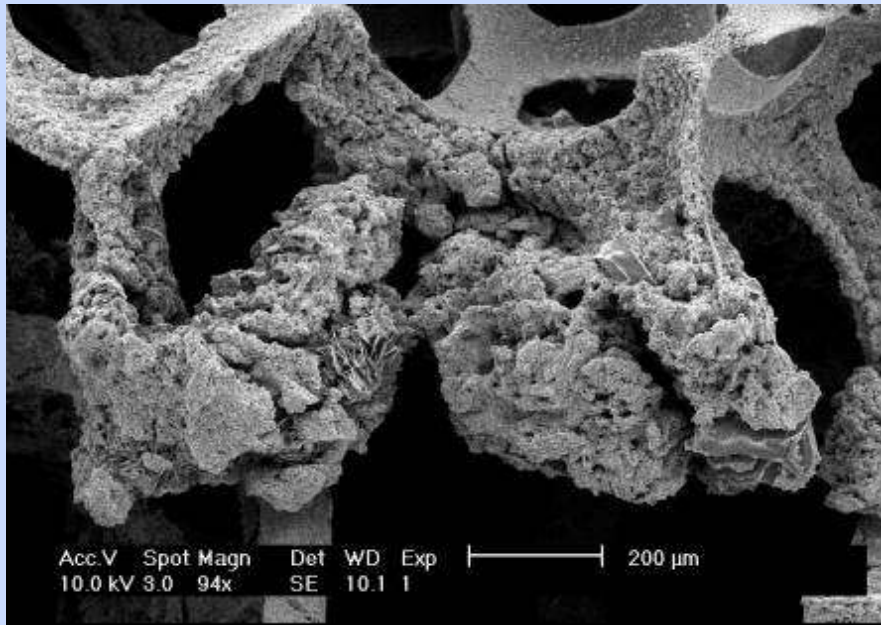
Industrie manufacturière

Résidentiel/tertiaire

Agriculture/sylviculture

Transport routier

Autres transports



Les végétaux :

capteurs naturels de la pollution atmosphérique particulaire

Expertises en pollution atmosphérique (bioindication-bioaccumulation)

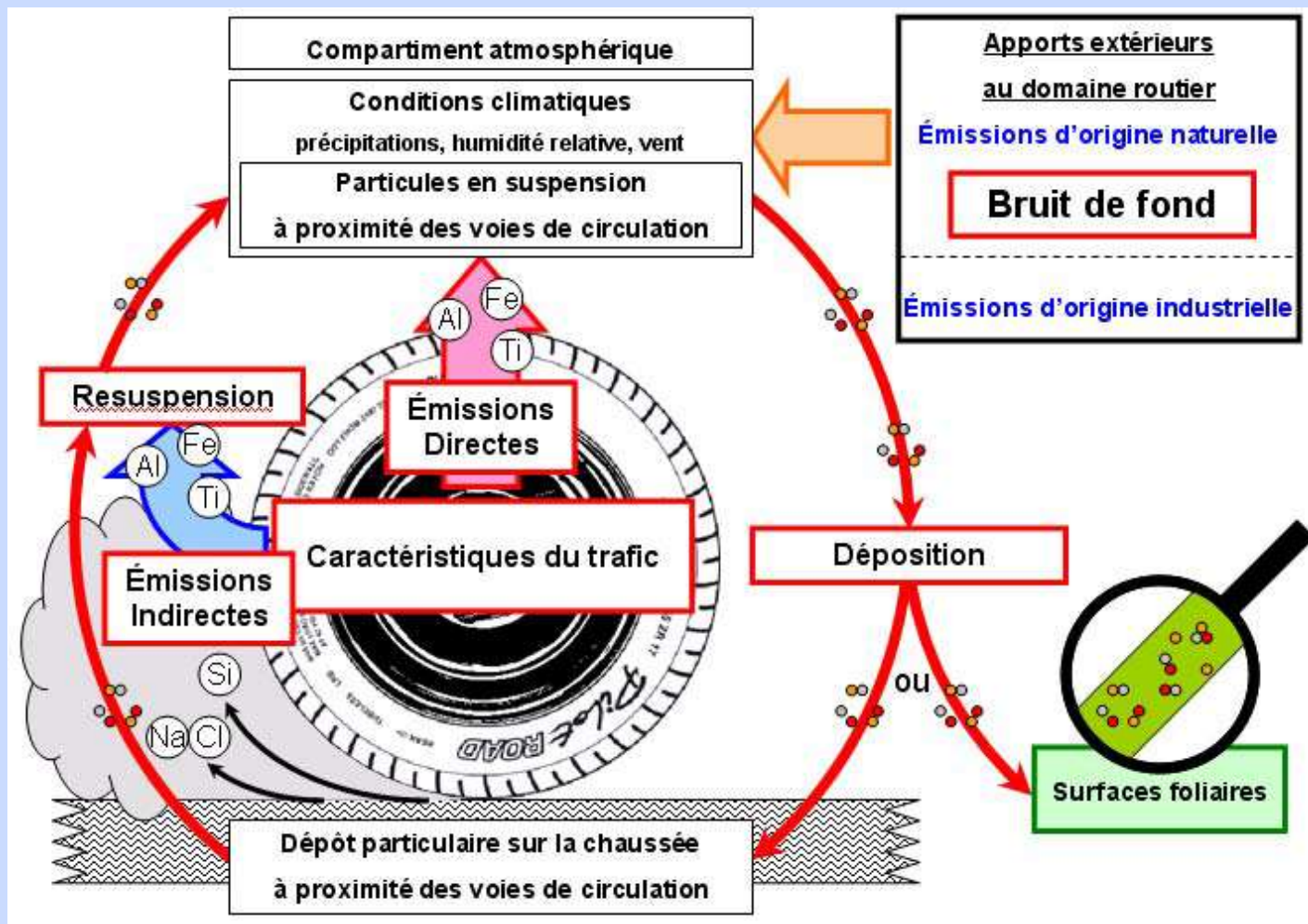


Pollution indirecte
re-suspension
pluies, vents, etc...

Pollution directe
Pol. routière
Pol. industrielle

Pluvio-lessivats

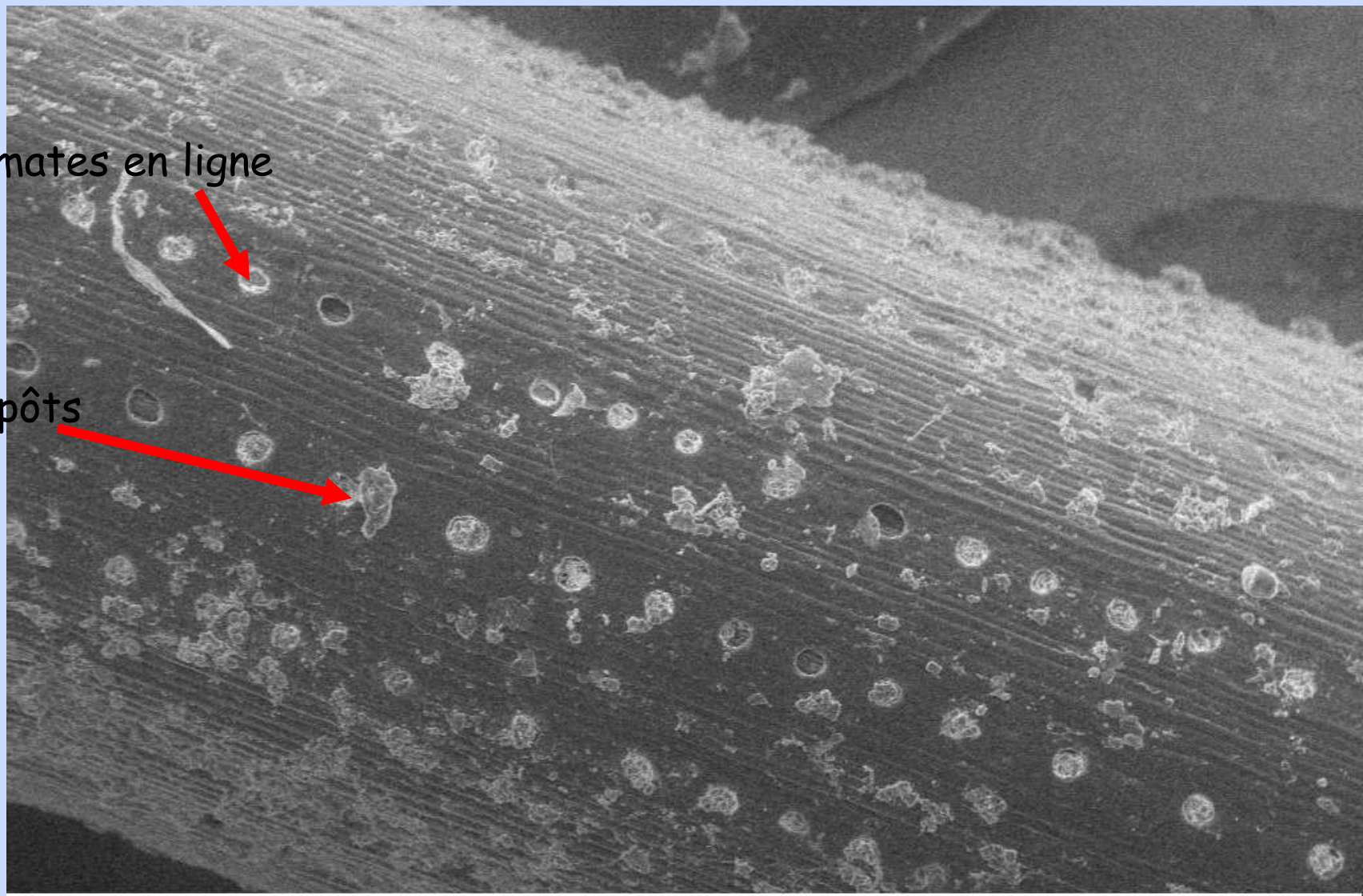
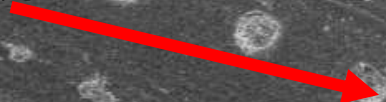
Exemple: microanalyse EDS de dépôts extraits de surfaces foliaires exposées à la pollution atmosphérique (sites industriels, voies routières,...) Thèse X. Laffray



Stomates en ligne



Dépôts



EHT = 15.00 kV

WD = 9 mm

Signal A = VPSE

20µm
H

Date :10 Déc 2004

CLICHE MEB X.LAFFRAY
INRA NANCY (FR)

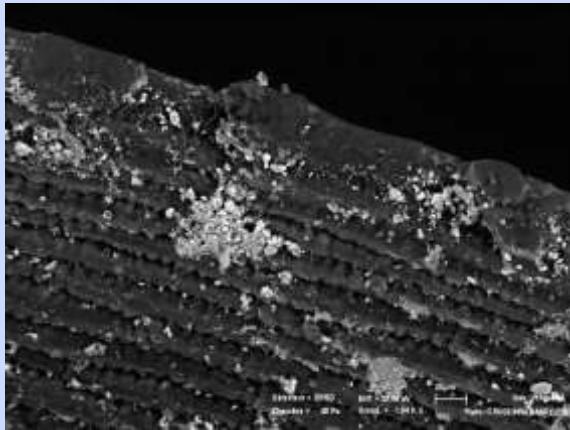
Taille de sonde = 350

Platine: Z = 33.556 mm

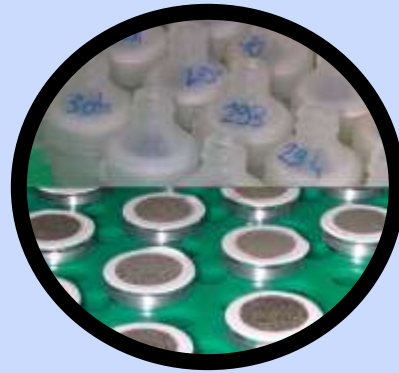
Grand. = 250 X

Heure :12:59:39

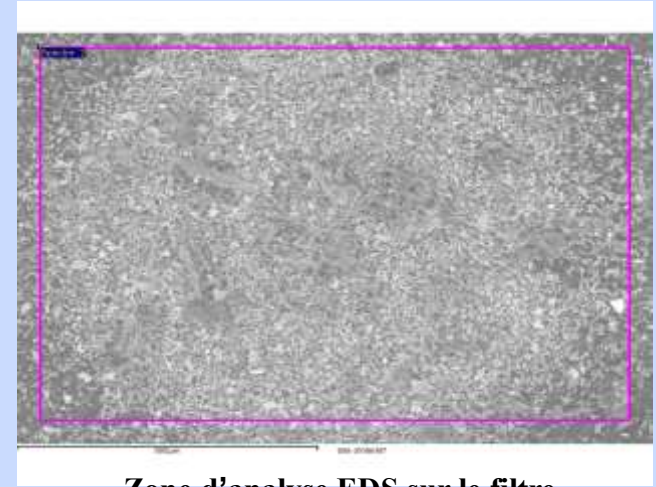
Exemple: microanalyse EDS de dépôts extraits de surfaces foliaires exposées à la pollution atmosphérique (sites industriels, voies routières,...) Thèse X. Laffray



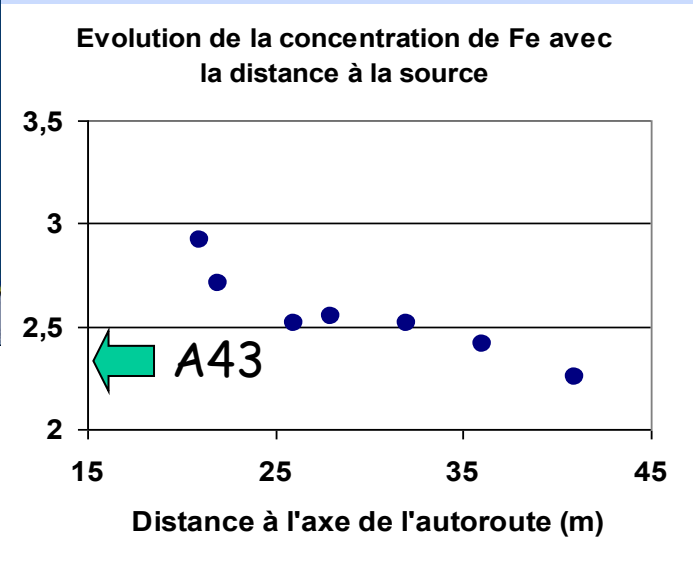
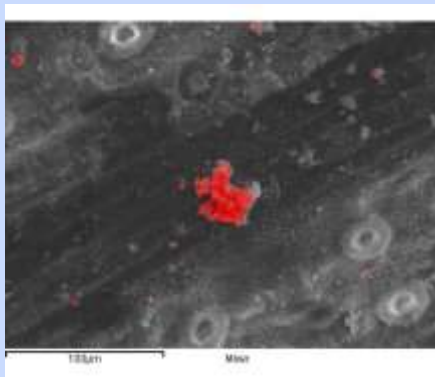
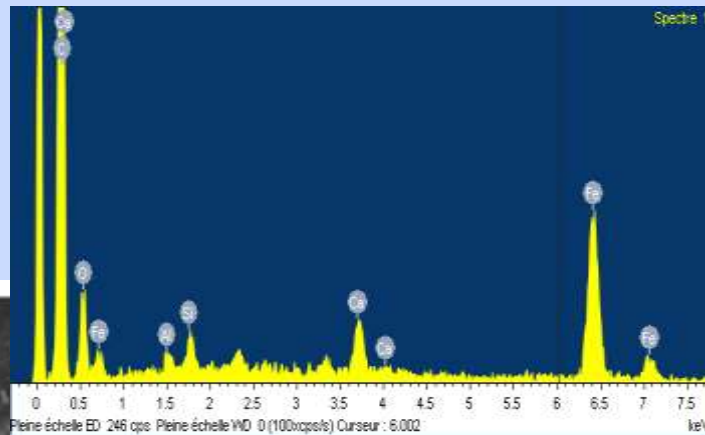
Aiguille de pin



Filtres d'extraction



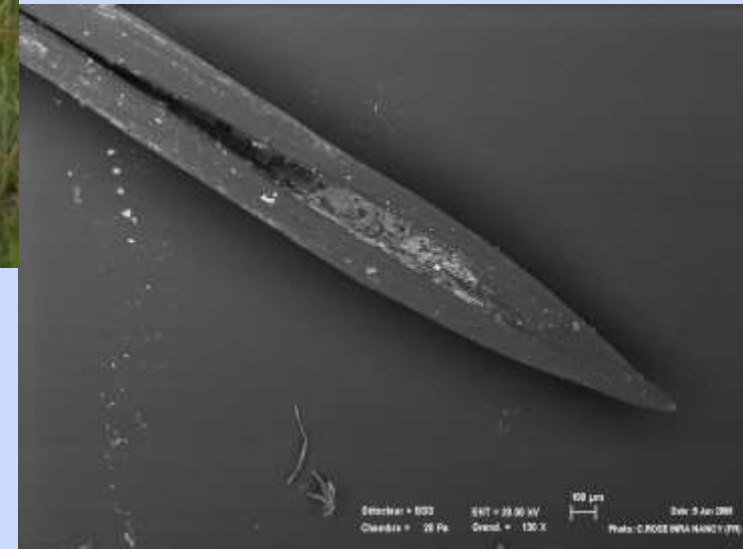
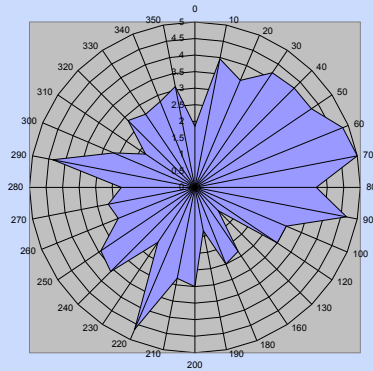
Zone d'analyse EDS sur le filtre

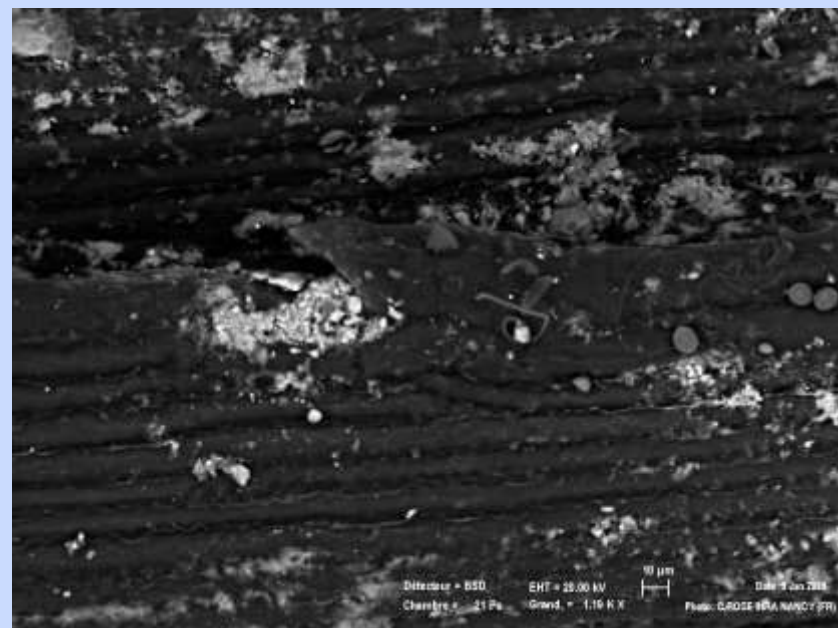
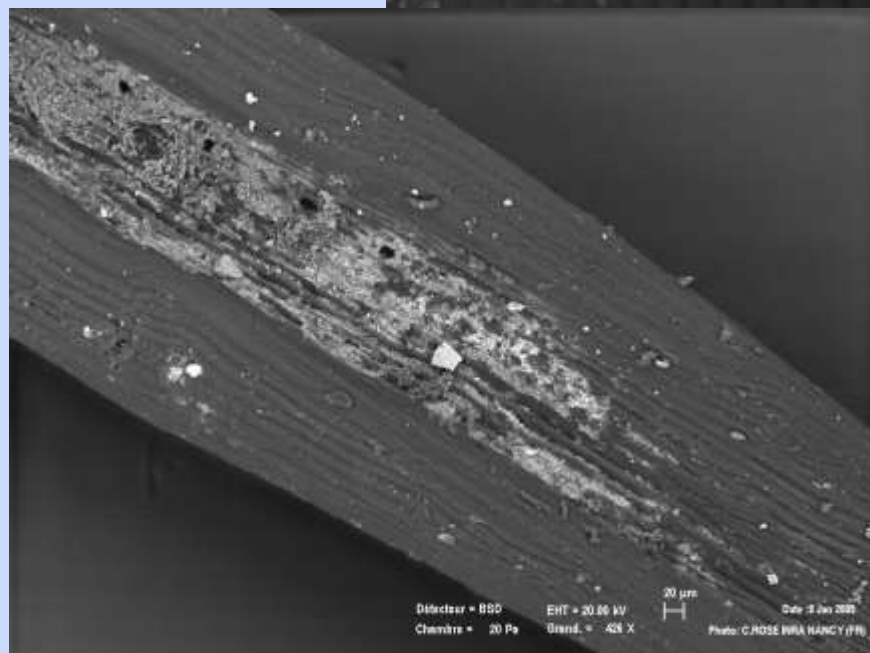
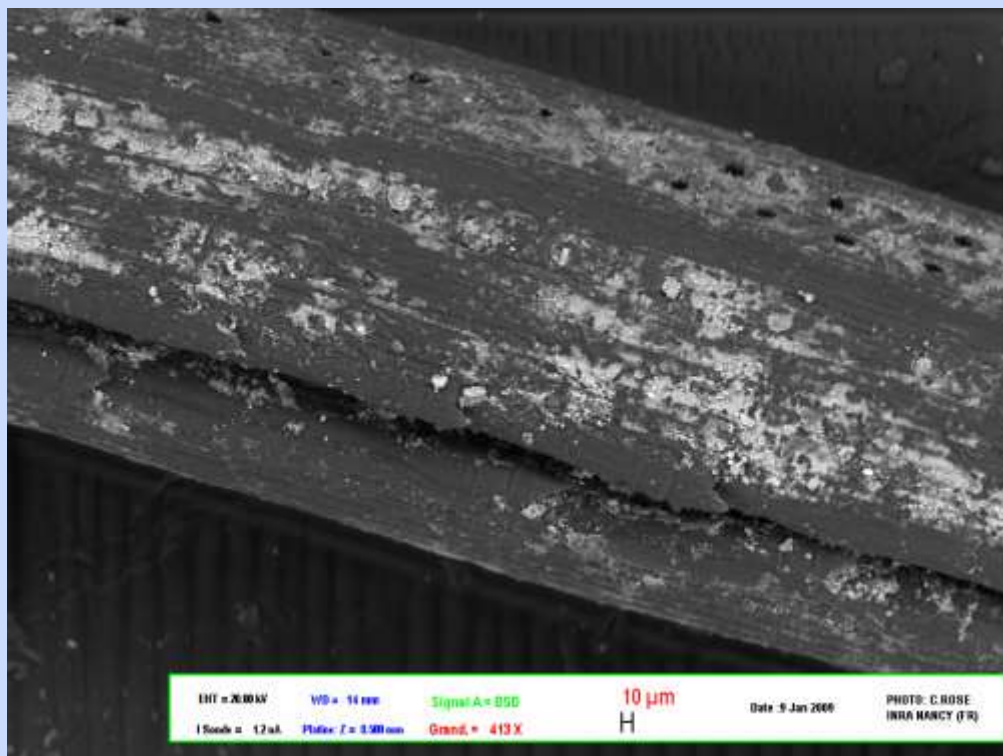


Autres études : étude de la qualité de l'air aux abords des aéroports de Paris-Orly et de Paris-Charles de Gaulle par la mesure des dépôts particulaires foliaires



Pin noir d'Autriche
Exposition 34 jours

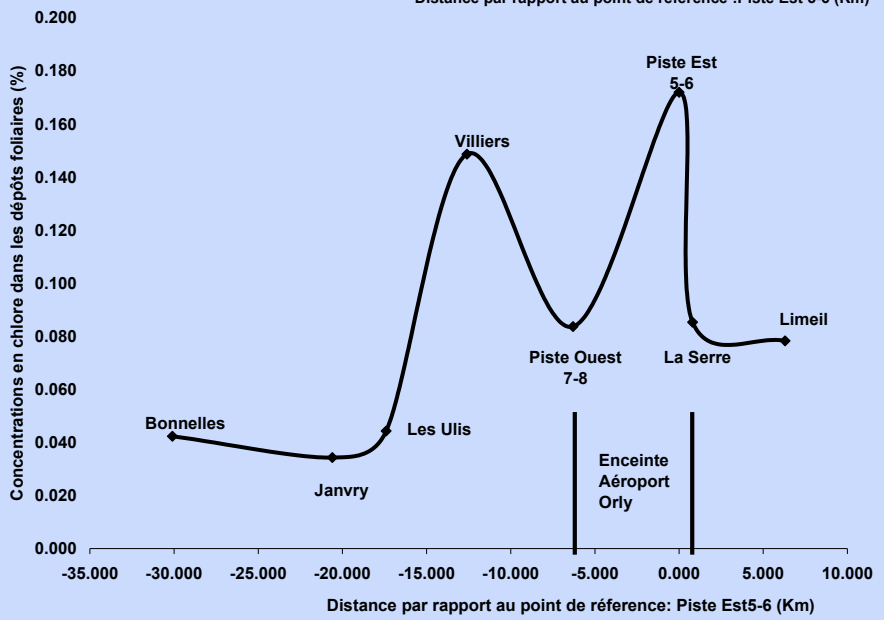
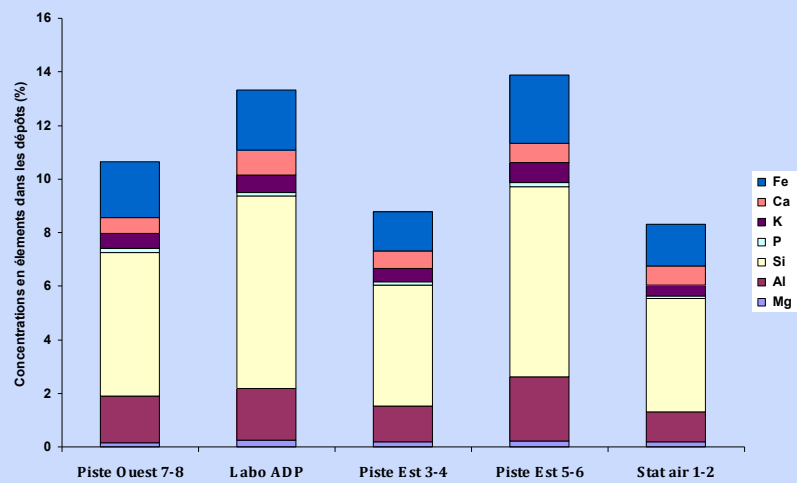
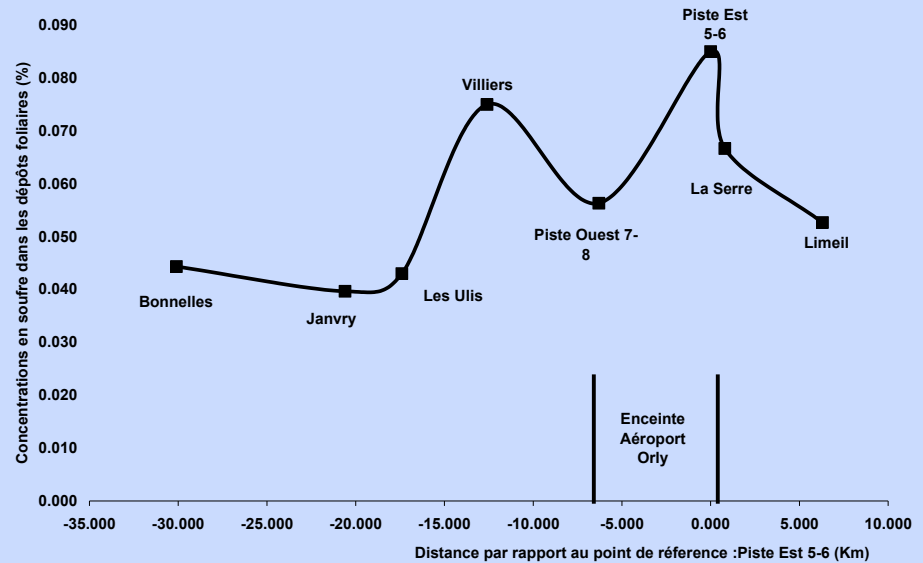




Évaporation carbone, grandissement de 500 X, une surface totale balayée de 1.3mm² au centre du filtre a été effectuée sous une tension d'accélération de 25 KV, un courant de sonde de 1.5nA



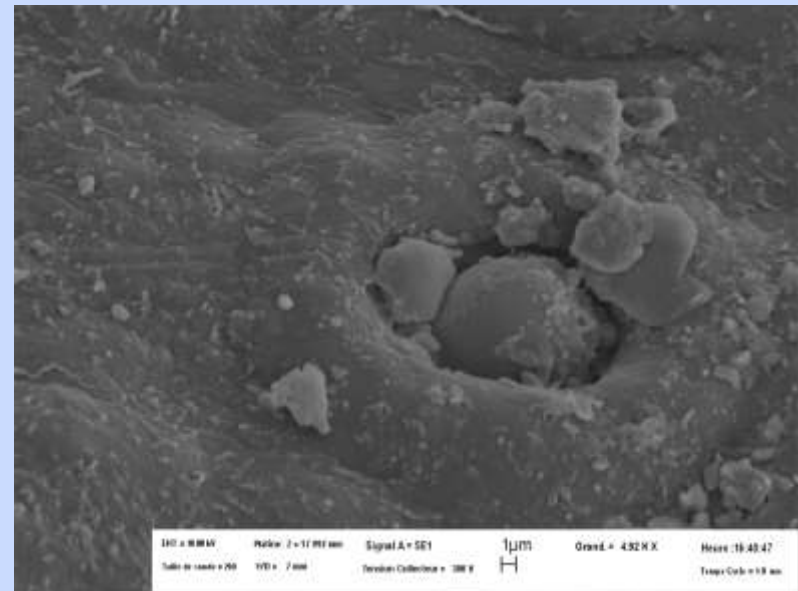
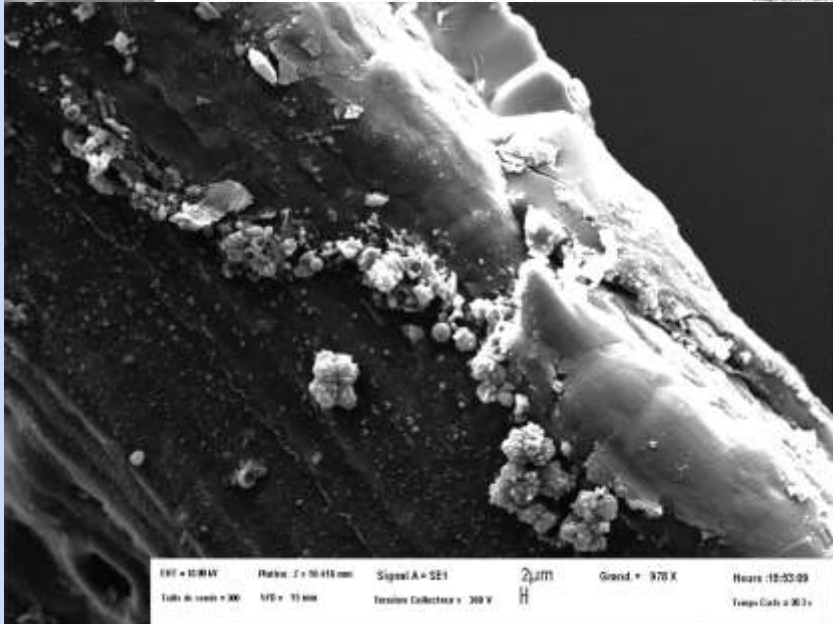
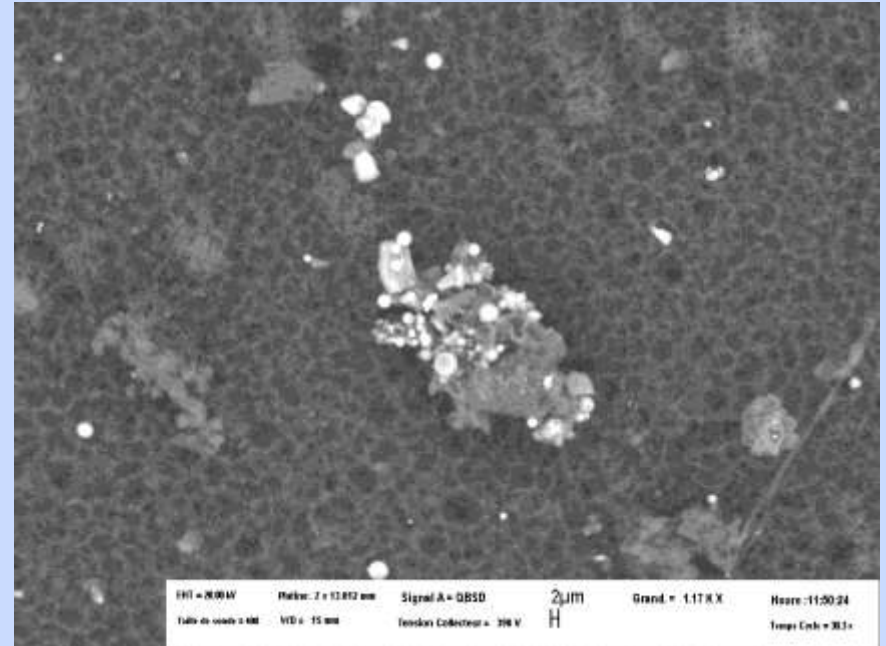
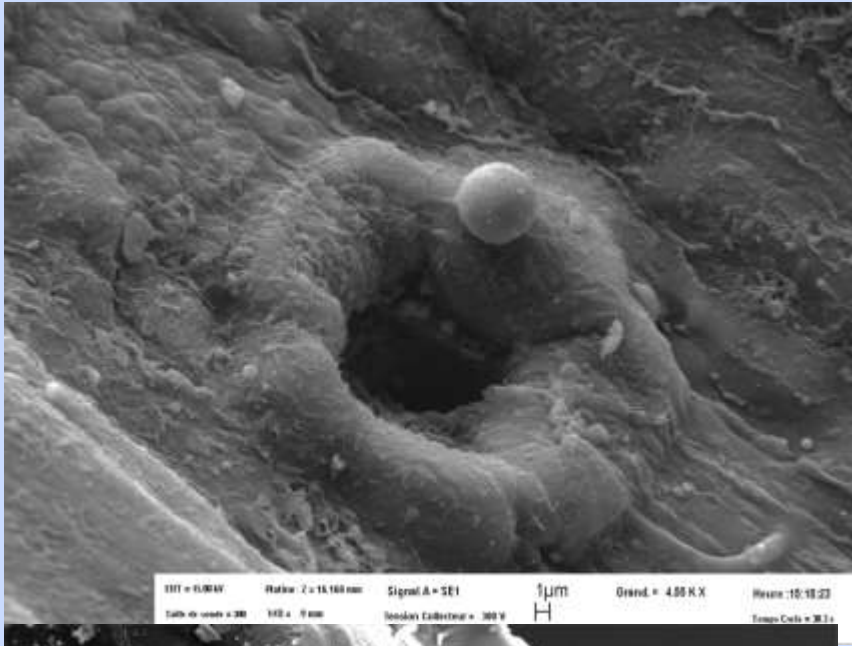
soufre

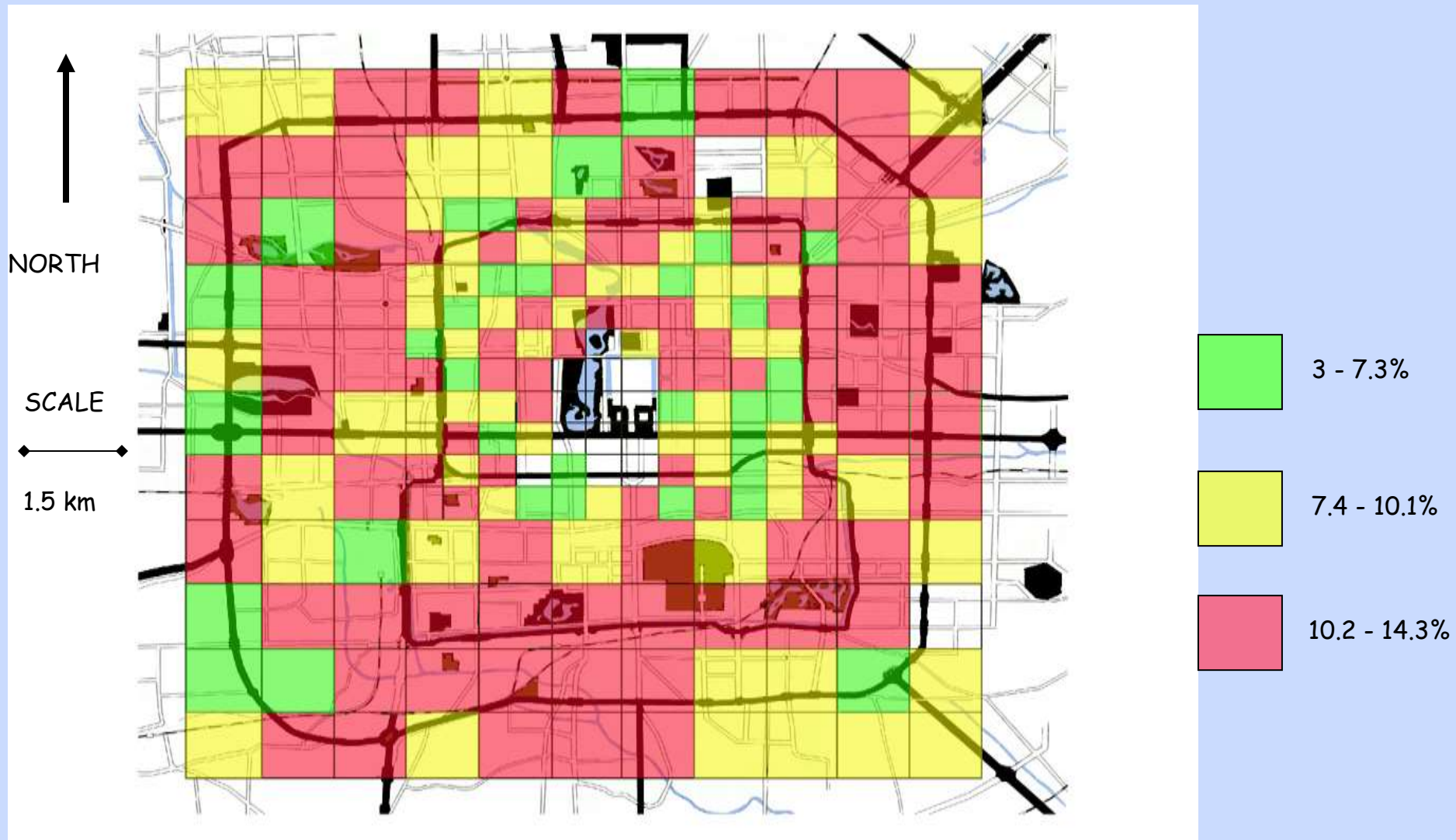


chlore

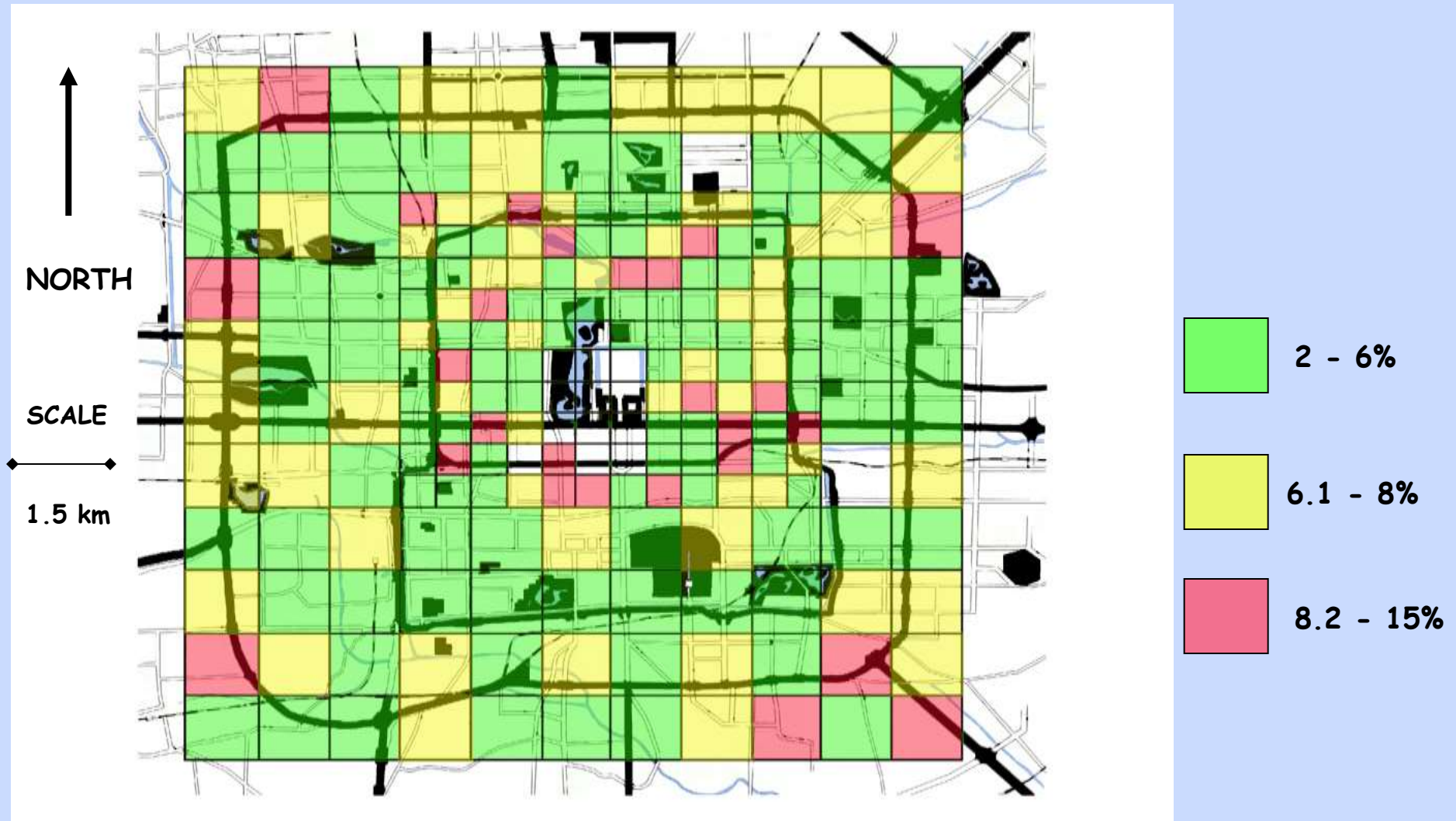
Autres exemples

dépérissement de pins aux abords du centre pétrochimique de Carling (57)





LOCALIZATION AND LEVELS OF IRON PARTICULATE AIR-POLLUTION ON BEIJING



LOCALIZATION AND LEVELS OF **SULFUR** PARTICULATE AIR-POLLUTION ON BEIJING

Fusée Ariane 5 : test sur les boosters

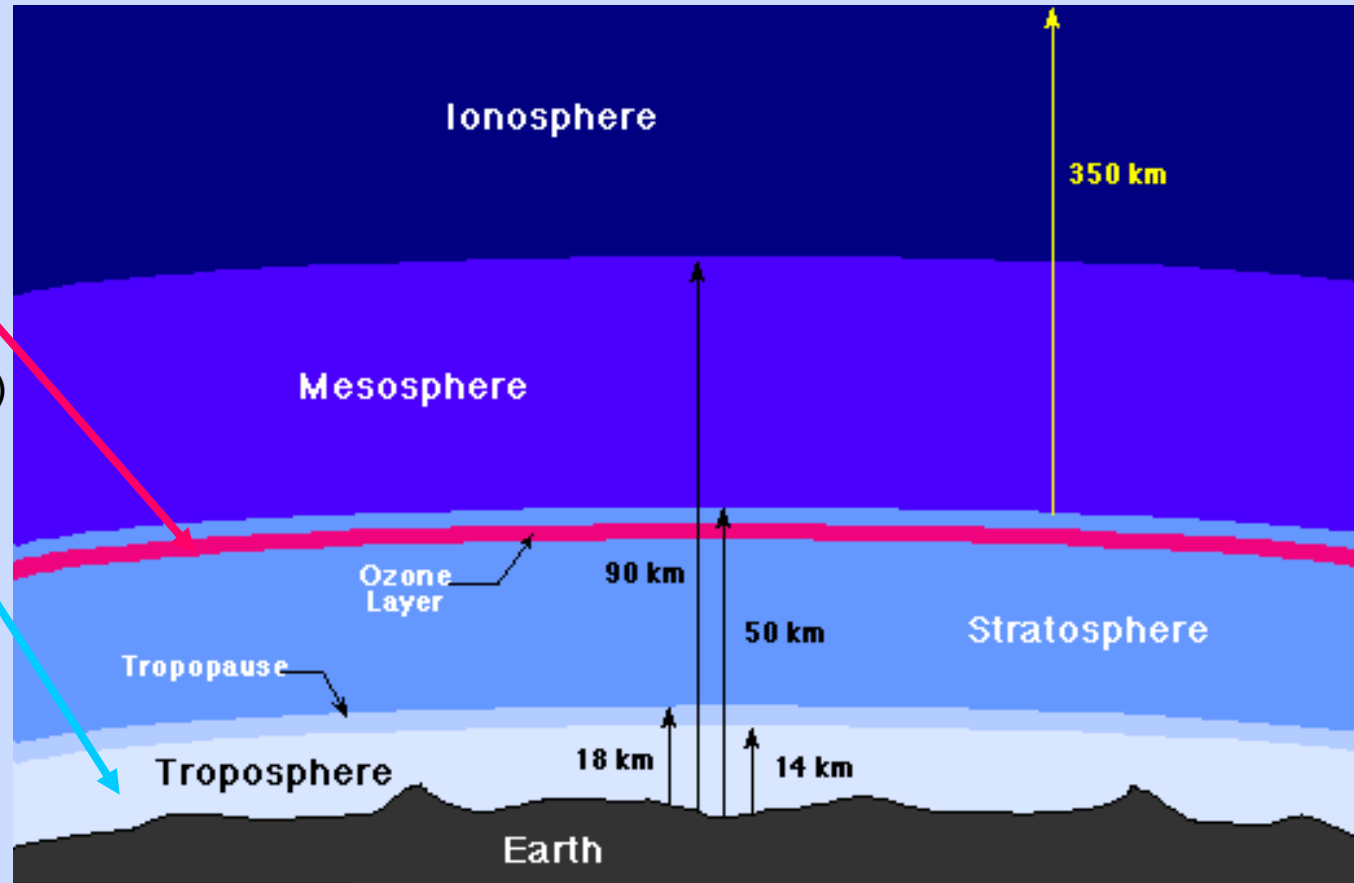


Acidité + Si + Al

SMOG - OZONE



What is the tropospheric ozone ?



Stratospheric Ozone

= "good" ozone (90%)

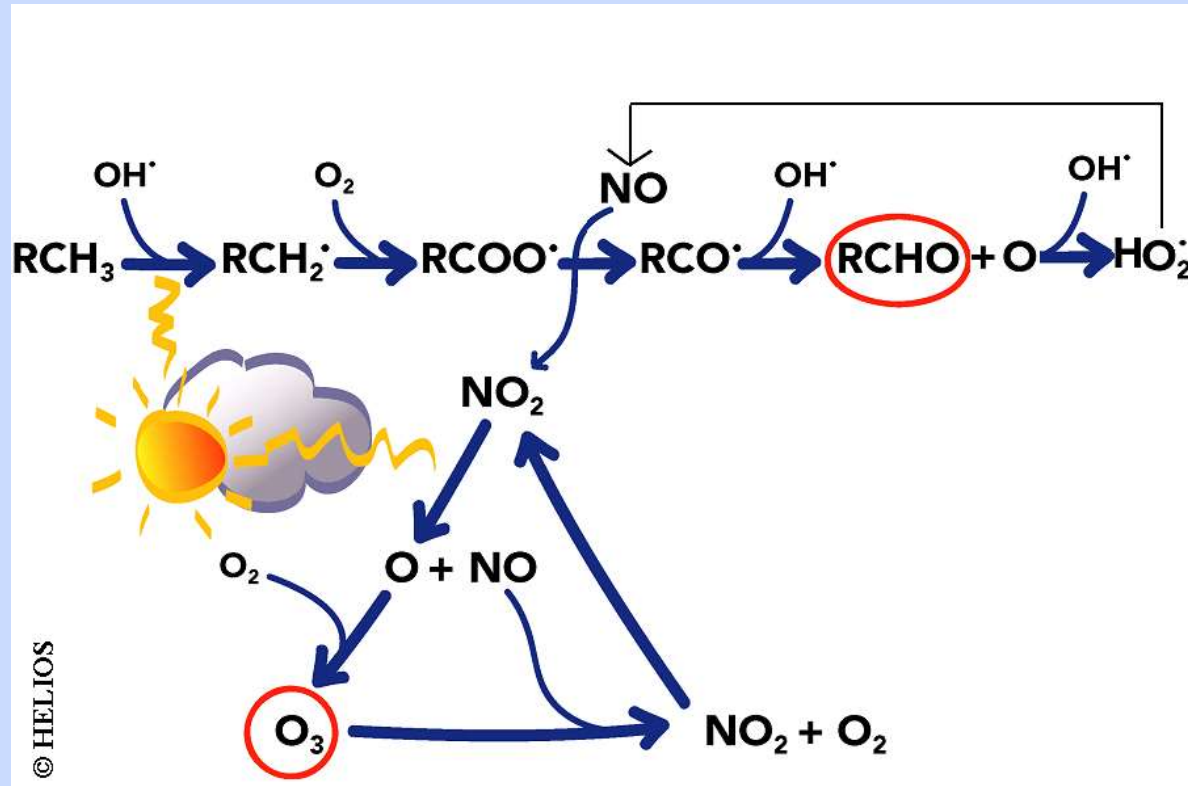
Tropospheric ozone

= "bad" Ozone (10%)

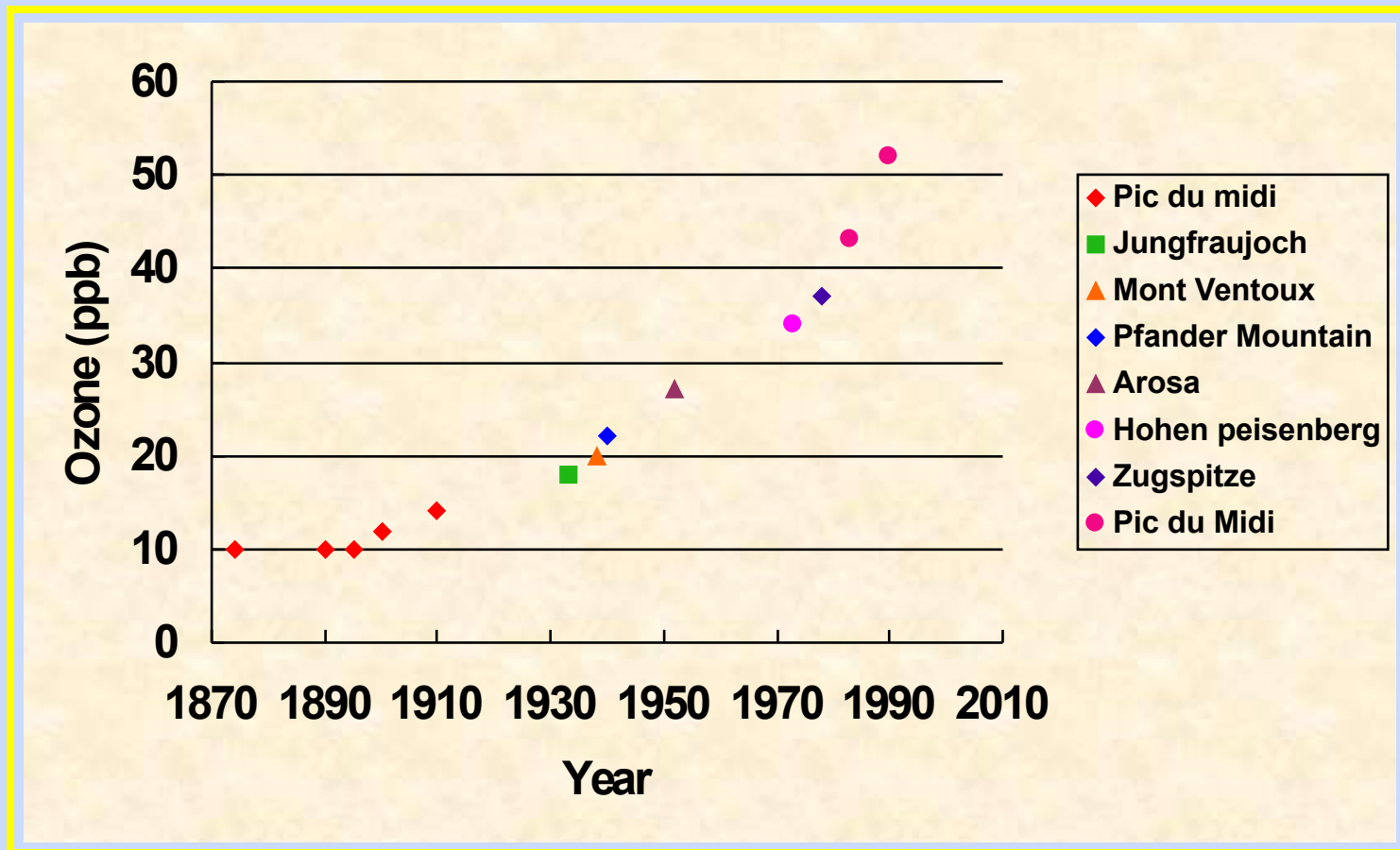
OZONE (O₃)

L'ozone est un polluant secondaire, produit sous l'effet du rayonnement solaire lors de réactions chimiques complexes entre certains polluants dits primaires : les oxydes d'azote et les composés organiques volatils (COV).

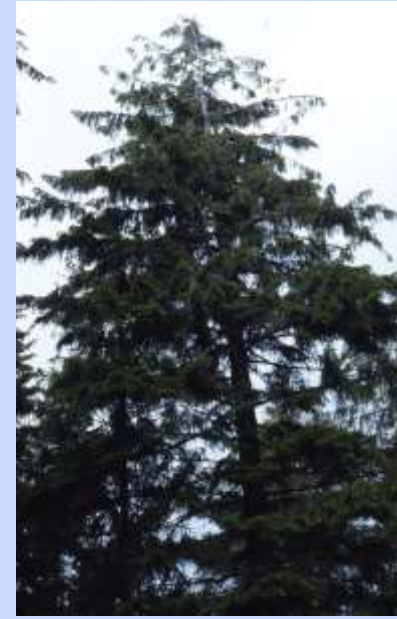
L'ozone a une durée de vie de quelques jours dans les basses couches de l'atmosphère, de sorte qu'il peut être transporté loin de sa zone de production, tout comme ses précurseurs : cette pollution s'observe en général de manière plus intense en été dans les régions périurbaines et rurales sous le vent des agglomérations.



Evolution since 1870



Why researches about ozone? Acid rains
Forest decline in Vosges mountains in 1980's



Plant sensitivity to ozone



Photos by E. Calvo, V. Catala

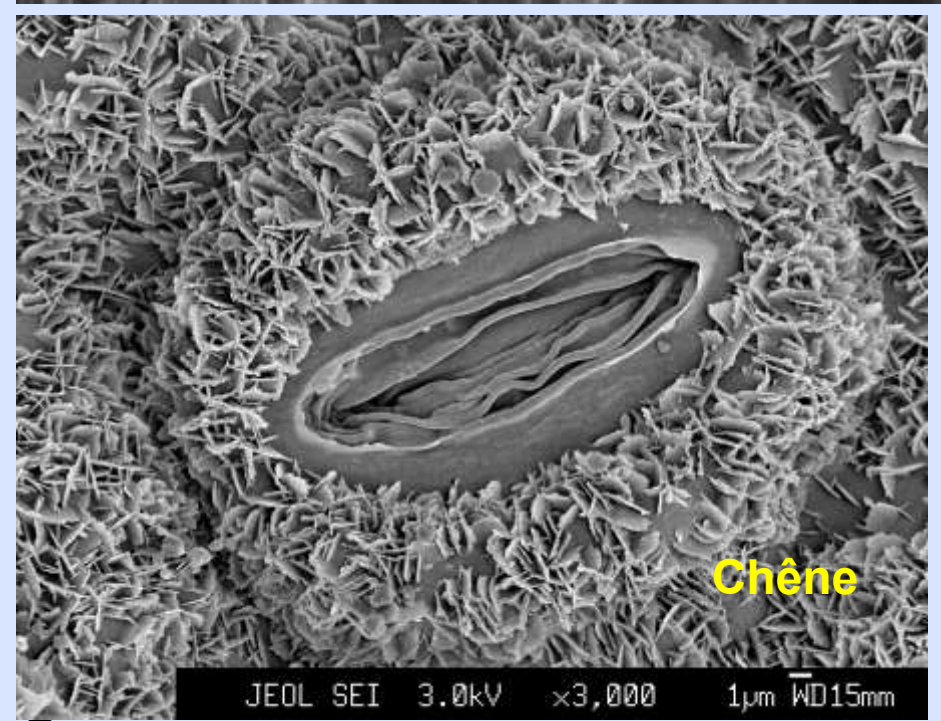
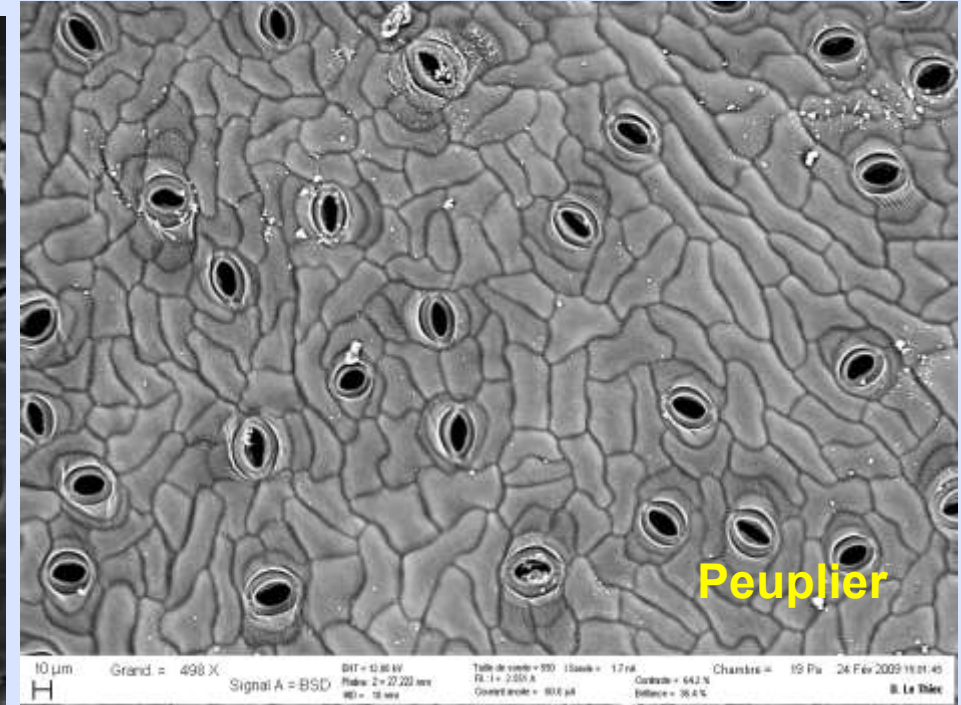
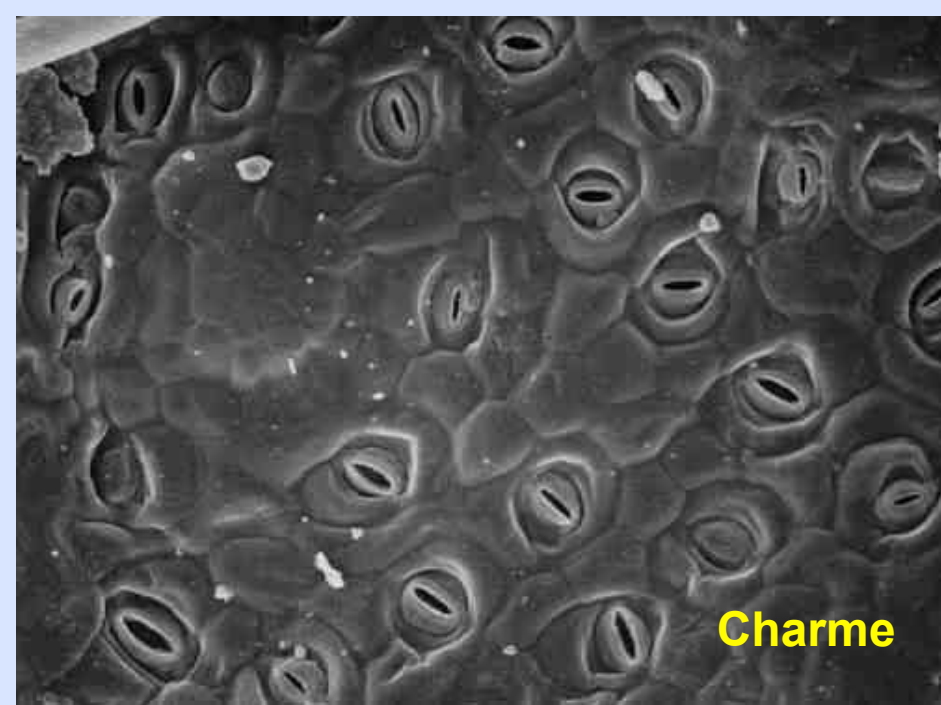


Ozone symptoms:

- Leaf fall
- Biomass losses
- Necrosis and discoloration

Sensitivity to ozone

- Different between species
- Different between genotypes





🌿 Growth and biomass measurements

- Assessment of the ozone sensibility among genotypes

🌿 Gas exchange measurements

- Monitoring stomatal conductance and stomatal responses

🌿 Metabolomic analyses

- Overview of antioxidants and primary metabolites

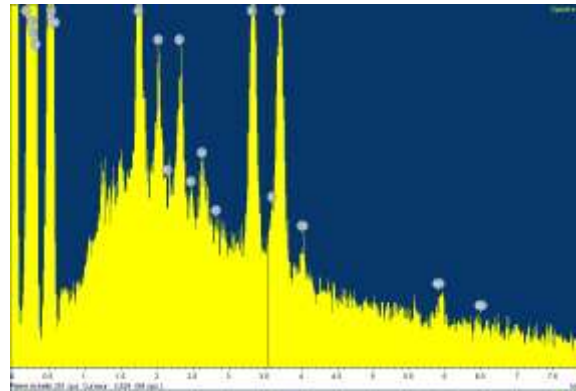
🌿 Gene expression analyses

- Expression of genes of interest in leaf and guard cells

🌿 Microscopy

- Observations of stomatal density, size and ultrastructure of stomata

- Analysis of element contents in guard cells

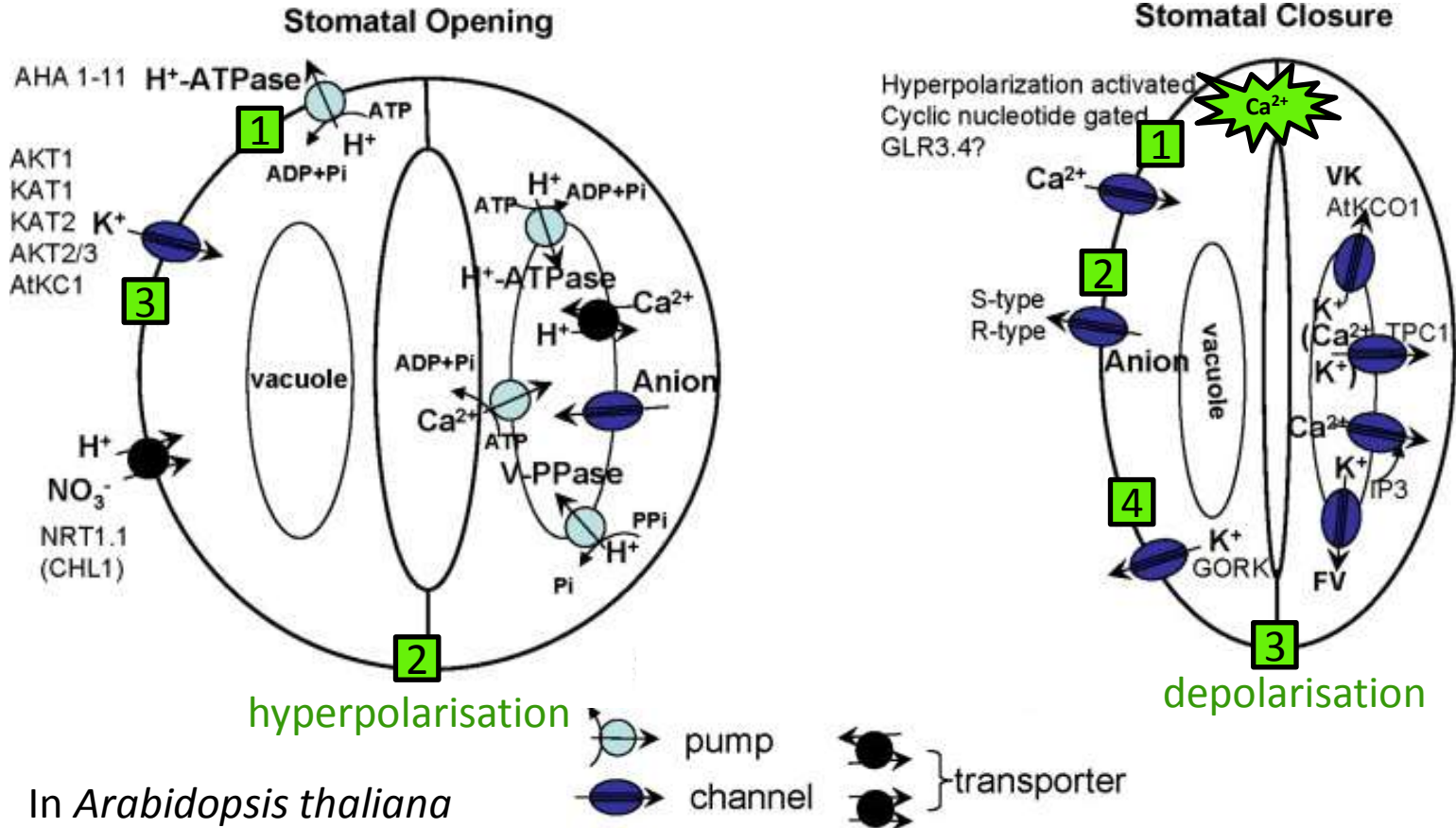


Multi-scale integrative approach



Series of events involved on stomatal movements

Panday *et al.*, 2007



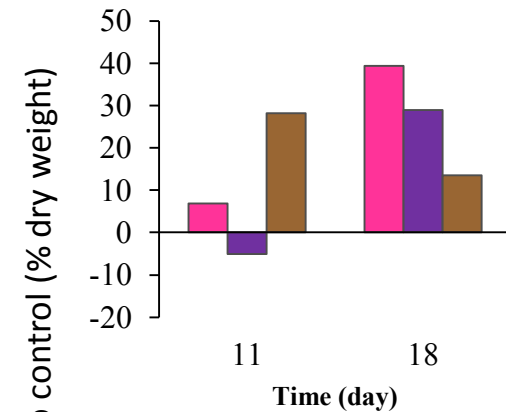
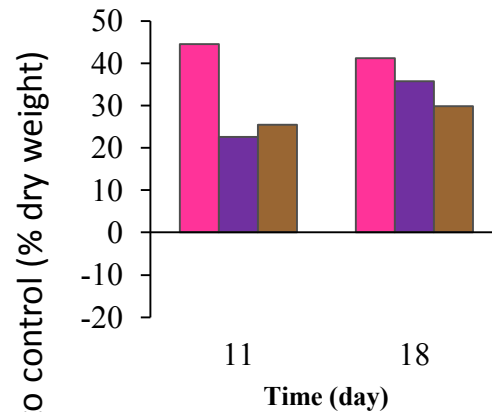
Cooperation of many plasma membrane and vacuolar channels, pumps and transporters

➡ Contrasting element contents and expression of genes encoding channels could be responsible for stomatal conductance differences

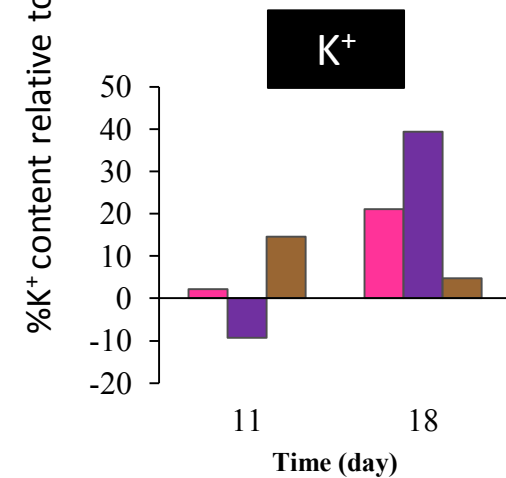
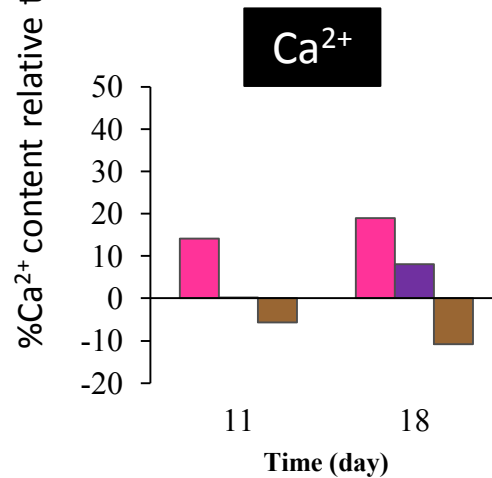
Are element contents modified by ozone?

Dumont *et al.*, PCEdoi: 10.1111/pce.12293

Adaxial side



Abaxial side



- Ozone leads to a significant increase in calcium content in adaxial guard cells since the 11th day
- Ozone leads to significant potassium accumulation in guard cells since the 18th day

