



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

74275348

UNIVERSITE DE METZ

THESE

pour l'obtention du grade de

Docteur de l'Université de Metz
Spécialité "Science de la Vie"

présentée et soutenue publiquement
 le 26 novembre 2002

par

Jonathan Signoret

BIBLIOTHEQUE UNIVERSITAIRE - METZ	
N° inv.	20020415
Cote	S/MZ 02/13
Loc	

ETUDE DE LA QUALITE DE L'AIR
EN LORRAINE-NORD PAR LES LICHENS :
 CONTRIBUTION EN TANT QUE BIOINDICATEURS ECOLOGIQUES,
 BIOACCUMULATEURS D'ELEMENTS CHIMIQUES
 ET BIOMARQUEURS DU STRESS OXYDANT

Directeurs de thèse :
 Professeur Serge MULLER
 Professeur Jean-François FERARD

Composition du Jury :

Mme Juliette ASTA, MCF, HDR
 M. Jacob GARTY, professeur

Université de Grenoble
 Université de Tel Aviv, Israël

rapporteur
 rapporteur

M. Jean-François FERARD, professeur
 M. Serge MULLER, professeur
 Mme Chantal VAN HALUWYN, professeur
 Mme Sophie AYRAULT, ingénieur
 Mme Laurence GALSOMIES, ingénieur

Université de Metz
 Université de Metz
 Université de Lille II
 Commissariat à l'Energie Atomique de Saclay
 Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de
 l'Energie

invitée
 invitée

M. Daniel LEBOIS, ingénieur

Association pour l'Exploitation du Réseau de Mesure
 de la Qualité de l'Air des vallées de la Fensch, de
 l'Orne et de la Moselle

invité

UNIVERSITE DE METZ

THESE

pour l'obtention du grade de

Docteur de l'Université de Metz
Spécialité "Science de la Vie"

présentée et soutenue publiquement
le 26 novembre 2002

par

Jonathan Signoret

ETUDE DE LA QUALITE DE L'AIR
EN LORRAINE-NORD PAR LES LICHENS :
CONTRIBUTION EN TANT QUE BIOINDICATEURS ECOLOGIQUES,
BIOACCUMULATEURS D'ELEMENTS CHIMIQUES
ET BIOMARQUEURS DU STRESS OXYDANT

Directeurs de thèse :
Professeur Serge MULLER
Professeur Jean-François FERARD

Composition du Jury :

Mme Juliette ASTA, MCf, HDR	Université de Grenoble	rapporteur
M. Jacob GARTY, professeur	Université de Tel Aviv, Israël	rapporteur
M. Jean-François FERARD, professeur	Université de Metz	
M. Serge MULLER, professeur	Université de Metz	
Mme Chantal VAN HALUWYN, professeur	Université de Lille II	
Mme Sophie AYRAULT, ingénieur	Commissariat à l'Energie Atomique de Saclay	invitée
Mme Laurence GALSOMIES, ingénieur	Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie	invitée
M. Daniel LEBOIS, ingénieur	Association pour l'Exploitation du Réseau de Mesure de la Qualité de l'Air des vallées de la Fensch, de l'Orne et de la Moselle	invité

« Quel avantage peut-on retirer de l'étude des Lichens ? Un homme sérieux peut-il raisonnablement employer ses loisirs à observer ces végétaux minuscules qu'on décore vulgairement du nom de saletés? N'est-ce pas là un amusement puéril? Sous une forme un peu triviale, cette question m'a été posée maintes fois. «A quoi cela sert-il, Monsieur le Curé? Pour quoi est-ce bon? » Telle est la formule par laquelle commence invariablement l'interrogatoire. Comment répondre? Je m'en tire de mon mieux. Aux vieillards, je dis que c'est bon pour faire de la tisane; aux nez rouges, je dis qu'on peut distiller cela, et que cela donne de l'alcool; aux savants, je dis que c'est bon pour l'étude. Hélas! Ami lecteur, à aucun je ne puis découvrir toute ma pensée; permettez que je m'en dédommage près de vous. Il est profondément regrettable que l'on n'estime, au temps où nous vivons, que ce qui peut servir à notre alimentation ou à notre vêtement, ou, en général, à notre bien-être matériel. »

Abbé J. Harmand (1894). Catalogue descriptif des lichens observés dans la Lorraine. *Bulletin de la Société des Sciences de Nancy*.

REMERCIEMENTS

Ma première rencontre avec la lichénologie remonte à l'année 1996. J'étais alors étudiant en licence de biologie à Metz, et un heureux hasard m'a conduit à la lecture de deux ouvrages : "Les lichens, témoins de la pollution" de Déruelle et Lallemant (1983) et "Guide des lichens" de Van Haluwyn et Lerond (1993). Ils présentaient les lichens comme bioindicateurs de la qualité de l'air, mais également la biologie étonnante de ces organismes remarquablement complexes. Il me reste un excellent souvenir de cette première immersion dans ce monde fabuleux.

C'est à l'issue de mon stage de licence dans un laboratoire de recherche, toujours à l'Université de Metz, que j'ai pris la décision d'opter pour une maîtrise avec un stage sur les lichens comme bioindicateurs de la qualité de l'air dès l'année suivante. Je m'étais convaincu, au contact de François Guérold et Jean-François Mony, que cette discipline mal connue mélangeait des aspects cartographiques, biologiques, atmosphériques du plus grand intérêt. De plus, l'aspect expérimental de ces problèmes avait séduit ma curiosité : j'avais découvert avec bonheur un domaine de la biologie où il était possible de réaliser facilement des diagnostics, dans ma propre ville, en observant des arbres pour y dénicher des lichens, le nez collé au tronc. J'avais au cours de ce premier stage énormément apprécié la grande liberté que m'avait laissée Serge Muller dans l'organisation et les orientations de mon travail. Ses nombreuses suggestions, sa grande curiosité scientifique et son souci d'intégrer ces champignons lichénisés dans l'estimation de la biodiversité en Lorraine m'avaient également séduit. J'ai donc accepté sans hésiter le stage de DEA de toxicologie de l'environnement qu'il me proposait à Metz, en collaboration avec Jean-François Férard, directeur du DEA, qui cherchait à éclaircir le rôle du stress oxydant chez les lichens. Au cours de toutes ces années, j'ai beaucoup appris à leurs côtés et je leur en suis réellement reconnaissant.

Au début de mon DEA, j'ai fait la connaissance de Chantal Van Haluwyn, qui venait donner des cours captivants. Pendant les quatre années qui ont passé depuis, Chantal m'a constamment soutenu, encouragé, stimulé, elle qui s'est véritablement dévouée à la bioindication lichénique. J'ai beaucoup apprécié ses remarques pertinentes et ses suggestions auxquelles je prêtai la plus grande attention. Dans un registre différent, mais très complémentaire de celui de Chantal, Paul Diederich que j'ai rencontré en 1998 m'a également beaucoup soutenu. Par ailleurs, son souci de rigueur et sa collaboration dans la rédaction d'articles m'ont permis de faire d'énormes progrès en matière de communication scientifique. En tant que leur disciple, je les remercie très chaleureusement.

L'ensemble du travail accompli depuis ce DEA n'aurait pas été possible sans le concours de Daniel Lebois, directeur d'AERFOM^a, qui à la suite de nos premières rencontres a accepté de s'engager sur une longue période en cofinçant ma thèse. Outre l'apport financier qui a permis cette étude, Daniel Lebois m'a apporté le recul nécessaire à cette étude. Cette décision est courageuse, puisqu'elle éloigne sensiblement AERFOM de la surveillance quotidienne de la qualité de l'air. L'ADEME^b, offrant chaque année 80 allocations destinées à soutenir la préparation de thèses de doctorat essentiellement technologiques, a encouragé par son cofinancement et son encadrement la réalisation de cette étude. J'ai apprécié la grande autonomie offerte par Laurence Galsomiers. Je dois à ces deux personnes et à leurs structures, de sincères remerciements pour m'avoir donné l'opportunité de réaliser ce travail ainsi que pour leur confiance et leurs nombreux encouragements. Je remercie vivement Sophie Ayrault et le laboratoire Pierre Süe pour leur accueil et la réalisation des dosages des éléments chimiques dans les lichens.

Enfin, je souhaite remercier chaleureusement Mme Juliette Asta et M. Jacob Garty d'avoir accepté d'être les rapporteurs de ce travail de recherche.

Dans l'environnement du laboratoire, de nombreuses personnes ont également contribué à ma formation et à mon travail, en premier lieu Jean-François Mony qui a éveillé mon attention pour l'utilisation des SIG en lichénologie. Par la suite, nos discussions conceptuelles et techniques m'ont souvent été très utiles. Je remercie également Carole Cossu-Leguille pour son aide et ses conseils pour la réalisation des dosages de malondialdéhyde dans les lichens, de même que Philippe Rousselle et Etienne Morain pour les dosages de chlorophylles et plus généralement les expérimentations en laboratoire ainsi que Jean-Claude Moreteau et Jean-Nicolas Beisel pour leurs conseils en biostatistique.

Parce qu'un laboratoire est aussi un lieu de vie, de sociabilité et de convivialité, il faut également citer tous ceux qui ont contribué à rendre ces trois années inoubliables (cf. cahier rouge pour s'en convaincre) : Julian Branciforti, Déborah Closset, Cendrine Garbet, Patricia Heuzé, Christelle Jager, Frédéric Mony, Nicolas Hermann, Audrey Sanchis, Marie-Pierre Vécrin, Mathias Voirin et plus généralement tous les membres de la Phytoteam. Enfin je remercie ma fiancée Sandrine, qui a été d'une infinie patience et d'un grand soutien au cours des derniers mois de ce travail, ainsi que mes parents et ma sœur, qui ont toujours montré une grande curiosité et un profond respect à l'égard de mon travail.

^a Association pour l'Exploitation du Réseau de Mesure de la Qualité de l'Air des vallées de la Fensch, de l'Orne et de la Moselle

^b Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS	5
TABLE DES MATIÈRES	7
CHAPITRE I. INTRODUCTION GÉNÉRALE	11
I.1 Introduction à la biosurveillance de la qualité de l'air par les lichens	13
I.1.1 Biologie des lichens	13
I.1.2 Lichens : bioindicateurs de la pollution de l'air	15
I.1.3 Méthodes d'estimation des effets de la qualité de l'air sur les lichens	17
I.1.3.1 Cartographie des changements dans les communautés lichéniques	17
I.1.3.2 Effets des polluants sur des lichens transplantés.	24
I.2 Présentation de la zone d'étude	27
I.3 Objectif et approche de l'étude	30
I.4 Contexte de la thèse	30
I.4.1 Contexte pluridisciplinaire	30
I.4.2 Contexte réglementaire	32
I.5 Organisation de la thèse	32
CHAPITRE II. DÉVELOPPEMENT D'UNE NOUVELLE TECHNIQUE D'ÉCHANTILLONNAGE ET D'ANALYSE DES COMMUNAUTÉS LICHÉNIQUES ÉPIPHYTES	33
II.1 Introduction	35
II.2 Description générale de la technique	37
II.2.1 Aperçu de la méthodologie	37
II.2.2 Dispositif expérimental et système pour la photographie	38
II.2.3 Photographie	39
II.2.3.1 Détermination des dimensions de la surface photographiée du tronc	39
II.2.3.2 Détermination du pourcentage d'incertitude lié à la courbure du tronc	42
II.2.4 Traitement des images	43
II.2.5 Cartographie des lichens	44
II.2.6 Simulation de grilles virtuelles	45
II.3 Application de la technique à la végétation lichénique	46
II.3.1 Arbre-test	46
II.3.2 Points de contrôle	47
II.3.3 Application des grilles virtuelles aux choix d'échantillonnage	48
II.3.3.1 Grille de maille 1 × 1 cm	48
II.3.3.2 Grille de maille 10 × 50 cm	51
II.4 Discussion	54

CHAPITRE III. CHANGEMENTS DES PARAMÈTRES BIOLOGIQUES ET CHIMIQUES CHEZ <i>HYPOGYMNA PHYSODES</i> ATTRIBUABLES À L'ACTION DE POLLUANTS GAZEUX	57
III.1 Introduction	59
III.2 Matériel et méthodes	60
III.2.1 Caractéristiques du matériel lichénique	60
III.2.2 Récolte du matériel lichénique, transplantation et pré-traitement	62
III.2.2.1 Récolte et transport des transplants	62
III.2.2.2 Dispositifs expérimentaux	62
III.2.2.3 Exposition des transplants	64
III.2.2.4 Préparation des lichens	65
III.2.3 Description des sites et caractéristiques de la qualité de l'air	65
III.2.3.1 Site témoin du Mont Saint-Quentin	67
III.2.3.2 Site périurbain de Scy-Chazelles	68
III.2.3.3 Site périurbain de Moyeuve-Grande	68
III.2.3.4 Site de proximité industrielle de Florange	69
III.2.3.5 Site de proximité de trafic automobile de Thionville-Autoroute	70
III.2.4 Mesures de polluants gazeux	71
III.2.5 Mesures de l'intégrité et des concentrations chlorophylliennes des chloroplastes du photobionte	72
III.2.6 Evaluation de la lipoperoxydation membranaire	73
III.2.7 Détermination des éléments chimiques dans les thalles	74
III.2.8 Analyses statistiques des données	75
III.3 Résultats	77
III.3.1 Polluants gazeux	77
III.3.2 Paramètres biologiques	81
III.3.3 Contenu élémentaire du lichen	84
III.3.4 Mise en évidence et simplification par Analyse en Composantes Principales des relations entre les éléments chimiques des lichens et les polluants gazeux	90
III.3.4.1 Description de la composante 1 de l'ACP	90
III.3.4.2 Description de la composante 2 de l'ACP	94
III.3.5 Corrélation entre les paramètres biologiques, les éléments chimiques des lichens et les polluants gazeux	96
III.3.5.1 Site témoin du Mont Saint-Quentin	96
III.3.5.2 Site périurbain de Scy-Chazelles	96
III.3.5.3 Site périurbain de Moyeuve-Grande	97
III.3.5.4 Site industriel de Florange	97
III.3.5.5 Site autoroutier de Thionville-Autoroute	98
III.4 Discussion	103
III.4.1 Source, dépôt et accumulation de Cd et de Pb	103
III.4.1.1 Cadmium	103
III.4.1.2 Plomb	104
III.4.2 Stress hydrique, exposition à l'ozone et relargage métallique	105
III.4.2.1 Perte d'éléments chimiques chez les lichens	105
III.4.2.2 Stress hydrique et précipitations	106
III.4.2.3 Stress oxydant et ozone	106
CHAPITRE IV. CONCLUSIONS GÉNÉRALES ET PERSPECTIVES	109
ANNEXES	115
Annexe 1. Calcul des coordonnées des points d'intersection d'une ligne avec un cercle (Weisstein, 2002)	117
Annexe 2. Algorithme de découpage, de redressement et de juxtaposition des images	119

Annexe 3. Typologie des stations de surveillance de la qualité de l'air. (Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement, 2001)	123
Annexe 4. Concentrations de O₃ et de NO₂ au niveau de quatre stations AERFOM pour trois périodes d'exposition des lichens	127
Annexe 5. Concentrations de PS et de SO₂ au niveau de trois stations AERFOM pour trois périodes d'exposition des lichens	129
Annexe 6. Tukey's Honestly Significant Difference Method (Lane, 1993-2001)	131
Annexe 7. Phénomène de destruction et de balancement de NO, NO₂ et O₃	133
RÉFÉRENCES	135
RÉSUMÉ	149
ABSTRACT	150

CHAPITRE I. INTRODUCTION GENERALE

La prévention et la lutte contre la pollution de l'air sont des enjeux fondamentaux en termes de protection des milieux naturels. L'amélioration des connaissances de l'effet de la pollution atmosphérique sur les écosystèmes nécessite le suivi d'organismes sensibles aux changements et aux altérations environnementales. Les lichens sont certainement les bioindicateurs les plus utilisés dans les écosystèmes terrestres avec des milliers d'articles publiés à ce sujet au cours des dernières décennies (cf. références dans Culberson *et al.*, 2002). Les facteurs climatiques, la pollution et d'autres changements environnementaux influencent la réponse de la symbiose lichénique, induisant des modifications au sein de la morphologie, des processus physiologiques majeurs (échanges gazeux, fixation d'azote, respiration et photosynthèse, *etc.*), de la génétique, des populations et des communautés.

I.1 INTRODUCTION A LA BIOSURVEILLANCE DE LA QUALITE DE L'AIR PAR LES LICHENS

Dans cette introduction, les caractéristiques biologiques de lichens seront définis et un historique résumé de la bioindication lichénique sera présenté. Enfin, une brève introduction sera donnée concernant les méthodes d'estimation des effets de la qualité de l'air sur les lichens.

I.1.1 Biologie des lichens

Les lichens, ou champignons lichénisés, font partie du règne fongique. Ces organismes résultent de la symbiose entre un champignon, hétérotrophe, et un partenaire chlorophyllien, autotrophe, qui est une algue verte et/ou une cyanobactérie. La taxonomie des lichens suit celle des symbiontes fongiques qui sont presque toujours des ascomycètes (99% des cas) et seulement quelques basidiomycètes. Le champignon, constituant l'essentiel de la biomasse lichénique, représente environ 90% de la masse sèche. Les algues, représentées à 70% par des algues chlorophylliennes, peuvent souvent vivre indépendamment de la présence du partenaire fongique. A l'inverse, seulement quelques champignons sont connus pour vivre sans leur partenaire chlorophyllien.

La répartition mondiale des lichens, présents dans une vaste diversité d'habitats de l'équateur aux pôles et de 0 à 8000m d'altitude, permet de les qualifier d'organismes ubiquistes. Ils sont représentés par 13500 espèces (20% des champignons), dont 2000 sont recensées en France (Van Haluwyn et Lerond, 1993), la moitié en Lorraine (Chipon, 1994, 1995). De la même façon,

Purvis et Wedin (1999) mettent en exergue la diversité des substrats colonisés par les lichens, organismes pionniers de première importance dans la dynamique des milieux perturbés.

La diversité morphologique des lichens est remarquable et complexe. A ce sujet, Purvis (2000) dédie un chapitre richement illustré sur la biodiversité et la morphologie des lichens. Nous ne présentons donc ici que la distinction entre les principaux types morphologiques (adaptée de Van Haluwyn et Lerond, 1993) auxquels nous ferons référence plus tard dans le texte :

- lépreux ou crustacé : il s'agit d'une masse poudreuse ou incrustante diffuse de cellules algales et fongiques (adhère fortement au substrat).
- squamuleux : dans ce type, la morphologie identique aux précédents sauf que les bords sont soulevés; il s'agit d'une forme intermédiaire entre crustacé et foliacé (adhère fortement).
- foliacé : le thalle est nettement différenciée dorso-ventralement (faiblement adhérent).
- fruticuleux : sous forme barbes, de cheveux ou d'arbres (fermement adhérent).
- complexe : le thalle primaire est crustacé, squamuleux ou $\pm$ foliacé sur lequel se dresse un thalle secondaire fruticuleux.
- gélatineux : à cyanobactéries, noir et cassant à l'état sec, devenant pulpeux à l'hydratation.

Certains lichens se reproduisent par cassure et détachement d'une fraction de thalle formant de nouvelles colonies. D'autres produisent des propagules qui contiennent les symbiontes associés. Le champignon peut aussi produire des spores (ascospores chez les ascomycètes) dans une structure abritant les tissus sporogènes (appelés apothécies ou périthèces). Ces spores émises dans l'atmosphère peuvent germer et trouver une cellule algale vivante isolée et former un nouveau lichen.

La plupart des végétaux supérieurs ont développé la capacité de réguler la teneur en eau de leurs feuilles ou aiguilles de façon relativement constante et pour cela ils sont qualifiés d'organismes homéohydriques. Au contraire, les lichens sont de remarquables exemples d'organismes poïkilohydriques, c'est-à-dire dont l'état hydrique varie passivement avec les conditions environnementales avoisinantes. Tous les organismes poïkilohydriques dont font également partie les bryophytes, certaines fougères et d'autres plantes vasculaires primitives, se dessèchent rapidement et par conséquent, la disponibilité en eau joue un rôle d'importance pour leur survie et dans l'explication de leur distribution (Nash, 1996). Un lichen sec est physiologiquement inactif. La poïkilohydrie implique donc une forte dépendance du métabolisme de ces organismes aux précipitations, principalement sous forme de pluies. Cependant les lichens ont la capacité d'utiliser d'autres sources d'eau, tels que les brouillards et la rosée. De plus, les champignons lichénisés ont une remarquable capacité à extraire de l'humidité d'un air non saturé en eau dans des conditions de faible température et de haute humidité (Nash, 1996).

Chez les lichens, le carbone est fixé par l'algue par photosynthèse et transformé en glucose (cyanobactérie) ou en erythritol, ribitol ou sorbitol (algue verte) pour le transfert vers le champignon, qui convertira ceux-ci en mannitol ou en arabitol (Palmqvist, 2000). L'azote peut provenir de la fixation du N_2 atmosphérique par la cyanobactérie et transfert vers le champignon. Les nutriments minéraux sont envoyés à l'algue par le champignon. Les lichens produisent et excrètent de nombreux métabolites secondaires, les "substances lichéniques" qui comprennent des composés aliphatiques, cycloaliphatiques, aromatiques et terpéniques (Huneck et Yoshimura, 1996; Huneck, 1999). Ces composés, aux activités antivirales, antibiotiques, antitumorales, allergéniques, inhibiteurs de croissance végétale, antiherbivores et inhibiteurs enzymatiques, ont une grande importance pharmaceutique et économique comme le montre Huneck (1999). Pour les lichens, ce sont i) des toxines et composés antibiotiques qui empêchent d'autres organismes de vivre sur le thalle, évitent le broutage par les animaux et inhibent la croissance des bryophytes et donc la concurrence spatiale, ii) des composés hydrophobes qui limitent la perte d'eau et maintiennent des espaces aériens, iii) des composés qui chélatent et stabilisent les éléments chimiques par accumulation ou dissolvent les minéraux des roches pour extraire les nutriments et iv) des pigments colorés qui protègent des radiations photoniques et augmentent l'absorption de lumière.

Les lichens croissent donc très lentement du fait de l'environnement non favorable dans lequel ils vivent, de la production de composés secondaires (40% du carbone fixé par l'algue), de la pauvreté en nutriments et du faible rendement de la photosynthèse de l'algue. Le taux de croissance est généralement inférieur à 1 mm/an pour les crustacés et inférieur à 2 mm/an pour les foliacés. Dans les climats tempérés, les lichens peuvent vivre pendant plus de 300 ans et 3000 ans en climat arctique. La symbiose lichénique est continue et pérenne.

En résumé, les lichens présentent une physiologie primitive, de par des échanges gazeux par simple diffusion et une absorption directe des éléments de l'atmosphère par absence de cuticule, qui en font d'ailleurs d'excellents traceurs et intégrateurs des modifications du milieu ambiant.

I.1.2 Lichens : bioindicateurs de la pollution de l'air

Le dépérissement des lichens a constitué un indicateur précis de la progression de la pollution de l'air, à travers l'Europe et ailleurs. A la fin du XIX^{ème} siècle, des observations indépendantes en Angleterre, en Allemagne et en France révèlent que les lichens avaient déjà disparu des principaux centres urbains. Au cours du XX^{ème} siècle, l'effet ville a été un phénomène largement reconnu en Europe et a été principalement attribué à des polluants à caractère primaire, en concentration élevée, relativement stables et de sources connues. La synthèse de

Seaward (1993) retrace l'ensemble des champs d'études de la bioindication lichénique portant sur le SO₂, un de ces principaux agents phytotoxiques.

Après les années 1970, les émissions en SO₂ des pays d'Europe occidentale ont fortement baissé pour atteindre des niveaux de fond en deçà des niveaux toxiques. Les modifications qualitatives apportées sur les communautés lichéniques par les changements de politiques énergétiques, les législations sur la qualité de l'air et les pratiques agricoles ont fait l'objet de nombreux suivis comme le récapitule Seaward (1993). Parallèlement, la liste des polluants atmosphériques phytotoxiques s'est allongée et inclut des polluants soit acides (HF^a) ou métalliques (Pb) de source fixe, soit secondaires (O₃, PAN^b) ou complexes (molécules organiques COV^c, PCB^d et HAP^e) de source diffuse, difficile à localiser et à identifier (Van Haluwyn, 1997). Le caractère des pollutions a donc évolué vers des polluants instables. C'est le cas des NO_x qui, avec NH₃, contribuent à la pollution azotée. Ce phénomène a été étudié sur les lichens par Söchting (1995) et sur la diversité des écosystèmes naturels ou semi-naturels par Bobbink *et al.* (1998). Aux Pays-Bas, Van Dobben et de Bakker (1996) ont également mis en évidence les effets de la diminution de la concentration atmosphérique en SO₂ et de l'augmentation du NH₃ sur la diversité spécifique, notamment sur la dominance des espèces nitrophiles. D'autres études basées sur des données anciennes ont montré une recolonisation des villes par ces lichens. C'est le cas à Paris (Seaward et Letrouit-Galinou, 1991; Letrouit-Galinou *et al.*, 1992, Letrouit-Galinou *et al.*, 1999) de 1981 à 1991 (Déruelle et Guilloux, 1993), en Toscane (Italie) de 1980 à 1996 (Loppi *et al.*, 1998), à Lyon de 1984 à 1996 (Khalil et Asta, 1998), et de 1991 à 1995 (Letrouit-Galinou, Letrouit-Galinou *et al.*, 1992). Ces auteurs concluent à une amélioration notable de la qualité de l'air avec en effet le constat d'une progression des espèces acidophiles et nitrophiles. Plus récemment, les lichens ont été utilisés pour suivre les changements climatiques globaux comme le réchauffement planétaire (van Herk *et al.*, 2002). En effet, les environnements alpins et polaires dans le monde sont dominés par des communautés lichéniques complexes qui vivent dans ces milieux extrêmes en développant une grande variété de stratégies de survie dont la connaissance peut être utilisée pour mesurer et suivre les changements environnementaux globaux. Aujourd'hui, il est donc possible de développer des baromètres sensibles au réchauffement global observé à la fois dans l'hémisphère Nord et dans l'hémisphère Sud. Ce sont ces développements qui ont été proposés par les lichénologues européens en réponse à l'appel à proposition de projets intégrés émis par la Commission Européenne en juin 2002.

^a HF: acide fluorhydrique

^b PAN: peroxyacétylnitrate

^c COV: composés organiques volatils

^d PCB: polychlorobiphényles

^e HAP: hydrocarbures aromatiques polycycliques

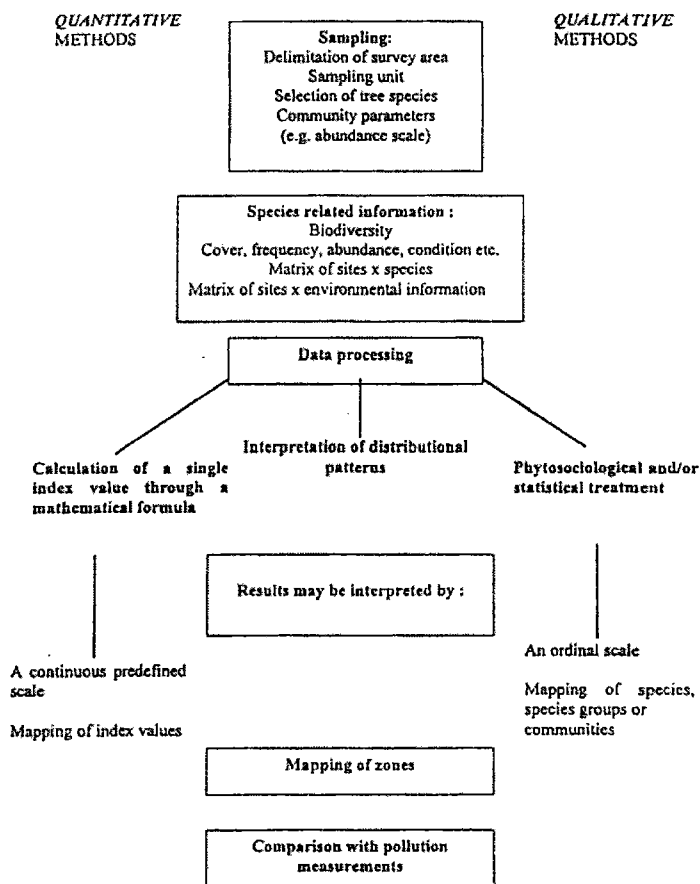
I.1.3 Méthodes d'estimation des effets de la qualité de l'air sur les lichens

Les lichens se sont avérés très utiles pour surveiller non seulement l'augmentation mais aussi la diminution des teneurs en polluants atmosphériques en général. Par conséquent, les études se sont multipliées et ont été consacrées à l'estimation des effets de la pollution atmosphérique sur les lichens. Une première voie de recherche majeure a été la cartographie des communautés lichéniques, basée sur le fait que des variations au sein de ces communautés, notamment au niveau des fréquences spécifiques, pouvaient être associées à des polluants atmosphériques spécifiques et dans certains cas à leurs concentrations (Hawksworth et Rose, 1970). Une seconde voie de recherche a été de comprendre les changements morphologiques, anatomiques et physiologiques des lichens en réponse à des polluants atmosphériques.

I.1.3.1 Cartographie des changements dans les communautés lichéniques

Classiquement, les lichénologues font la distinction entre les méthodes qualitatives qui s'appuient sur une échelle de corrélation entre la végétation lichénique et le taux de pollution et les méthodes quantitatives qui calculent des indices de pollution basés sur des formules mathématiques faisant intervenir différents paramètres relatifs à la flore lichénique (Figure 1). Parmi les nombreuses méthodes développées, les plus pertinentes aujourd'hui dans l'évaluation de la qualité environnementale sont comparées par Kricke et Feige (2002). Il s'agit de l'approche par les fréquences et de l'approche écologique (ou par les communautés lichéniques) retenues et présentées par Nimis *et al.* (2002).

Figure 1. Principales étapes méthodologiques des approches quantitatives et qualitatives pour le suivi de la pollution avec les lichens (Van Haluwyn et van Herk, 2002).



- *Méthode quantitative de cartographie de la pollution atmosphérique basée sur la fréquence des lichens*

A la fin des années 1960, une méthode a été développée pour quantifier les conditions environnementales en utilisant les lichens comme bioindicateurs (LeBlanc et De Sloover, 1970). Un Indice de Pureté Atmosphérique (IAP ou Index of Atmospheric Purity), combinant le nombre d'espèces dans une station avec leur sensibilité envers des stress environnementaux, notamment la pollution de l'air (Kricke et Loppi, 2002), est calculé suivant l'Equation 1.

$$IAP = \frac{n}{100} \left(\sum_1^n \frac{f \cdot Q}{n} \right) \quad (1)$$

n = nombre d'espèces

Q = degré de toxiphobie

f = fréquence de chaque espèce

Les valeurs de l'indice, qui dépendent des caractères de la flore lichénique locale, ne sont comparables que dans une même région. Cet indice, utilisé en Europe et ailleurs dans le monde, a subi un grand nombre de modifications et d'améliorations comme les détaillent Kricke et Loppi (2002) notamment en Allemagne et en Suisse. Ces développements de l'IAP ont en effet conduit à l'introduction de l'utilisation de la fréquence en utilisant des grilles d'échantillonnages fixées aux troncs des arbres. Finalement, des comparaisons statistiques de modèles entre les données de pollution de réseau de mesures et les données de la végétation lichénique ont permis d'identifier un nouvel indice (IAP_{18}) utilisant la fréquence d'un nombre réduit d'observations.

Pour des raisons de facilité d'utilisation, qu'expliquent Kricke et Loppi (2002), d'objectivité et de reproductibilité, ce nouvel indice a été adopté pour le suivi de la pollution atmosphérique par la VDI allemande (Verein Deutscher Ingenieure). Ainsi en calculant une "Luftgütewert" (LGW), la méthode standardisée allemande VDI 3799 est basée sur l' IAP_{18} (VDI, 1995). Une version ultérieure de l'approche IAP est également utilisée comme une directive nationale en Italie. Cette dernière a récemment été modifiée en l'adaptant aux différentes macrorégions italiennes (Loppi *et al.*, 2001). Il s'agit plus d'un indice de biodiversité que d'un indice de qualité de l'air.

Toutes les méthodes mentionnées ci-dessus traitent de la fréquence lichénique, c'est-à-dire de la valeur de la fréquence à chaque point d'échantillonnage qui est la somme des fréquences obtenues pour chaque espèce. La fréquence pour chaque espèce de lichens est lue sur une grille d'échantillonnage de 20×50 cm, constituée de 10 carrés de 10×10 cm. Elle correspond au nombre de carrés dans lesquels l'espèce est trouvée (Equation 2). Dans le cas d'une espèce rare ou seule, dont les thalles sont situés juste à côté de la grille, celle-ci peut être considérée et la fréquence de 1 lui est attribuée (Kricke et Feige, 2002).

$$IAP_{18} = \sum_{i=1}^n f_i \quad (2)$$

n = nombre d'espèces

f = fréquence de chaque espèce

- *Méthode qualitative de cartographie de la pollution atmosphérique basée sur les communautés lichéniques*

De la même manière que Kricke et Loppi (2002) présentant l'approche IAP, Van Haluwyn et van Herk (2002) ont publié une synthèse sur les techniques qui utilisent l'observation d'espèces indicatrices ou l'analyse des communautés de lichens pour déterminer des conditions environnementales. L'analyse des communautés lichéniques (ou lichénosociologie) emprunte en effet les bases fondamentales de l'analyse des associations phytosociologiques chez les plantes développées par Braun-Blanquet (1964). Cette approche holistique^a, qui prend donc en compte l'ensemble de l'état fonctionnel d'un type de végétation, suggère qu'elle puisse être plus efficace que l'analyse d'espèces individuelles pour décrire les conditions environnementales. Van Haluwyn et van Herk (2002) expliquent que la complexité de l'organisation biologique et son investigation requièrent néanmoins un important effort de standardisation des stratégies d'échantillonnages et d'analyses des données. Or la subjectivité joue encore un rôle prépondérant (Nimis, 1991) et par conséquent cet outil puissant de diagnostic écologique souffre encore de quelques défauts.

Cependant l'approche lichénosociologique a été utilisée avec succès pour étudier les effets de la pollution atmosphérique depuis le milieu des années 1950 (Van Haluwyn et van Herk, 2002). Le lecteur pourra se référer à cette dernière publication pour davantage de détails sur les modifications et les développements de cette approche. Par exemple Van Haluwyn (1978) et Van Haluwyn et Lerond (1986, 1988) proposaient une approche lichénosociologique, basée sur l'observation des groupements lichéniques épiphytes sur la moitié Nord de la France, pour estimer la qualité de l'air avec les lichens. Les différentes espèces lichéniques disparaissent graduellement et sélectivement selon un gradient de pollution croissant en fonction de leurs sensibilités respectives à la qualité de l'air (Tableau 1).

^a du grec *holos*, entier. Doctrine épistémologique selon laquelle, face à l'expérience, chaque énoncé scientifique est tributaire du domaine tout entier dans lequel il apparaît (Larousse, 1994).

Tableau 1. Appauvrissement de la végétation lichénique dans le Nord de la France (basé sur 350 relevés) comme un effet de la pollution (Van Haluwyn et van Herk, 2002). Les chiffres romains se réfèrent à 5 classes de fréquence dans les groupes de relevés (Van Haluwyn et Lerond, 1986, 1988).

<i>Pleurococcus</i> s.l.	V	V	V	III	II		III	III	III	r	III	V	II	II	II	I
<i>Lecanora conizaeoides</i>		V	IV	IV	II		V	I	II	I	I					
<i>Lepraria incana</i>			III	II	II	IV		I	+	r	+					
<i>Lecanora expallans</i>			IV	II	IV	I		IV	II	III	II					
<i>Hypogymnia physodes</i>				V	IV	IV			I	II	II					
<i>Evernia prunastri</i>				III	IV	III			III	III	III					
<i>Pseudovernia furfur.</i>					II	I				r						
<i>Parmelia sulcata</i>					II	IV	V		IV	III	IV					
<i>Dicranoweisia cirrh.</i>				I	II	II			+	+	+					
<i>Parmelia subrudecta</i>					III	II			III	IV						
<i>Parmelia glabratula</i>					I	III			I	I						
<i>Ramalina farinacea</i>					I				III	II						
<i>Parmelia subaurifera</i>					I	II			II	I						
<i>Phlyctis argens</i>					II	III			+	II						
<i>Hypnum cupressif.</i>					I	V				+						
<i>Pertusaria amara</i>					I	I			+	+						
<i>Parmelia caperata</i>					III	IV			II	V						
<i>Parmelia revoluta</i>						V				II						
<i>Parmelia perlata</i>						I				III						
<i>Parmelia reticulata</i>										+						
<i>Buellia punctata</i>							III	V	IV	III	II	V	V	III	III	I
<i>Physcia tenella</i>	V						II	II	III	III	II		V	IV	III	III
<i>Xanthoria polycarpa</i>							I	II	II	I			III	II		I
<i>Physcia adscendens</i>							I	II	I	+			III	III	II	
<i>Xanthoria parietina</i>							II	III	II	I			IV	V	III	
<i>Diploicia canescens</i>							I	+	I	I			II	II		
<i>Cand. xanthostigma</i>							+	II	II	I				+		
<i>Physconia grisea</i>							I	+	II	I				IV	I	
<i>Phaeoph. orbicularis</i>							r	I	I					III	III	
<i>Xanthoria candelaria</i>							I	+	II	+				I		
<i>Ramalina fastigiata</i>							r	+	II	II				+		
<i>Physcia alpicola</i>								I	+	I						I
<i>Physconia distorta</i>							r	I	+	+						I
<i>Lecidella etaeochroma</i>							II	I	I	II						
<i>Parmelia acetabulum</i>							r	II	III	III						
<i>Frullania dilatata</i>								+	+	II						
<i>Ramalina fraxinea</i>								I	I							
<i>Anaptychia ciliaris</i>							r		I							
<i>Parmelia pastillifera</i>									r							
<i>Parmelia tiliaeca</i>									+							
<i>Parmelia soredians</i>									r	I						

Selon Cuny (1995), cette méthodologie, redonnant aux lichens le statut d' "hygiomètre" introduit par Nylander (1866), constitue également un moyen d'évaluation des caractéristiques des milieux et non plus seulement de la qualité de l'air. La comparaison de cette méthode avec d'autres, comme réalisé par exemple dans les agglomérations urbaines françaises (Signoret, 1999; Khalil, 2000), montre des réalités de terrain et des résultats divergeants mais complémentaires (Joyeux et Daillant, 1999). Cependant, les nouveaux scénarios de pollution comme l'eutrophisation ne permettent plus d'utiliser la méthode actuelle sans connaissance approfondie des communautés lichéniques et de leur écologie. Sa simplicité et sa facilité de mise en place suscitent toujours un franc succès auprès de personnes souhaitant évaluer ou appréhender l'impact de la qualité de l'air sur les biocénoses.

- *Comparaison entre les approches par la fréquence et par les communautés lichéniques.*

Comme cela a déjà été mentionné plus haut dans le texte, de nombreuses techniques existent mais elles n'ont pas été détaillées ici. Nous avons choisi de présenter et de comparer deux approches fondamentales, celle par la fréquence et celle par les communautés, qui servent à l'évaluation de la qualité de l'air avec les lichens. Le Tableau 2 montre pour chacune d'elle les avantages et les inconvénients. Ces deux approches sont complémentaires mais la comparaison des études réalisées en Europe n'est pas toujours possible. Dès lors l'idée d'une méthodologie uniforme qui permettrait d'harmoniser les différentes techniques s'imposait. En 2000, un groupe de 11 lichénologues européens (Asta *et al.*, 2002) a entrepris de créer une méthode de bioindication combinant les deux approches pour i) fournir une méthode reproductible et objective d'estimation des valeurs de diversité et pour décrire la végétation sur les écorces des arbres, basée sur la fréquence d'occurrence des espèces lichéniques dans une partie définie des troncs et ii) dessiner les contours des zones de différentes qualités environnementales. Des améliorations importantes ont concerné les nombreux points de subjectivité des procédures d'échantillonnages. Il s'agissait principalement de la localisation des sites d'échantillonnages, la sélection des arbres échantillonnés et le positionnement de la grille d'échantillonnage sur le tronc. En ce qui concerne le dernier point, cette nouvelle méthode implique l'utilisation de 4 grilles d'échantillonnages, chacune comportant 5 carrés contigus de 10 × 10 cm, fixées verticalement à chaque point cardinal et dont la bordure supérieure est fixée à 1,5 m au-dessus du plus haut point du sol (Asta *et al.*, 2002). Cependant, le progrès que représente le consensus sur ce choix, et les autres d'ailleurs, reste mitigé puisque aucun élément statistique, c'est-à-dire non subjectif, ne justifie les choix pris pour l'élaboration de cette méthode, notamment en ce qui concerne les orientations, la forme et la taille des 4 grilles.

Tableau 2. Comparaison des caractéristiques de l'approche par la fréquence et de l'approche par les communautés (modifié d'après Kricke et Feige, 2002). ▲ : avantages, ▼ : inconvénients.

Méthode par la fréquence	Méthode par les communautés
Localisation de l'échantillonnage	
▲ L'application d'une grille implique de définir et de standardiser une aire d'échantillonnage sur le tronc d'arbre.	▲ Tous les lichens du tronc d'arbre sont considérés. L'aire d'échantillonnage dépend de la circonférence de l'arbre.
▼ La face du tronc étudié doit être choisie entre celle avec la plus grande abondance lichénique et celle avec la plus grande diversité lichénique.	▼ Les dimensions limites à prendre en compte doivent être déterminées.
Aire d'échantillonnage	
▲ L'aire de la grille représente une sous-population de la flore lichénique du tronc.	▲ Tous les lichens du tronc sont considérés. L'aire d'échantillonnage dépend de la circonférence de l'arbre.
▼ Les espèces rares ou sensibles peuvent être négligées notamment dans les zones en cours de recolonisation par les lichens.	▼ L'inventaire complet prend beaucoup de temps sur des arbres avec une flore lichénique riche. Les dimensions limites à prendre en compte doivent être également déterminées.
Descripteur écologique	
▲ Le calcul de la fréquence des individus dans la grille est objectif.	▲ L'estimation de l'abondance des espèces permet de gagner du temps. De plus, le relevé qualitatif en absence/présence est très facile à manier.
	▼ Pas d'information sur la fréquence et manque d'objectivité.
Expression des résultats	
▲ Les chiffres (valeur moyenne des fréquences par ex.) sont facilement interprétés par les gestionnaires.	▲ Le jeu de données contient beaucoup de chiffres relatifs à la structure de la communauté, l'état de santé des lichens, etc.
▼ L'interprétation des résultats est difficile (à fréquence égale, deux troncs peuvent être exposés à des conditions écologiques différentes).	▼ Plus difficile à traduire et à communiquer, notamment auprès de non-biologistes.
Limitation de la liste d'espèces	
▲ La réduction du nombre d'espèces pris en compte diminue la valeur maximale atteinte par l'indice, conduit à un gain de temps lors de l'identification des lichens sur le terrain.	▲ La réduction de la liste d'espèces conduit à un gain de temps lors de l'identification des lichens sur le terrain. Le groupement d'espèces en fonction de leur comportement écologique est possible.
▼ Des espèces importantes peuvent être négligées.	▼ Des espèces importantes peuvent être négligées et le groupement peut être subjectif.
Variations aléatoires	
▲ La moyenne de points d'échantillonnages élimine les variations aléatoires.	▲ Plusieurs arbres par relevé réduit les variations aléatoires.
▼ La moyenne de valeur à l'intérieur d'une même unité d'échantillonnage peut éliminer d'importantes différences entre les valeurs d'indices.	▼ Il est souvent difficile de trouver plus d'un arbre approprié par station à échantillonner.
Résumé	
▲ Facile à utiliser, comme par ex. la directive VDI qui est accessible et commode pour un grand nombre de gestionnaires allemands.	▲ La localisation et les aires d'échantillonnages moins limitées fournissent de loin le plus d'information car les communautés entières sont considérées et pas seulement quelques espèces. Convient donc pour l'étude des changements dynamiques des flores lichéniques.
▼ Les choix de la zone à étudier sur le tronc, l'expression des résultats et l'omission ou la sous-estimation des espèces importantes. L'extrême hétérogénéité des zones et les changements intrinsèques à la flore lichénique.	▼ La classification des espèces en fonction de leur écologie n'est pas objective et varie selon les régions. L'absence d'aire d'échantillonnage est plus difficile à faire comprendre aux gestionnaires.

I.1.3.2 Effets des polluants sur des lichens transplantés.

Les désavantages de la cartographie des changements dans les communautés lichéniques sont les vastes connaissances nécessaires pour identifier les espèces et la part de subjectivité intrinsèque aux techniques (cf. § I.1.3.1). Par conséquent, beaucoup d'études ont été conduites pour compléter les cartographies avec une évaluation objective du stress causé par la pollution atmosphérique (Nash, 1996).

Les transplants de lichens sont utilisés en bioindication de la qualité de l'air notamment dans des zones où aucun lichen indigène ne convient (Bargagli et Mikhailova, 2002) du fait par exemple d'une trop forte pollution ou de l'absence de substrat spécifique. La transplantation consiste à prélever des morceaux d'écorces ou de branches recouverts de lichens en bonne santé et de les transférer vers des sites plus ou moins pollués. L'évolution de paramètres biologiques ou chimiques est donc mesurée après une période d'exposition définie. La technique des transplants offre l'avantage de manipuler et d'analyser des thalles qui se développent naturellement dans des conditions de récolte (dimension des thalles, homogénéité des substrats) et d'exposition (météorologie, environnement, position, orientation, temps) qui peuvent être standardisées. Bargagli et Mikhailova (2002) expliquent que le problème majeur de la transplantation réside dans le choix d'une période d'exposition appropriée aux paramètres mesurés. D'après ces mêmes auteurs, dans des environnements fortement pollués, des phénomènes de saturation par des agents polluants (éléments chimiques par exemple) apparaissent chez des lichens transplantés ce qui conduirait à l'altération de la structure en surface du lichen et des performances physiologiques.

La transplantation de lichens est une technique largement utilisée pour déterminer les dépôts atmosphériques d'éléments traces (Pilegaard, 1979; Sloof, 1995; Evans et Hutchinson, 1996; Bennett *et al.*, 1996; Cuny *et al.*, 2001), plus récemment les réponses biologiques dans des zones polluées (Boonpragob et Nash, 1991; Egger *et al.*, 1994; Silberstein *et al.*, 1996; Cañas *et al.*, 1997; González et Pignata, 2000; Zambrano et Nash, 2000; Häffner *et al.*, 2001) ou encore les deux à la fois (Garty *et al.*, 1997; Branquinho *et al.*, 1999; Garty *et al.*, 2001; Carreras et Pignata, 2002; Garty *et al.*, 2002). En effet, dans des conditions de stress abiotique (gaz toxiques, éléments chimiques, pluies acides), les lichens présentent un grand éventail de symptômes, qui peuvent être :

(i) morphologiques comme des variations chromatiques, la réduction de la croissance (Mikhailova et Scheidegger, 2001) et la diminution des capacités de reproduction (Mikhailova et Vorobeichik, 1999). Par exemple, la réduction de fertilité, les thalles endommagés et l'absence de jeunes thalles sont des indicateurs de la dégradation de la qualité de l'air (Wetmore, 1988). D'autres changements externes énumérés par Kovács (1992) incluent des changements de couleurs, la réduction de la taille et l'épaisseur des thalles;

(ii) anatomiques comme la réduction du nombre ou de la dimension des cellules du partenaire photosynthétique (Holopainen, 1983) et les changements des modalités de contacts entre les partenaires de la symbiose. Par exemple, l'augmentation du nombre de cellules algales mortes ou la diminution de leur taille a été utilisée pour mesurer les dommages sur les lichens en réponse à la pollution de l'air (Kovács, 1992).

(iii) physiologiques comme le changement des activités photosynthétiques et respiratoires, une altération de la perméabilité membranaire et de l'activité métabolique (Cuny *et al.*, 2002).

Un large éventail de synthèses est disponible dans la littérature concernant la réponse des lichens exposés, transplantés, à des polluants atmosphériques gazeux et/ou métalliques (Purvis, 1996; Nash, 1996; Conti et Cecchetti, 2001; Garty, 2001; Bargagli et Mikhailova, 2002; Garty, 2002; Wolterbeek, 2002). Des conclusions générales peuvent être tirées de ces études :

- Les lichens sont d'excellents bioaccumulateurs d'éléments chimiques puisque les concentrations trouvées dans leur thalle peuvent être directement corrélées avec celle de leur environnement (Pilegaard, 1979; Sloof, 1995; Jeran *et al.*, 1996; Reis *et al.*, 1999).
- Une augmentation approximativement linéaire des éléments bioaccumulés avec la période d'exposition est observée pendant les premières semaines (Conti et Cecchetti, 2001) ce qui n'est plus le cas sur de plus longues périodes, d'un à plusieurs mois voire années (Reis *et al.*, 1999, 2002).
- Trois mécanismes sont classiquement avancés en ce qui concerne l'absorption et l'accumulation d'éléments chimiques dans les lichens (Garty, 2001; Bargagli et Mikhailova, 2002) : le piégeage de particules contenant des éléments chimiques, l'accumulation cellulaire et l'absorption intracellulaire via des processus d'échanges.
- De nombreux articles montrent soit que l'accumulation de polluants atmosphériques métalliques, soit que les polluants gazeux peuvent affecter plusieurs paramètres physiologiques des lichens. Les principaux changements sont la dégradation des chlorophylles et de leurs concentrations (Garty *et al.*, 1993), la diminution d'ATP (Silberstein *et al.*, 1996), la baisse du taux de respiration et de photosynthèse (Deltoro *et al.*, 1999; Häffner *et al.*, 2001), la diminution de l'intégrité des membranes cellulaires (Garty *et al.*, 1998; Tarhanen *et al.*, 1999), la production d'éthylène (Garty *et al.*, 1997) et la peroxydation des lipides membranaires (González et Pignata, 2000; Carreras et Pignata, 2001). Cependant rares sont les publications qui traitent de l'interaction de ces polluants métalliques et gazeux, alors qu'ils peuvent être présents ensemble sur un même site (urbain ou industriel) et ainsi agir de concert sur la physiologie des lichens.

- Les lichens opèrent comme des résines échangeuses d'ions en absorbant des ions métalliques extra-cellulaires issus de l'eau de pluie et en relarguant des protons ou des ions métalliques de faible affinité de liaisons lors des processus d'absorption (Richardson et Nieboer, 1981; Richardson, 1992). Cependant il existe un manque d'information sur les mécanismes d'absorption des lichens et la perte d'éléments par le lichen dans des conditions de terrain (Sloof, 1995). Les concentrations métalliques dans les thalles de lichens peuvent en effet tendre vers une alternance de phase d'accumulation et de phase de relargage (Boonpragob et Nash, 1991). Pour Conti et Cecchetti (2001), les causes de ces différences peuvent être attribuées au phénomène de pluies acides. Néanmoins, un des effets le plus direct au niveau cellulaire est l'altération de la perméabilité de la membrane cytoplasmique, qui peut causer une perte d'ions excessive (Wolterbeek, 2002) et qui peut avoir des effets sur les caractéristiques d'accumulation des éléments chimiques (Garty *et al.*, 1998).

Chez la plupart des lichens, les cycles de dessiccation et de réhydratation sont des facteurs physiologiques importants. Les effets de la teneur en eau dans les thalles de lichens sur la photosynthèse et la respiration ont été largement étudiés (cf. références dans Kranner et Lutzoni, 1999). Par contre, les études sur les mécanismes de défense anti-oxydant pour une protection contre le stress oxydant induit par la dessiccation chez les lichens sont rares (Kranner et Lutzoni, 1999). Il n'y a que récemment que le rôle important d'anti-oxydants, comme le glutathion, a été montré lors des périodes de dessiccation chez les lichens. Cependant, le stress oxydant peut être amplifié pendant les périodes de sécheresse par un certain nombre de facteurs (par exemple l'intensité lumineuse) dont l'exposition à des polluants métalliques ou gazeux (Kranner et Grill, 1994). Par exemple, le malondialdéhyde (MDA) est un aldéhyde hautement réactif généralement formé à l'issue de la peroxydation lipidique. Différentes études ont montré une corrélation positive entre un polluant atmosphérique gazeux comme O₃ et le MDA (Egger *et al.*, 1994).

Les réponses biologiques peuvent être également évaluées en laboratoire. Le but des expérimentations en laboratoire, dans des conditions contrôlées, est de confirmer les effets impliqués lors d'une étude de terrain. Fields (1988) fournit une vue d'ensemble des réponses physiologiques des lichens exposés à des fumigations de polluants atmosphériques. Les études réalisées sur le terrain dans des conditions naturelles sont cependant nécessaires pour déterminer des effets de la pollution sur la physiologie des lichens généralement plus longs qu'en laboratoire.

I.2 PRESENTATION DE LA ZONE D'ETUDE

La zone d'étude (Figure 2), à proximité de la frontière avec le Luxembourg, correspond au Nord de la vallée de la Moselle, entre la ville de Metz (environ 127000 habitants) et Thionville (environ 43000 habitants). Topographiquement, cette zone se situe entre le versant occidental du Plateau lorrain et une cuesta (relief de côtes) faisant face à l'Est (Figure 3). Cette cuesta appelée côte de Moselle, qui limite un plateau sédimentaire appartenant au bassin parisien à l'Ouest, est le résultat de l'érosion qui a dégagé les couches géologiques les plus résistantes (calcaires) dont les sommets dépassent fréquemment les 350 m d'altitude.

La situation de la région conduit le climat lorrain à subir à la fois les influences océaniques venues de l'Ouest et les influences continentales de l'Est. La dominante reste cependant assez largement océanique.

L'examen de la rose des vents montre que les vents les plus fréquents sont les vents de secteurs Sud-Ouest, lesquels peuvent représenter localement plus de 35% des observations. La région est en outre particulièrement exposée aux coulées polaires en hiver et au printemps. Les épisodes anticycloniques peuvent être relativement fréquents en été, avec alors une dominante des vents de secteur Nord-Est, mais ils peuvent également apparaître en hiver, avec des phénomènes d'inversion de température marqués. Les températures moyennes varient d'un minimum de 1,5°C en janvier à 18,5°C en juillet. Les niveaux de précipitations s'établissent autour de 700 mm.

Cette zone, traditionnellement orientée vers l'exploitation minière et la sidérurgie, est depuis quelques années en voie de reconversion et de diversification de ses activités. La côte de Moselle y présente une morphologie hétérogène en termes d'occupation des sols. En effet, des vallées, avec une forte densité de populations, d'industries et de voies de communication, rompent la continuité des plateaux calcaires boisés ou cultivés, et par la même déterminent la localisation de zones de pollution. Enfin, le réseau hydrologique complexe de la Moselle, de ses affluents ainsi que les nombreuses gravières qui y ont été créées au cours des décennies, est susceptible de moduler à la fois la colonisation des lichens et la dispersion des polluants.

Figure 2. Carte de la localisation de la zone d'étude en Lorraine (NE France). Source : Corine Land Cover.

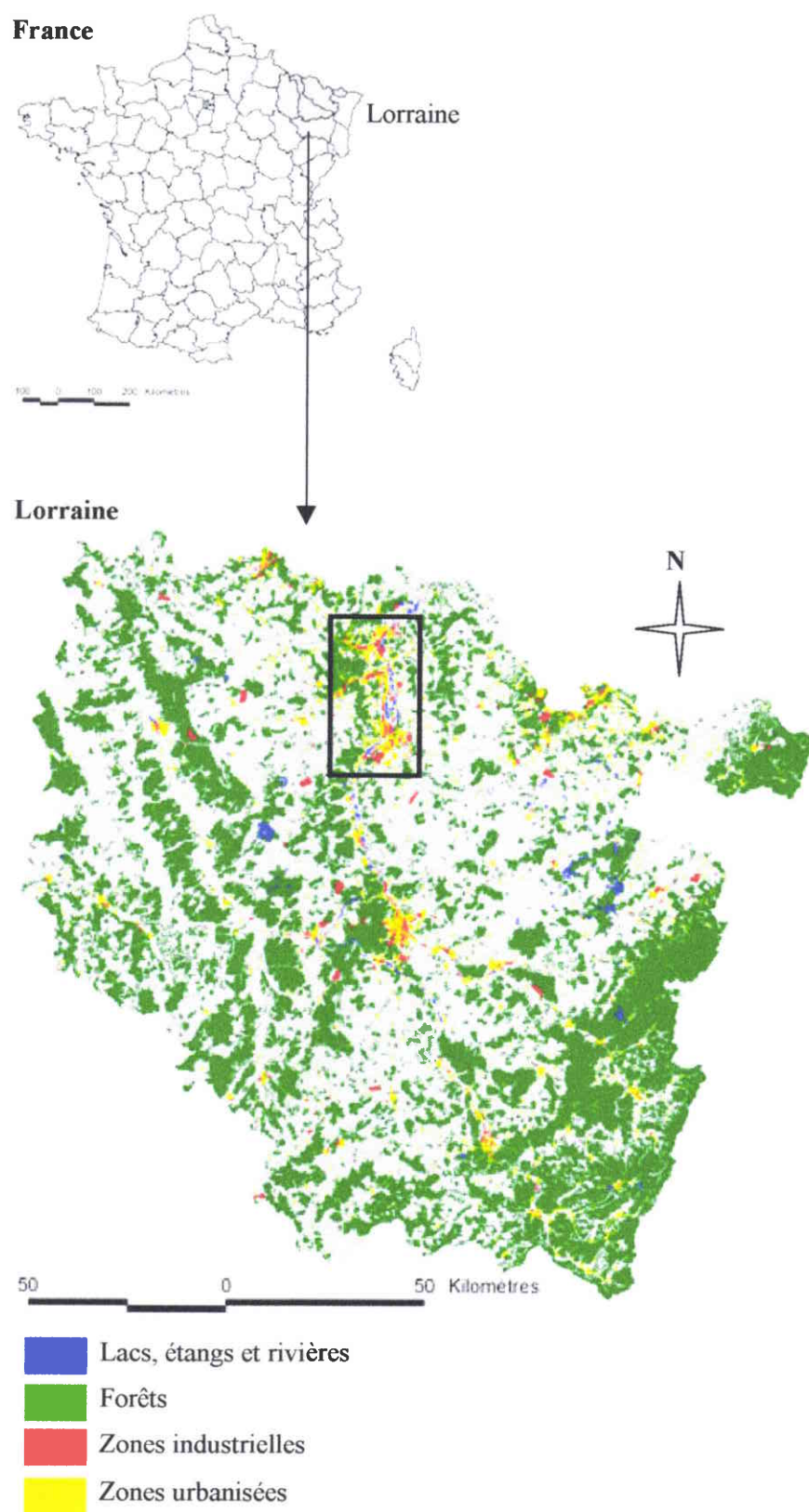
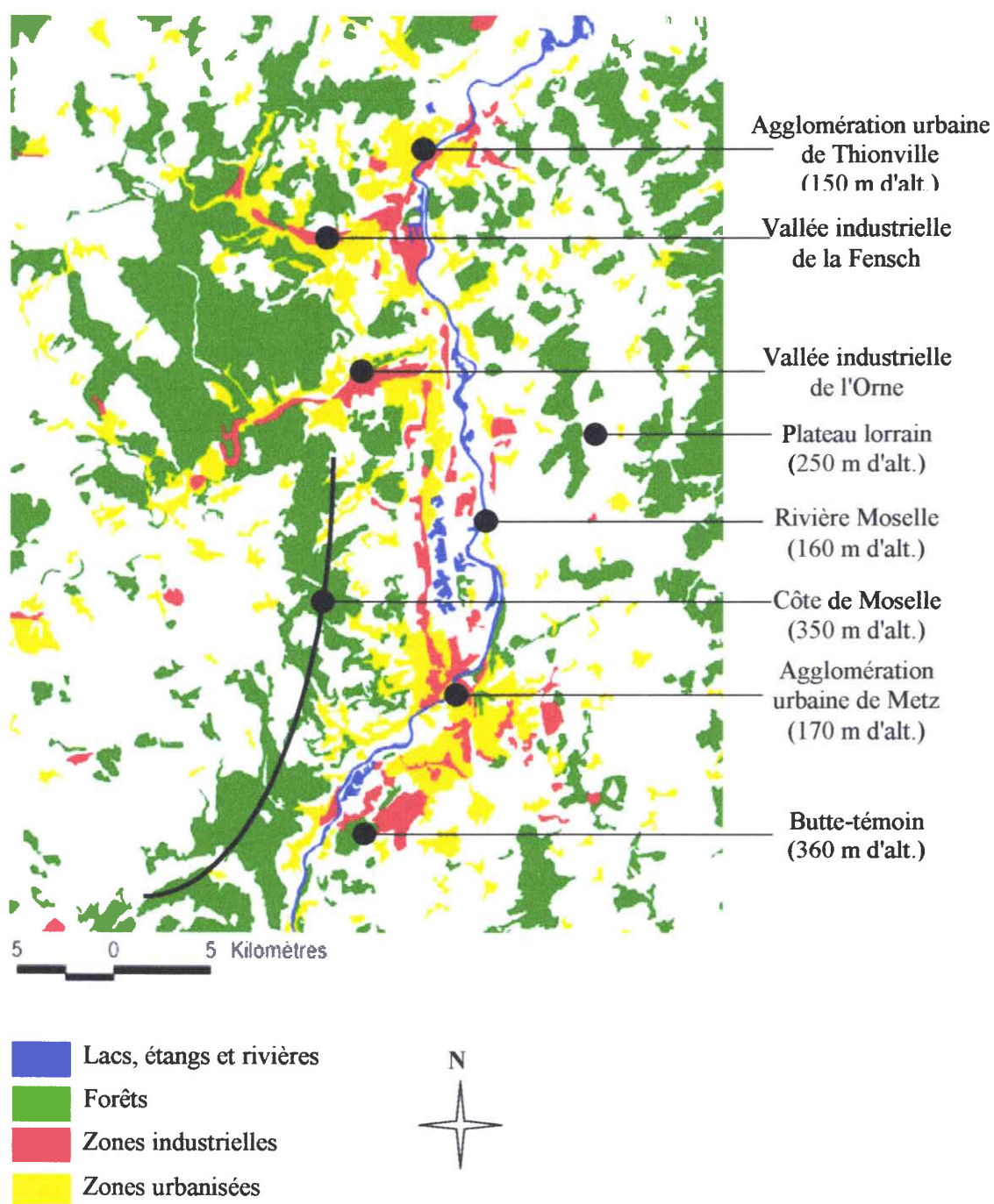


Figure 3. Occupation du sol dans la zone d'étude. Source : Corine Land Cover



I.3 OBJECTIF ET APPROCHE DE L'ETUDE

L'objectif de cette thèse est de contribuer à une meilleure compréhension de l'impact des pollutions atmosphériques sur les lichens dans des conditions expérimentales de terrain en ouvrant la voie à deux prolongements fondamentaux.

La première partie aborde un travail de révision et de perfectionnement des techniques de biosurveillance de la qualité de l'air qui se base sur l'analyse d'images de lichens épiphytes à partir de photographies numérisées. Nous avons porté nos efforts de conception sur une approche "panoramique" (contour complet d'une section d'un tronc d'arbre), tout en utilisant des outils sophistiqués (Système d'Informations Géographiques) afin de servir de référence lors des choix d'échantillonnages et de l'élaboration de méthodes plus simplificatrices.

La deuxième partie traite de l'utilisation des lichens pour i) évaluer les dépôts d'éléments chimiques et leurs accumulations après une période déterminée d'exposition, ii) évaluer les variations temporelles des dépôts d'éléments chimiques et la capacité d'accumulation des lichens et iii) comparer les capacités d'accumulation de thalles transplantés, les réponses biologiques et les niveaux de concentrations de polluants atmosphériques pour révéler de possibles interactions.

I.4 CONTEXTE DE LA THESE

I.4.1 Contexte pluridisciplinaire

Le contexte de cette thèse est double, puisque deux participants y ont été impliqués : l'Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie (ADEME) ainsi que l'Association pour l'Exploitation du Réseau de Mesure de la Qualité de l'Air des vallées de la Fensch, de l'Orne et de la Moselle (AERFOM). L'ADEME et l'AERFOM ont non seulement parrainé cette étude mais elles ont aussi supporté financièrement cette recherche.

L'ADEME est un établissement de l'Etat à caractère industriel et commercial. Cet établissement public exerce depuis 1990 des actions d'orientation et d'animation de la recherche, de prestation de services, d'information et d'incitation dans de nombreux domaines (gestion des déchets, développement des énergies renouvelables, des techniques propres et économes, lutte contre les nuisances sonores) et notamment la prévention et la lutte contre la pollution de l'air. En partenariat avec le Ministère de l'Environnement et les Associations Agréées pour la Surveillance de la Qualité de l'Air (AASQA), l'ADEME assure la coordination technique des

activités de surveillance et anime la recherche et le développement dans le domaine de l'instrumentation de mesure, de la physico-chimie de l'atmosphère et des impacts de la pollution de l'air sur la santé et sur l'environnement. Les renseignements de l'impact de la pollution de l'air sur les écosystèmes par une démarche écotoxicologique devenait un objectif important de notre étude.

L'AERFOM, créée en 1977 et agréée par le Ministère de l'Environnement en 1986, est une association qui rassemble des représentants de l'Etat, des établissements publics, des collectivités locales, des associations, des personnes qualifiées et des émetteurs de pollution. L'association gère l'ensemble du réseau de mesures de la qualité de l'air qui couvre une large bande le long de la vallée Nord de la Moselle. Le développement d'indicateurs biologiques pour l'évaluation de la pollution atmosphérique au niveau local stimulait la nécessité d'expérimentation calibrée avec les observations du réseau.

La nécessité d'un projet de recherche devait satisfaire l'objectif commun de l'ADEME et de l'AERFOM. L'impact de la pollution de l'air sur les écosystèmes locaux, comparé et validé avec les données du réseau était devenu le sujet de recherche. Les études ont été menées dans le laboratoire EBSE (Ecotoxicité, Biodiversité et Santé Environnementale) de l'Université de Metz. Ce dernier possède un savoir-faire dans l'étude tant des bioindicateurs, des biomarqueurs que des bioaccumulateurs (Amblard-Gross *et al.*, 2002) dans les compartiments eau, sol, air. En ce qui concerne précisément le domaine de la bioindication lichénique, Maurice (1974) a réalisé le premier travail de bioindication lichénique en vallée sidérurgique de l'Orne (Nord-Ouest de Metz). Plus tard, la première esquisse de cartographie de la qualité de l'air sur l'agglomération messine a été réalisée (Signoret, 1998), suivi l'année suivante d'une étude de la qualité de l'air dans le sillon mosellan (Signoret, 1999).

Pour réaliser ce projet, des collobarations ont été établies avec deux équipes dont les plus récents travaux relatifs à notre projet sont indiqués entre parenthèses :

- le laboratoire de Botanique et de Cryptogamie de l'Université de Lille, spécialisé en bioindication végétale et en cryptogamie (Cuny *et al.*, 2001, 2002; Van Haluwyn et van Herk, 2002),
- le Laboratoire Pierre Süe du Commissariat à l'Energie Atomique de Saclay, spécialisé dans les méthodes analytiques des éléments chimiques dans l'environnement (Ayrault *et al.*, 2001, 2002).

I.4.2 Contexte réglementaire

En Lorraine, le Plan Régional pour la Qualité de l'Air (PRQA), prévu par la loi du 30 décembre 1996 sur l'air et l'utilisation rationnelle de l'énergie (Journal Officiel, 1997) et dont les modalités de mise en œuvre sont précisées par le décret du 6 mai 1998 (Journal Officiel, 1998) et dans la circulaire de la Direction Générale de la Santé (DGS) du 24 mars 1998 (Direction Générale de la Santé, 1998), fixe des orientations visant à prévenir, réduire ou atténuer les effets de la pollution atmosphérique. Il s'appuie notamment sur une évaluation des effets de la qualité de l'air sur les écosystèmes. Cette évaluation devrait également permettre de fixer des objectifs d'identification (représentativité des stations par rapport aux objectifs de surveillance qui leur sont assignés) et de diagnostic des éventuelles insuffisances du dispositif de surveillance existant (quantitatives, qualitatives par rapport à certains émetteurs, par rapport à certaines populations) fondés entre autres sur des critères de mesures à l'aide de bioindicateurs (Préfecture de la région Lorraine, 2001 : 82). Notre recherche s'inscrit donc dans cette orientation de l'évaluation des effets de la pollution atmosphérique sur les écosystèmes par des bioindicateurs.

I.5 ORGANISATION DE LA THESE

La thèse consiste en deux parties présentant les résultats de nos travaux.

1. Chapitre II : Développement d'une nouvelle technique d'échantillonnages et d'analyses des communautés lichéniques épiphytes. Cette étude présente une technique développée pour obtenir dans un Système d'Information Géographique (SIG), une image numérique unique et géoréférencée du tour d'un tronc d'arbre. Elle donne aussi les résultats d'une réflexion sur le développement d'une telle technique dans l'évaluation biologique de la qualité de l'air.
2. Chapitre III : Changements des paramètres biologiques et chimiques chez *Hypogymnia physodes* attribuables à l'action de polluants atmosphériques. Cette étude utilise la technique de transplantation avec le lichen *H. physodes* pour tester l'hypothèse que les polluants atmosphériques photo-oxydants de la vallée de la Moselle ont un effet sur la physiologie des lichens en relation avec la capacité de bioaccumulation des éléments chimiques, dans 5 sites caractérisés par des scénarios de qualité de l'air différents.

CHAPITRE II. DEVELOPPEMENT D'UNE NOUVELLE TECHNIQUE D'ECHANTILLONNAGE ET D'ANALYSE DES COMMUNAUTES LICHENIQUES EPIPHYTES

II.1 INTRODUCTION

Le suivi de la qualité de l'air par les lichens épiphytes s'est largement développé depuis les années 1970 (Richardson, 1992). De nombreuses approches parallèles, qualitatives (Hawksworth et Rose, 1970; Van Haluwyn et Lerond, 1986) ou quantitatives (Le Blanc et De Sloover, 1970; Trass, 1973; VDI, 1995; Nimis, 1999), en bioindication lichénique sont actuellement disponibles. En fonction de la nature de l'approche employée, les techniques d'échantillonnages, examinées par Mulgrew et Williams (2000), sont utilisées pour estimer la présence des lichens (fréquence lichénique) et/ou l'abondance (recouvrement lichénique). Nimis (1991) passe en revue tous les choix offerts en fonction de chaque problématique d'échantillonnage à résoudre. Parmi toutes les techniques d'échantillonnages, l'utilisation d'une grille, de dimension fixe ou variable, attachée sur le tronc d'un arbre a été développée avec succès par plusieurs auteurs (Herzig *et al.*, 1989; Liebendörfer *et al.*, 1988; Nimis *et al.*, 1990). Le choix de grilles standardisées de dimensions déterminées s'est révélé judicieux dans les projets de cartographies car elles permettent i) une comparaison des données obtenues par différents auteurs, ii) une grande accessibilité pour des personnes non-lichénologues et iii) surtout une économie de temps lors du relevé. Deux exemples montrent l'engouement pour ces grilles et leur intégration dans des démarches normalisées au niveau national. Premièrement en Allemagne, où la méthode VDI 3799 (VDI, 1995) de cartographies implique l'estimation de la fréquence de différentes espèces à l'intérieur d'une aire d'échantillonnage pour le calcul d'un indice de la qualité de l'air (LGW pour Luftgütewert). Deuxièmement, en Italie, où l'utilisation d'un indice de diversité lichénique implique également un calcul de la fréquence, adapté aux macrorégions afin de pouvoir comparer les études (Loppi *et al.*, 2001). Cependant, les grilles sont sujettes aux critiques en raison de leurs points faibles.

En effet, la subjectivité qui intervient lors de l'utilisation des grilles est un problème majeur et redondant. Parce qu'il n'existe aucune étude de l'homogénéité des communautés lichéniques préalable (Nimis, 1991), par manque de temps et de techniques, l'homogénéité floristique ne correspond pas toujours avec le choix de la position sur le tronc, de la configuration et des dimensions de la grille.

- **Position d'une grille :** Dans beaucoup de situations, l'aire d'échantillonnage recommandée par les méthodes offre de trop nombreuses libertés, en direction verticale et horizontale, pour placer la grille. Le choix des surfaces d'échantillonnages vise souvent les zones où les espèces sont spatialement contiguës, par exemple "the grid is fasten where lichen growth is heaviest" dans la norme VDI (1995) ou encore le centre de la grille correspond à "the part

of the bole with the highest lichen coverage" pour Badin et Nimis (1996). Que ce soit dans l'analyse des populations végétales (Dietz et Steinlein, 1996) ou chez les lichens, la fréquence, à la différence du recouvrement, néglige l'énorme variabilité des dimensions intra et interspécifiques. Le recouvrement pourrait être une bonne solution pour placer une grille. Cependant, les deux exemples ci-dessus révèlent un paradoxe de la recherche d'un développement ou un recouvrement maximal pour définir une aire d'échantillonnage sur laquelle sera effectué un calcul de fréquence. D'autres techniques, offrant une bonne solution face aux problèmes d'homogénéité floristique (Nimis, 1991), utilisent un échantillonnage stratifié aléatoire basé sur des critères non floristiques. Selon Nimis (1991), la procédure comprend deux niveaux d'échantillonnage : la détermination de zones physiquement homogènes (paramètres corticaux) précédant les mesures biologiques qui doivent caractériser l'emplacement précis de la grille. C'est le cas d'une nouvelle méthode (Asta *et al.*, 2002) qui détermine les 4 points cardinaux (premier niveau) comme emplacements de 4 grilles. Dans ce cas, la probabilité d'échantillonner dans un ensemble hétérogène, s'il existe, implique un biais méthodologique important.

- **Configuration et dimensions d'une grille.** L'estimation de la fréquence et la quantification du recouvrement lichénique dépendent de la configuration et de la dimension de la grille. Les exemples montrent la diversité des grilles élaborées par les auteurs. Par exemple, une grille rectangulaire de 20 × 50 cm, composée de 10 carrés de 10 × 10 cm chacun est utilisée dans la norme allemande (VDI, 1995). Badin et Nimis (1996) utilisent une grille plus large de 30 × 50 cm composée de 10 rectangles de 10 × 15 cm chacun. Kovács (1992) propose une aire de 30 × 130 cm subdivisée en 40 rectangles. Enfin Asta *et al.* (2002) propose 4 grilles de 10 × 50 cm. La liste des exemples peut encore être allongée, mais aucun auteur n'a jamais testé statistiquement les grilles en fonction des caractéristiques propres (hétérogénéité, distribution, morphologie des espèces) de chaque communauté. Bien que les grilles d'une taille déterminée soient familières, celles-ci ne reflètent pas nécessairement les phénomènes écologiques. Comme l'explique Weins (1989) à propos du manque d'intérêt des écologues pour l'échelle spatiale en écologie, les lichénologues sont sous l'influence d'un héritage traditionnel et utilisent ce type de grille de part leur facilité d'utilisation et parce que les premiers auteurs l'utilisaient également.

L'analyse d'images numériques, encore considérée comme une méthode alternative sophistiquée et coûteuse, a été utilisée dans des méthodes d'investigations et d'évaluation du pourcentage de recouvrement et de la distribution de lichens (Innes, 1985). C'est aussi un outil qui a un potentiel considérable dans les études qui tentent de mesurer la distribution des lichens (Yarrington et Green, 1966; John, 1990) et de détecter les faibles changements de croissance des lichens

(Armstrong et Smith, 1987; Delcros *et al.*, 1999). Cette technique offre de nombreux avantages en lichénométrie (McCarthy et Zaniewski, 2001) ou plus récemment en bioindication (Purvis *et al.*, 2002), comme la possibilité de collecter rapidement un grand nombre de données sur le terrain et générer rapidement des mesures objectives (superficie des thalles, périmètre, *etc.*) qui seraient difficiles à obtenir manuellement. Dans tous les exemples bibliographiques, ces techniques ne sont disponibles que pour les lichens épilithiques ou épiphytes se développant sur des surfaces planes, comme le logiciel LichenVision © 1.0 beta (2001-2002). Pour l'analyse des lichens épiphytes à la surface d'une écorce, les problèmes de parallaxes peuvent devenir très importants du fait de la courbure de tronc. Ainsi, des méthodes indirectes, détaillées par UNECE (1998) et Purvis (2000), se basent soit sur des photographies de carré permanent marqué sur le tronc en utilisant un cadre rigide de faibles dimensions (quelques dizaines de cm), soit sur des contours de thalles dessinés sur une feuille de plastique flexible qui épouse le tronc, mais également ses reliefs et ceux des lichens. Il existe bien des corrections géométriques complexes pour des images servant à la cartographie de la végétation à l'aide de photographies aériennes (Kamada et Okabe, 1998), mais aucune n'est adaptée aux images de troncs d'arbres.

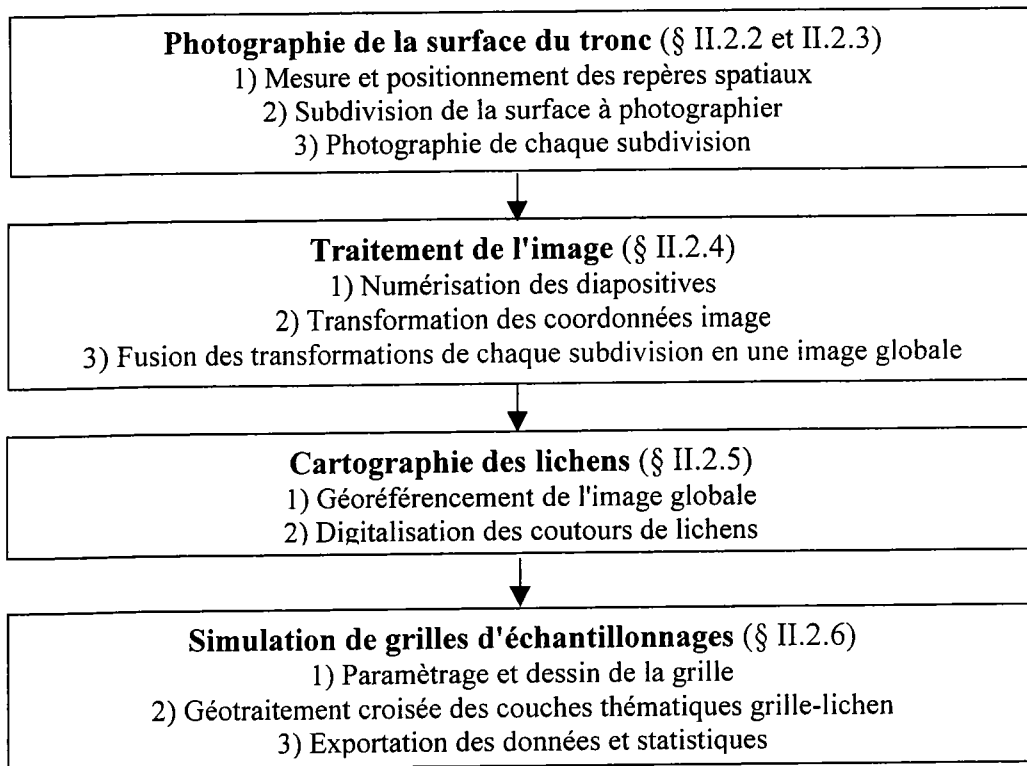
Nous proposons, pour étudier les stratégies d'échantillonnages, une nouvelle approche qui permet une analyse spatiale du recouvrement et de la fréquence des communautés lichéniques épiphytes. Cette approche s'inspire étroitement des travaux remarquables de Dietz et Steinlein (1996), Kamada et Okabe (1998) et Vanha-Majamaa *et al.* (2000) qui présentent l'intérêt des photographies dans l'analyse et la cartographie de la végétation. Dans cette étude, un Système d'Information Géographique (Goodchild, 1994; Delcros *et al.*, 1999) a permis la simulation de la rotation d'une grille virtuelle entièrement paramétrable autour d'un tronc dont les photographies numérisées, puis redressées et géoréférencées servent aux tracés des contours des lichens.

II.2 DESCRIPTION GENERALE DE LA TECHNIQUE

II.2.1 Aperçu de la méthodologie

La Figure 4 montre la description de la technique utilisée pour la cartographie et l'échantillonnage des lichens avec un Système d'Information Géographique (SIG) à partir de photographies des troncs d'arbres prises à 80 cm de distance. La procédure consiste en 4 étapes : i) la photographie de la surface du tronc, ii) le traitement de l'image, iii) le tracé des contours de lichens et iv) les échantillonnages multiples avec des grilles virtuelles sous SIG.

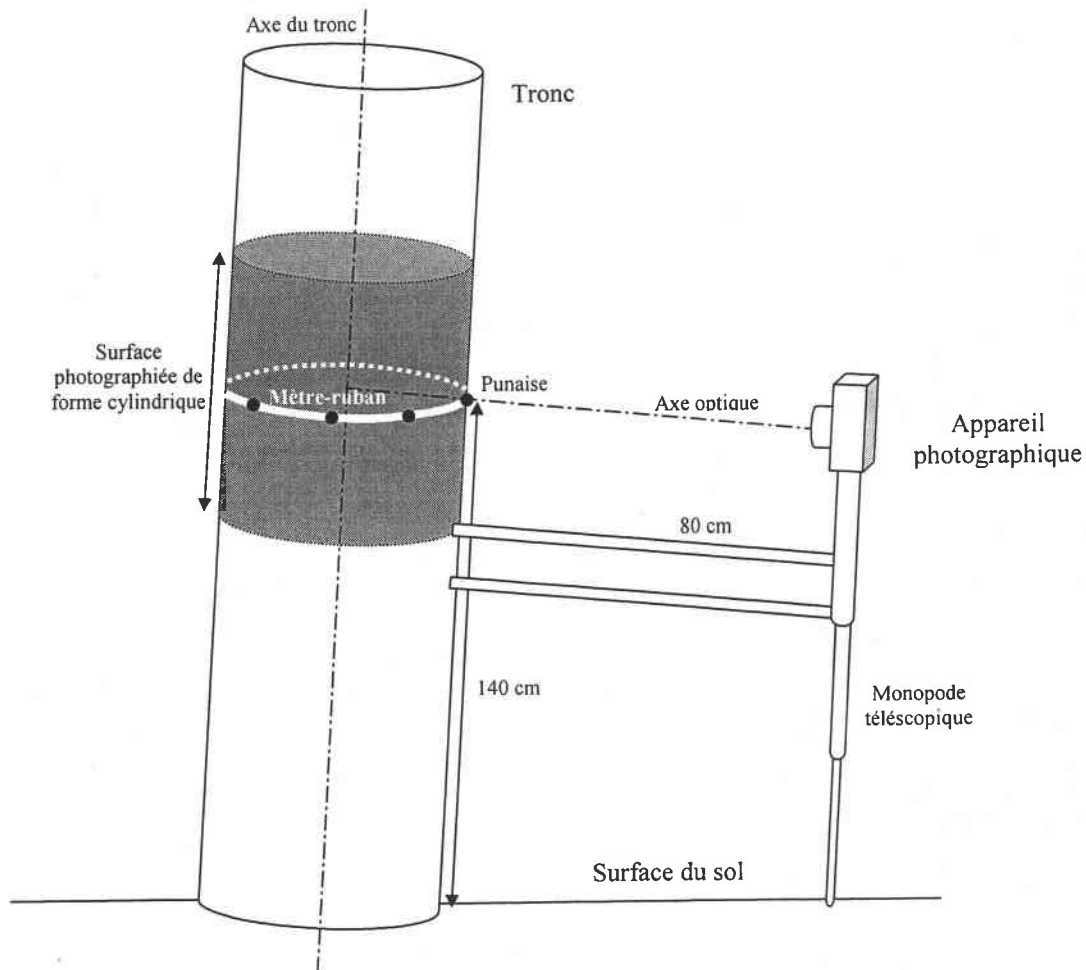
Figure 4. Description générale de la procédure utilisée pour la cartographie des lichens épiphytes à l'aide de photographies



II.2.2 Dispositif expérimental et système pour la photographie

Un mètre-ruban de 3 mètres de long en papier est attaché tout autour du tronc à approximativement 140 cm au-dessus du point le plus haut du sol. La valeur zéro correspond à la direction du Nord. Le long du mètre-ruban, 8 punaises rouges sont placées aux points cardinaux (N, NE, E, SE, S, SW, W, NW) et 8 punaises jaunes sont placées de façon équidistante entre les précédentes. La Figure 5 montre le système photographique que nous avons utilisé. Le système consiste en un appareil photographique, un monopode télescopique sur lequel sont fixées perpendiculairement 2 tiges en aluminium de 80 cm de long chacune. Le support de l'appareil photographique monopode est destiné à permettre à l'utilisateur de changer d'angle horizontalement et verticalement et de régler la hauteur en utilisant des vis à molette. Les 2 tiges permettent l'appui du système photographique sur le tronc. Une fois que l'axe vertical du système photographique est parallèle à l'axe vertical de l'arbre, le système est positionné pour prendre une photographie. La dernière étape consiste à faire correspondre le centre de l'oculaire de l'appareil photographique avec les punaises jaunes et à ajuster l'horizontalité de l'appareil sur le mètre-ruban.

Figure 5. Dispositif expérimental de photographie des lichens épiphytes utilisant un appareil photographique monté sur un monopode télescopique



II.2.3 Photographie

Les photographies ont été prises verticalement, sous une lumière naturelle, à une distance de 80 cm du tronc. Un appareil photographique semi-automatique Fujica AX-1 avec un objectif d'une focale de 50 mm et un film couleur 24 × 36 mm (Fujifilm Sensia 100) a été utilisé. Les diapositives forment le matériel de base pour le traitement de l'image.

II.2.3.1 Détermination des dimensions de la surface photographiée du tronc

La diapositive (D; Figure 6) correspond à une image (I) plane qui est la projection de la surface photographiée du tronc (S). Comme les photographies ont été prises verticalement, la hauteur de I et de S est constante mais du fait de la courbure du tronc, la largeur de S dépend de la distance de prise de vue d , de la largeur $2i$ de I et du rayon r du tronc de l'arbre. Pour le calcul

de la largeur de $S (= 2\hat{s})$ en fonction de d , i et r , le tronc d'un arbre est considéré comme un cylindre parfait (Figure 6), et dans ce cas l'arc de cercle $\hat{s}$ est égal à : $\hat{s} = \frac{2\pi r \alpha}{360}$ où l'angle α est inconnu. Pour déterminer l'angle α , les méthodes de calculs décrites par Weisstein (2002) d'un point d'intersection d'une ligne avec un cercle, dont le centre $C(0, 0)$ est l'origine d'un plan orthonormé (Figure 7) ont été adaptées comme développé ci-dessous (Annexe 1) :

Le point de coordonnées (x_1, y_1) est le point D_r de coordonnées $(r+d, i')$.

Le point de coordonnées (x_2, y_2) est le point I_r de coordonnées (r, i) .

$$d_x = x_2 - x_1 = -d$$

$$d_y = y_2 - y_1 = i - i'$$

$$d_r = \sqrt{d_x^2 + d_y^2} = \sqrt{(d)^2 + (i - i')^2}$$

$$D = x_1 y_2 - x_2 y_1 = (r+d)i - ri' = r(i - i') + di$$

En remplaçant les valeurs de ci-dessus dans l'équation suivante (Annexe 1), il est possible de calculer l'abscisse du point S_r de coordonnées (x, y) .

$$x = \frac{D d_y - (d_x) \sqrt{r^2 d_r^2 - D^2}}{d_r^2}$$

soit :

$$x = \frac{(r(i - i') + di)(i - i') + d \sqrt{r^2 d^2 + r^2 (i - i')^2 - (r(i - i') + di)^2}}{d^2 + (i - i')^2}$$

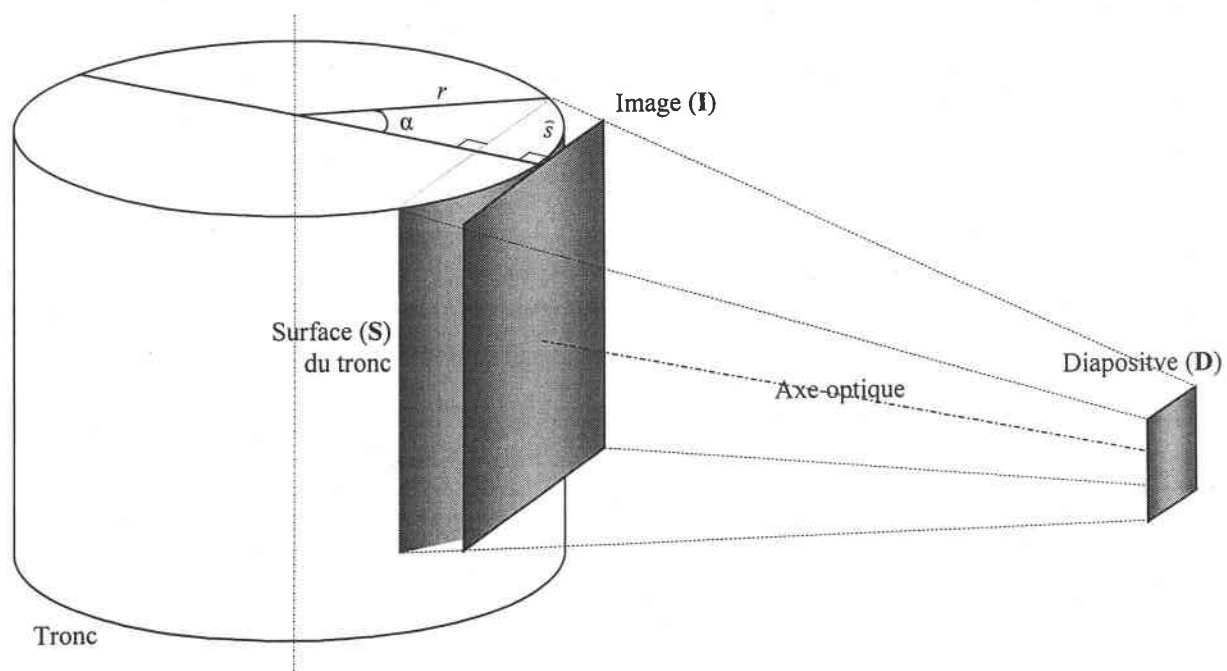
A partir de x , il est maintenant possible d'obtenir l'angle α puisque :

$$\cos \alpha = \frac{x}{r} \text{ d'où } \alpha = \arccos\left(\frac{x}{r}\right)$$

et de remplacer la valeur de α dans l'équation suivante pour calculer l'arc de cercle $\hat{s}$:

$$\hat{s} = \frac{2\pi r \alpha}{360}$$

Figure 6. Paramètres géométriques des photographies.

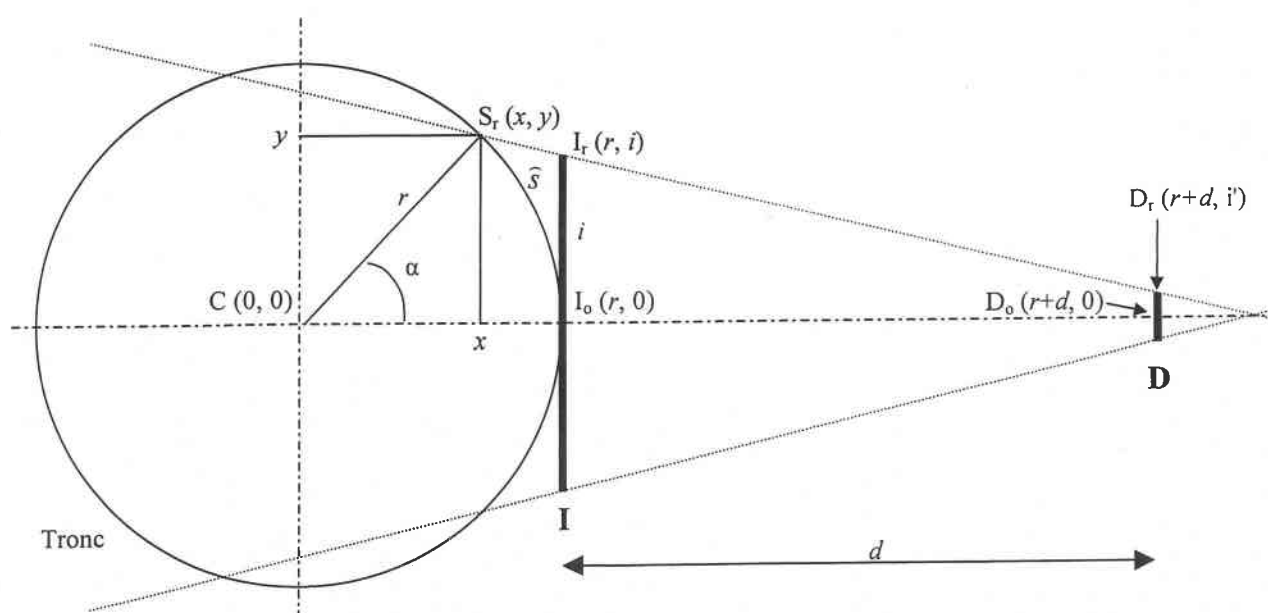


i : demi-largeur de I

r : rayon du tronc d'arbre

$\hat{s}$: arc de cercle

Figure 7. Schéma d'une section horizontale d'un tronc d'arbre dont le centre constitue l'origine d'un plan orthonormé



Une fois que les équations ci-dessus ont été obtenues, le calcul des dimensions de la zone du tronc photographiée, avec le dispositif utilisé dans cette étude, peut être établi de la façon suivante.

Des diapositives d'ouverture de cache de dimensions $23,4 \times 34,8$ mm ont été obtenues (Figure 8) à partir des films de 24×36 mm.. L'équation suivante permet de déterminer la dimension réelle (D_e) de l'image (I) en fonction de la distance de prise de vue (d), de la focale de l'objectif (f) et des dimensions de l'ouverture du cache (D_c) :

$$D_e = \frac{d \times D_c}{f}$$

Avec $d = 80$ cm et $f = 50$ mm, l'image de la diapositive recouvre en réalité $37,4 \times 55,7$ cm. Puisque les photographies ont été prises verticalement, $i = 37,4/2 = 18,7$ cm et $i' = 55,7/2 = 27,85$ cm. Les valeurs prises par $2\hat{s}$ en fonction de r sont montrées dans la Figure 9. Elles montrent, qu'avec notre système photographique, plus le rayon du tronc d'arbre est important et plus la largeur de la zone photographiée est grande. Cette dernière atteint une valeur maximale de 60 cm pour un arbre de 23,4 cm de rayon. Les arbres de plus petit rayon apparaissent en entier sur l'image I.

II.2.3.2 Détermination du pourcentage d'incertitude lié à la courbure du tronc

Si la surface du tronc d'un arbre était plane, alors i serait égal à $\hat{s}$. Du fait de la courbure du tronc, $\hat{s}$ augmente plus rapidement que i (pour une valeur de r fixée), pour atteindre une valeur maximale lorsque S_r est le point d'intersection entre le tronc et la tangente $I_r D_r$ (Figure 7). Une façon de quantifier la déformation latérale observée sur les images est de calculer les valeurs prises par la différence $(\hat{s} - i)$. Nous considérons que cette différence correspond à 100%, d'où l'égalité suivante : $(\hat{s} - i)_{\max} = 100\%$. Le calcul du rapport suivant correspond donc à un pourcentage d'incertitude IC lié à la projection :

$$IC(\%) = \frac{(\hat{s} - i) \times 100}{(\hat{s} - i)_{\max}}$$

Les côtés latéraux de chaque image ont été rognés de façon à conserver une IC inférieure à 5%.

Figure 8. Dimensions (mm) du cache d'une diapositive

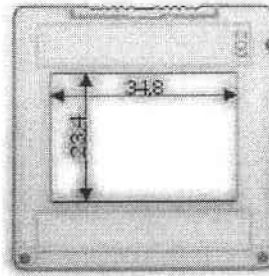
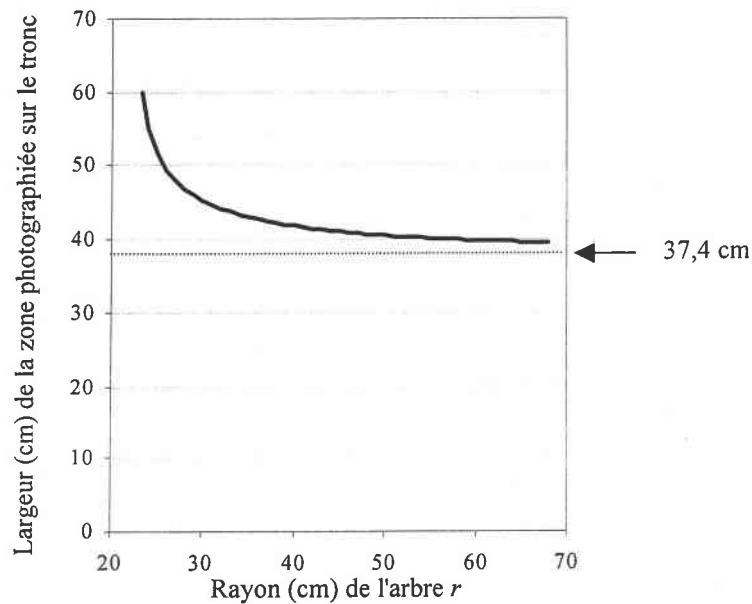


Figure 9. Largeur ($2\hat{S}$) de la zone d'un tronc d'arbre apparaissant sur une diapositive ($23,4 \times 34,8$ mm) obtenue avec un appareil photographique en position vertical muni d'un objectif de $f = 50$ mm, à une distance de 80 cm.



II.2.4 Traitement des images

Dans cette seconde étape, le problème de la courbure du tronc dans l'estimation du recouvrement lichénique peut être résolu au moyen du traitement informatique d'image. Les photographies ont été numérisées à l'aide d'un scanner de diapositives (Hewlett-Packard Photosmart s20) et l'image I obtenue a été enregistrée au format TIFF en 2400 dpi. Le format de fichier TIFF (Tagged Image File Format) est communément employé pour le stockage d'images de haute résolution. Dans notre cas, les images stockées avaient une taille supérieure à 20 mégaoctets (Mo). Cependant, pour faciliter le traitement de l'image, nous les avons compressées au format JPEG de moins d'1 Mo. Un algorithme a été programmé avec le logiciel Corel Script™ Editor version 7.373 (cf. Annexe 2) afin d'automatiser le redressement des images. Avant d'exécuter

l'algorithme, une image I_j , j variant de 1 à n (nombre de photographies prises autour de l'arbre), a été ouverte dans Corel PHOTO PAINT™ avec une taille de fenêtre adaptée. Puis la saisie de la coordonnée x (en pixel) des points de l'image, qui correspondent en réalité à une graduation d'1 cm du mètre-ruban (apparaissant sur l'image car photographié), a été réalisée. Une fois ces informations enregistrées dans le programme, l'algorithme suivant est exécuté automatiquement pour chaque arbre.

1. Elargissement de la fenêtre de travail et déplacement de l'image $I_{j=1}$ dans la partie droite de la zone de travail.
2. Découpage dans l'image d'un rectangle d'une largeur équivalente à une graduation d'1 cm (en moyenne 30 pixels) sur le mètre-ruban et d'une hauteur de 50 cm.
3. Ajustement de la largeur du rectangle à 30 pixels.
4. Répétition des étapes 2) et 3) pour chaque centimètre de la photographie et juxtaposition de chaque rectangle dans la partie gauche de la zone de travail.
5. Répétition des étapes 1) à 4) pour les images $I_{j=2}$ à $I_{j=n}$.
6. Juxtaposition de l'ensemble des rectangles des n images dans une nouvelle image globale I_G .

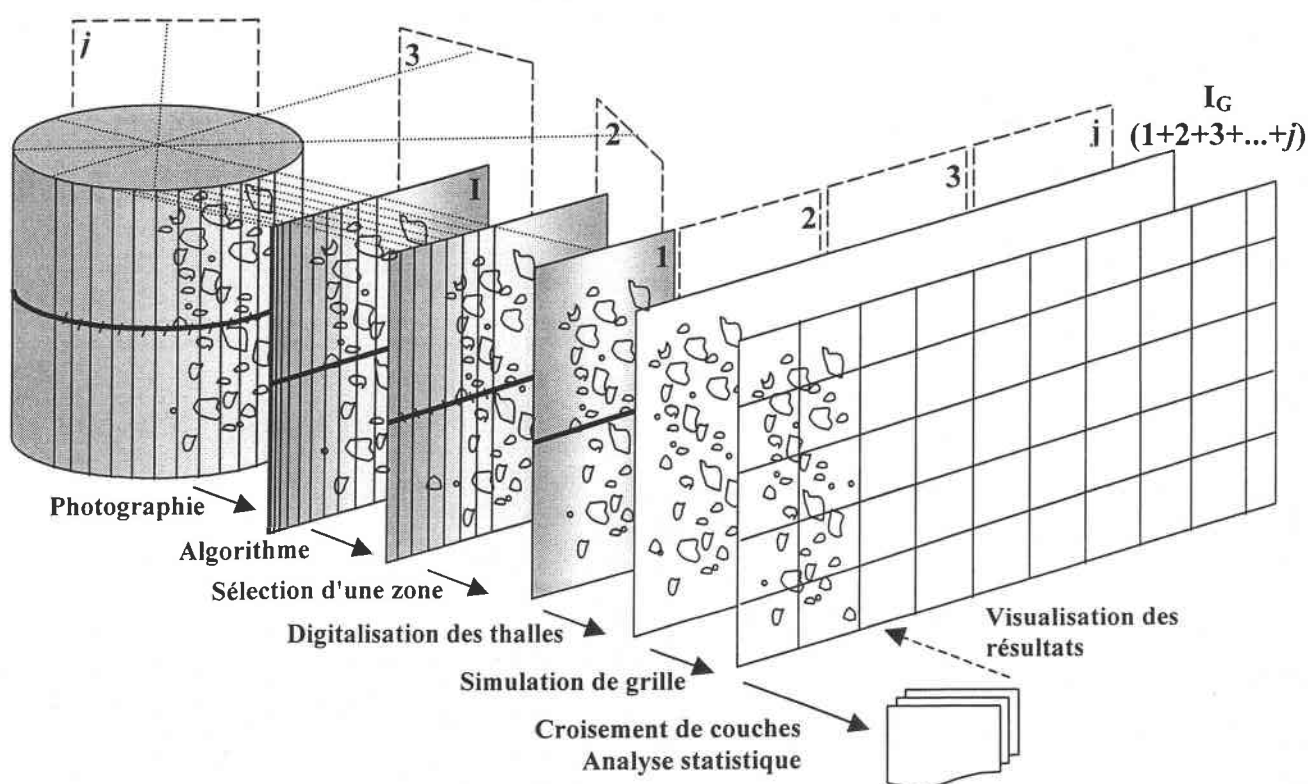
II.2.5 Cartographie des lichens

Dans cette troisième étape, les thalles des lichens apparaissant sur l'image globale I_G ont été digitalisés avec ArcView version 3.1, un logiciel de SIG de l'Environmental Systems Research Institute, Inc. (ESRI). Puisque toutes les graduations centimétriques des photographies ont été converties en une graduation virtuelle de 30 pixels de large (soit 1 cm = 30 px), alors la dimension d'un pixel de I_G est de $0,33 \times 0,33$ mm. Ces valeurs sont nécessaires à la détermination de l'échelle de l'image et à son géoréférencement, c'est-à-dire la définition de la position de l'image dans un système de coordonnées donné. Une fois le géoréférencement établi, le contour des lichens a été digitalisé afin d'obtenir des polygones épousant la forme du thalle (Figure 12). La digitalisation est le procédé de conversion de traits sur une carte ou une image en un format numérique. Les coordonnées de ces traits sont automatiquement enregistrées et stockées comme des données spatiales. La quantification de l'aire des thalles est enregistrée comme une couche thématique dans l'ordinateur.

II.2.6 Simulation de grilles virtuelles

Dans cette quatrième et dernière étape, le dessin de la grille est généré par l'ordinateur (Script d'ArcView développé par J.-F. Mony, Université de Metz) ce qui permet d'en paramétrer les dimensions, la position et la configuration. Le dessin de la grille constitue une couche thématique qui est enregistrée dans l'ordinateur et superposée avec celle du contour des lichens (Figure 10). Un procédé automatique appelé Géotraitement est utilisé pour exécuter les fonctions d'analyses spatiales dans ArcView 3.1 comprenant des intersections de couches, des unions et des jointures spatiales.

Figure 10. Vue d'ensemble des étapes de photographies, traitement des images, digitalisation des lichens et simulation de grilles d'échantillonnage autour d'un arbre.



II.3 APPLICATION DE LA TECHNIQUE A LA VEGETATION LICHENIQUE

La technique de photographie des troncs d'arbre et de cartographie des lichens épiphytes a été appliquée et testée dans un cas simple. Dans cette partie, l'utilisation de notre technique sur le terrain et le traitement de données est décrit en détail et des résultats de l'étude sont présentés.

II.3.1 Arbre-test

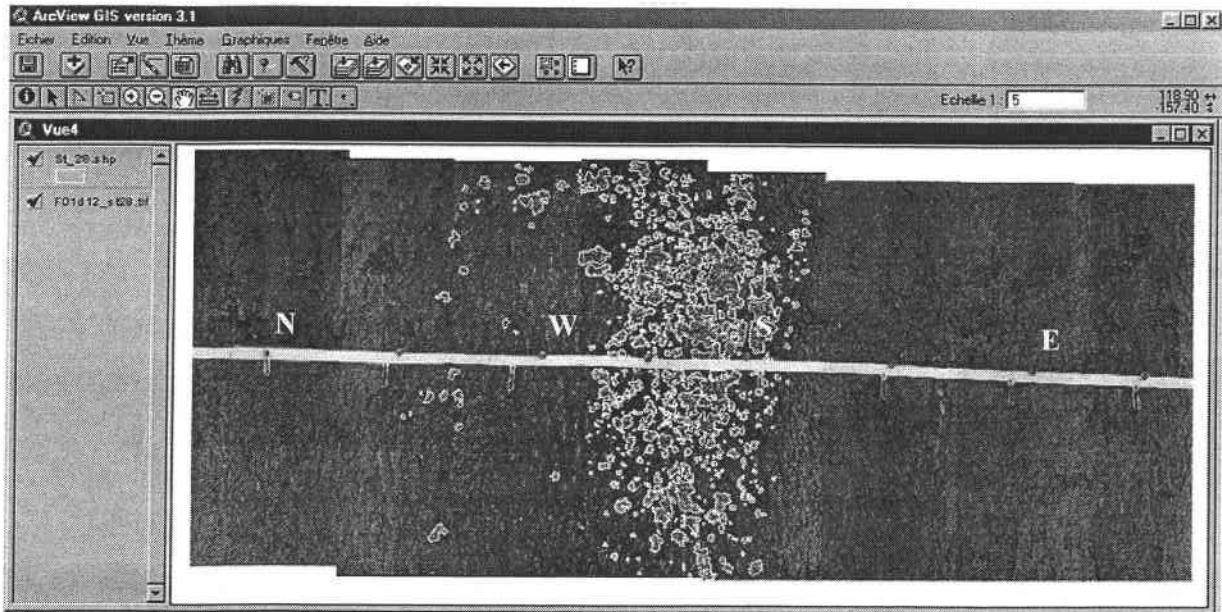
L'arbre étudié est un frêne (*Fraxinus excelsior*) d'un alignement monospécifique en zone industrielle de Metz-Borny (Est de Metz). La végétation lichénique de cet arbre est monospécifique, seul le lichen acidophile *Hypogymnia physodes* s'y développe, du fait d'une forte pollution acide (Signoret, 1999). Les thalles de ce lichen sur le tronc, tous nettement orientés en direction du Sud-Ouest, marquent la préférence du lichen à une exposition aux précipitations (Figure 11).

A 140 cm au-dessus du sol, le mètre-ruban, fixé autour de l'arbre d'un périmètre de 133 cm, a permis de placer 8 punaises jaunes équidistantes de 16,6 cm. Huit photographies ont été prises autour de cet arbre et le traitement de chaque image avec l'algorithme a permis d'obtenir une image globale I_G ou "panoramique" (Figure 12).

Figure 11. Photographie de la face Sud-Ouest d'un arbre étudié dans la cartographie de la flore lichénique et la simulation de grilles d'échantillonnages.



Figure 12. Image I_G panoramique redressée et géoréférencée d'un arbre dans une fenêtre de travail d'ArcView 3.1, logiciel de SIG, sur laquelle a été tracé (en blanc) le contour des thalles d'*H. physodes*.



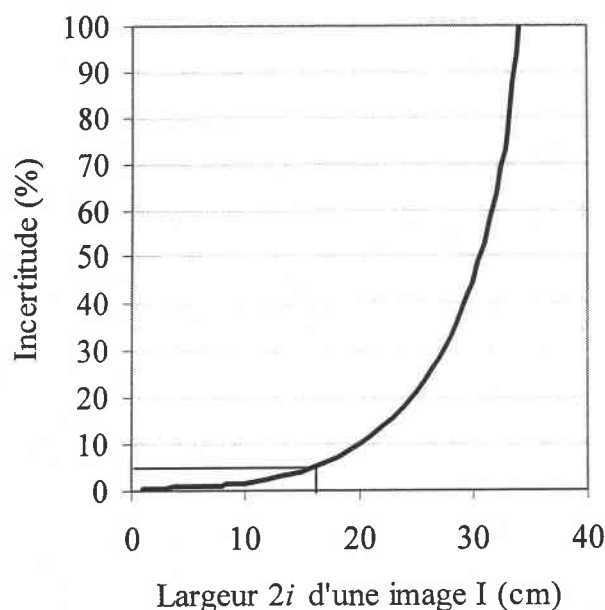
II.3.2 Points de contrôle

Pour obtenir l'image globale, il a été nécessaire de "rogné" le bord des 8 images afin d'éliminer les parties photographiées où la courbure de l'arbre était trop importante. Pour cela, le pourcentage d'incertitude IC (§ II.2.3.2) pris en compte devait être inférieur à 5%. La Figure 13 montre que pour que $IC < 5\%$, la largeur ($2i$) de chaque image I rognée ne doit pas dépasser 16 cm, ce qui signifie qu'à partir d'une image de largeur maximale $2i_{\max} = 37,4$ cm, une partie de

l'image d'au moins $10,7$ cm $\left(\frac{37,4 - 16}{2} \right)$ de large doit être retirée de chaque côté d'une image.

Les distorsions les plus importantes ont lieu sur les bords supérieurs et inférieurs des images I , avec un décalage qui reste inférieur à 5 mm. Le plus petit thalle reconnaissable sur l'image était d'environ 3×3 mm. En deçà de ces dimensions, la détermination des lichens est hasardeuse et par conséquent les plus petits thalles n'ont pas été pris en compte. Pour cet arbre, la détermination des lichens de ce tronc sur le terrain a permis de vérifier que les plus petits thalles étaient ceux d'*H. physodes*. Les lichens recouverts par le mètre-ruban ne sont pas pris en compte dans le reste des analyses.

Figure 13. Pourcentage d'incertitude liée à la projection de la surface d'un tronc (périmètre de 133 cm) sur une image I de largeur variable (2i).



II.3.3 Application des grilles virtuelles aux choix d'échantillonnage

II.3.3.1 Grille de maille 1 × 1 cm

Afin d'étudier le recouvrement d'*H. physodes* sur le tronc de l'arbre étudié, une grille de 50 × 133 cm, de maille élémentaire 1 × 1 cm, a été générée par l'ordinateur et superposée sur la couche thématique contenant le contour des lichens.

D'une part, le pourcentage de recouvrement de l'ensemble des thalles d'une maille de 1 × 1 cm a été calculé sur l'ensemble de la grille, 6 classes de valeurs ont été choisies (Figure 14) et chacune des 6650 mailles a été colorée en fonction des classes de valeurs correspondantes. L'objectif de ces calculs est uniquement d'obtenir une visualisation synthétique du recouvrement lichénique par maille afin d'éviter une superposition complexe où les thalles et la grille sont indiscernables.

D'autre part, les valeurs de recouvrement du lichen et du nombre de mailles occupées par un thalle, ou fréquence d'occurrence (Asta *et al.*, 2002) considérée dans notre étude comme une fréquence, pour chaque ligne et colonne, ont été reportées dans la Figure 14. La distribution horizontale (selon l'exposition autour du tronc) des lichens est sensiblement symétrique, en revanche la distribution verticale (de bas en haut) est moins nette, mais avec un recouvrement total qui peut être fortement différent d'une colonne à l'autre, de l'ordre d'un facteur 10. Les relations entre la fréquence et le recouvrement pour le lichen épiphyte *H. physodes* obtenues à

partir de l'échantillonnage horizontal et vertical sont montrées dans la Figure 15. La corrélation calculée dans le cas d'un échantillonnage horizontal, fortement significatives ($p < 0,001$), est égale à 0,593. De même, la corrélation calculée dans le cas d'un échantillonnage vertical où $r^2 = 0,886$ ($p < 0,001$) avec l'ensemble des valeurs ($n=55$), mais $r^2=0,922$ ($p < 0,001$) en ne prenant en compte que des valeurs de recouvrement allant de 0 à 15 cm ($n=38$). En effet, la forme de la courbe pour l'échantillonnage vertical est intéressante puisqu'elle montre un plateau lorsque la fréquence maximale, égale à 50, est atteinte. Pour cette fréquence maximale, le recouvrement n'est pas complet puisque environ 15 cm² sont occupés par des thalles sur 50 cm² (1 × 50 cm) colonisables par les lichens. En effet, pour une grille de dimensions et de nombre de mailles fixés, comme celle utilisée dans notre étude, un phénomène de saturation par la fréquence est observé alors que le recouvrement lichénique peut encore augmenter. Dans ce cas, le recouvrement lichénique donne plus d'information que la fréquence. En ce qui concerne l'échantillonnage horizontal, il n'y a pas de phénomène de saturation puisque aucune des lignes de 133 mailles n'est occupée à 100%. Ceci est lié à la distribution restreinte du lichen étudié sur l'arbre, mais le phénomène de saturation pourrait se produire également sur des arbres colonisés sur l'ensemble de la surface du tronc. Hormis sa quantification aisée avec notre technique de photographie, ce phénomène renvoie vers le concept d'échantillonnage et vers l'utilisation des grilles en bioindication lichénique qui sera abordé dans le paragraphe suivant.

Figure 14. Distribution du recouvrement (histogramme en gris) et de la fréquence (ligne noire) d'*H. physodes* sur un arbre-test en utilisant un échantillonnage horizontal et vertical à l'aide d'une grille virtuelle (50 × 133 cm) de maille de 1 × 1 cm

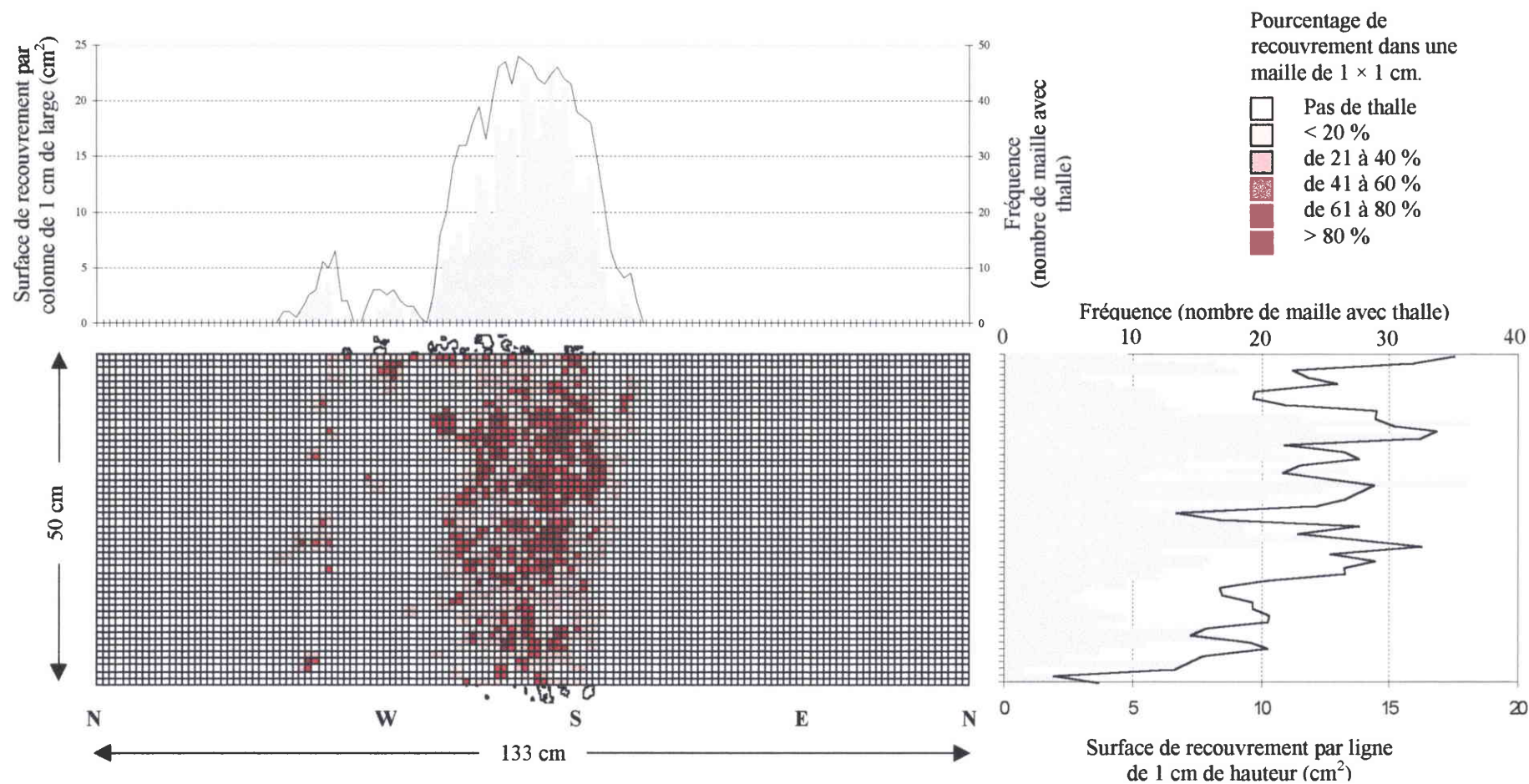
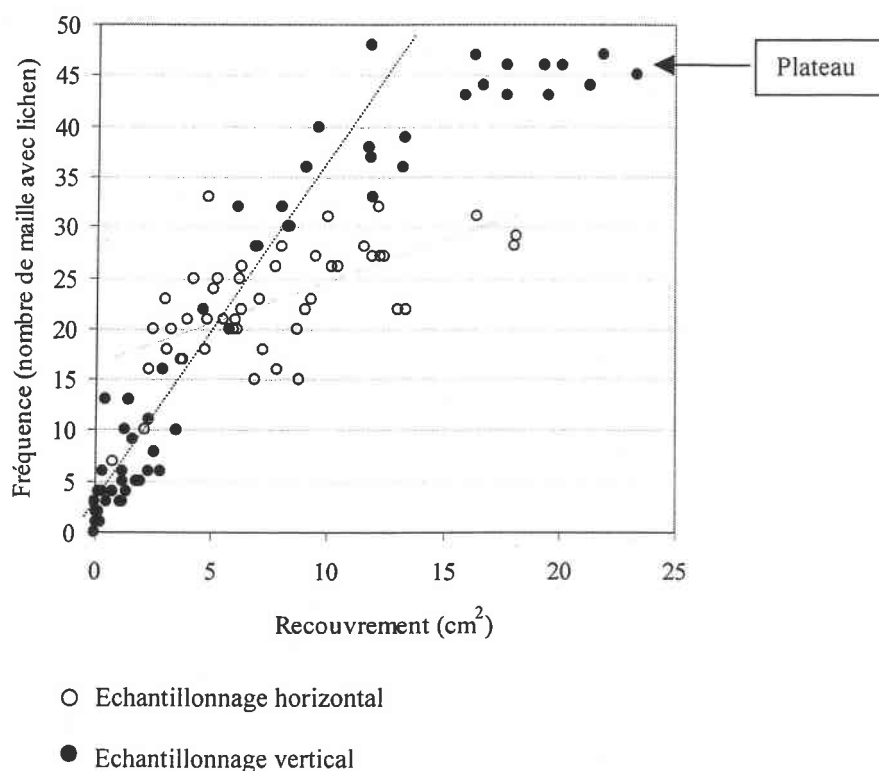


Figure 15. Relation entre la fréquence et le recouvrement pour le lichen épiphyte *H. physodes* obtenus à partir d'un échantillonnage horizontal et vertical d'une grille virtuelle (50×133 cm) de maille de 1×1 cm

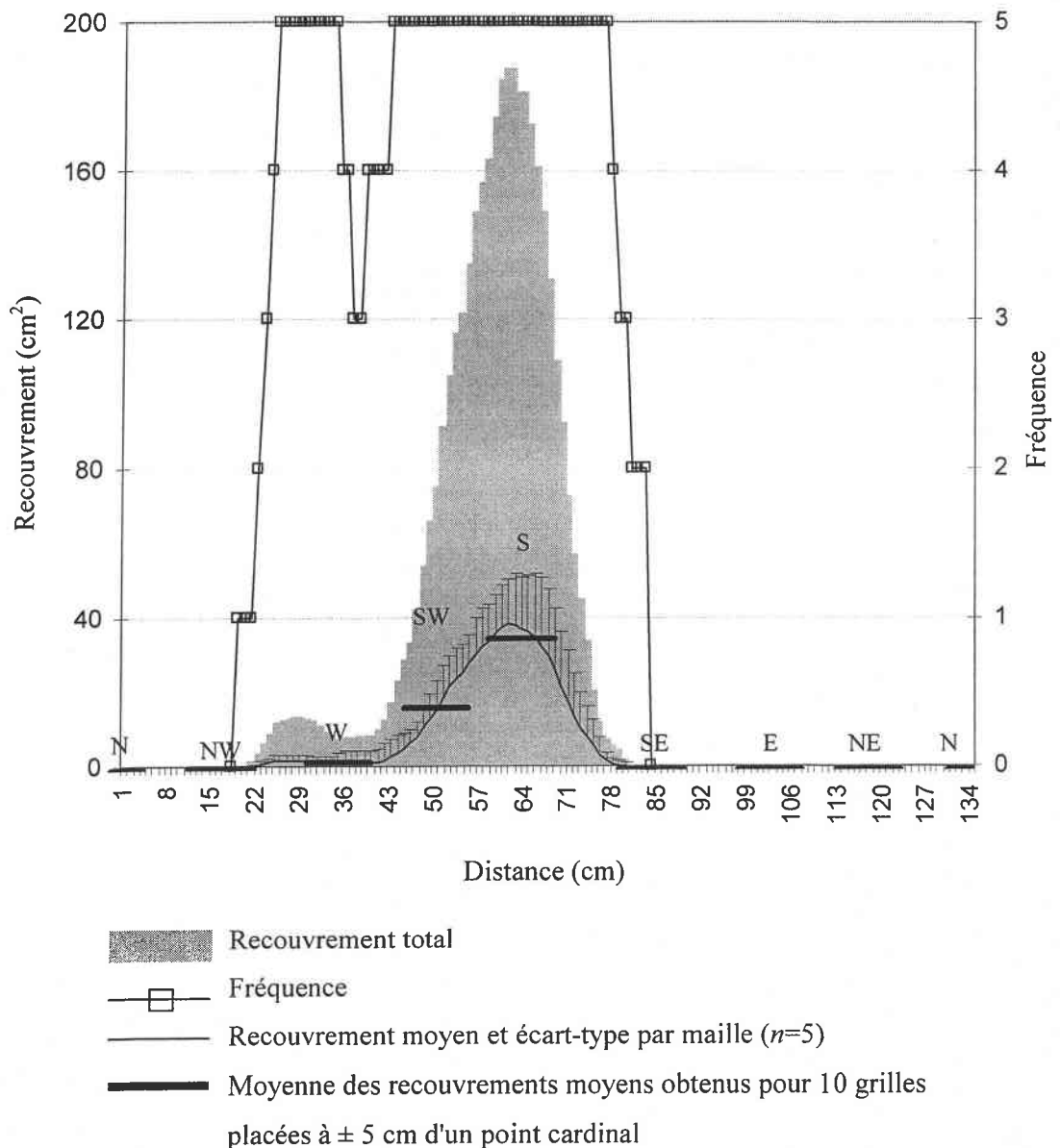


II.3.3.2 Grille de maille 10×50 cm

Récemment, Asta *et al.* (2002) ont proposé une nouvelle méthodologie fournissant selon ces auteurs, une technique objective et répétable pour l'estimation d'une valeur de la diversité lichénique (LDV) et pour la description de la végétation sur l'écorce des arbres, basée sur la fréquence de présence des espèces lichéniques dans une zone définie des troncs. Le principe est simple : attacher 4 grilles d'échantillonnage de 10×50 cm (chacune composée de 5 carrés contigus de 10×10 cm) sur le tronc aux 4 points cardinaux (N, E, S et W). Selon les auteurs de cette méthode, un décalage maximum de 20° dans le sens des aiguilles d'une montre de chaque grille est permis pour éviter les parties du tronc qui ne conviennent pas pour l'échantillonnage. Afin de mettre en évidence les effets de ces pratiques d'échantillonnage sur la précision des estimations, différentes positions sur l'horizontale d'une grille d'échantillonnage verticale de 10×50 cm ont été testées avec un exemple simple : l'arbre-test. Le recouvrement et la fréquence ont été estimés (Figure 16) i) tout autour du tronc avec un pas de 1 cm afin d'évaluer les valeurs de ces paramètres en dehors des points cardinaux et ii) aux 8 points cardinaux avec un écart horizontal de ± 5 cm (soit $\pm 13,5^\circ$) par rapport à ces repères. Dans ce dernier cas, le calcul de la moyenne des recouvrements moyens obtenus avec 11 grilles a été effectué en considérant : 1 grille en position exacte sur le point cardinal, 5 grilles s'écartant de plus en plus du point

cardinal (pas de 1 cm) dans le sens des aiguilles d'une montre et 5 également dans le sens inverse. Ces faibles variations horizontales de la position de la grille par rapport au point cardinal peuvent être une source potentielle d'erreur attribuable à la capacité des observateurs à placer la grille sur le terrain. D'une certaine façon, c'est la reproductibilité^a du placement de la grille sur l'estimation du recouvrement et de la fréquence de présence qui est testée ici.

Figure 16. Recouvrement total, moyen (+ écart-type) et fréquence pour le lichen épiphyte *H. physodes* obtenus à partir d'un échantillonnage vertical d'une grille virtuelle de 10 × 50 cm (maille de 10 × 10 cm) déplacée sur l'horizontale avec un pas de 1 cm.

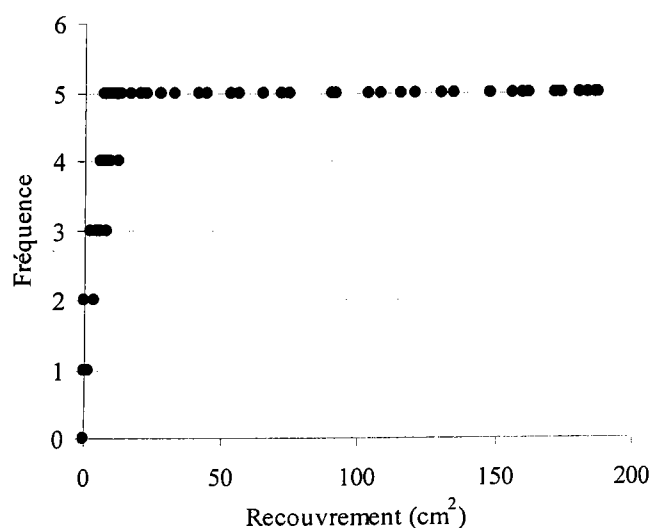


^a Variabilité aléatoire des résultats de plusieurs déterminations d'un même échantillon, effectuées de manière espacée dans le temps, donc dans des conditions qui peuvent être expérimentalement légèrement différentes (INRS, 2000).

La fréquence maximale, égale à 5, est atteinte pour des valeurs de recouvrement d'environ 10 cm², soit 1/10 de la superficie d'une maille (100 cm²). Les variations du recouvrement lichénique autour de l'exposition Ouest et Sud-Est sont faibles mais celles de la fréquence sont importantes, respectivement de 3 à 5 et de 0 à 5. A l'inverse, là où la fréquence est constante, comme au niveau de l'exposition Sud et Sud-Ouest, le recouvrement par maille varie fortement (respectivement de 14 cm² et de 22 cm²) et le recouvrement total également (respectivement de 95 cm² et de 114 cm²).

Le grand nombre de thalles de petites tailles d'*Hypogymnia physodes* distribués de façon homogène sur la verticale du tronc explique les phénomènes de saturation de grille observés. La valeur maximale de la fréquence est donc rapidement atteinte (Figure 17), puisqu'il suffit qu'il y ait au moins un thalle présent dans chacune des 5 mailles de la grille. Le fait que la fréquence de toutes les espèces dans une grille soit la somme des fréquences spécifiques (Asta *et al.*, 2002), c'est-à-dire le nombre de mailles dans lesquelles au moins un thalle de l'espèce considérée existe, permet d'estimer l'effet des choix d'échantillonnage en étudiant une seule espèce. C'est pourquoi, nos observations obtenues pour *H. physodes* sur un seul arbre donnent des informations qui peuvent être extrapolées à celles obtenues avec une grille posée sur un arbre où la diversité spécifique et le recouvrement seraient plus importants que dans notre cas.

Figure 17. Relation entre la fréquence et le recouvrement pour le lichen épiphyte *H. physodes* obtenus à partir d'un échantillonnage vertical d'une grille virtuelle 10 × 50 cm (maille de 10 × 10 cm) déplacée sur l'horizontale avec un pas de 1 cm.



II.4 DISCUSSION

La compréhension de l'organisation des communautés lichéniques épiphytes, essentielle en bioindication de la qualité de l'air, est un défi pour le lichénologue dépourvu de méthodes objectives. Pour atteindre cet objectif, il est nécessaire d'utiliser d'autres techniques d'échantillonnage plus pertinentes que les traditionnelles grilles dans l'analyse de la façon dont les espèces s'organisent sur le tronc en fonction de leur environnement physique et biotique. De nombreux travaux (par exemple Yarranton et Green, 1966; Innes, 1984, 1985) ont déjà montré l'intérêt d'utiliser une large gamme de techniques analytiques à différentes échelles d'investigations pour obtenir une image complète des facteurs déterminant l'organisation spatiale des communautés lichéniques saxicoles (John et Dale, 1991). Combiné aux techniques d'acquisition et de traitement d'image, le SIG peut être utilisé par les lichénologues pour examiner la variabilité spatiale à l'intérieur et entre populations lichéniques épiphytes. Il peut être également utilisé comme une méthode d'investigation pour déterminer les causes possibles des imperfections des grilles d'échantillonnages utilisées sur le terrain pour l'estimation de la qualité de l'air. A l'échelle du tronc d'arbre, notre technique permet en effet d'identifier objectivement les aires homogènes sur des critères floristiques recherchées et d'ajuster les techniques d'échantillonnages si besoin est. Une façon d'y parvenir est l'utilisation des concepts de variables régionalisées, ou géostatistiques, pour évaluer si la grille d'échantillonnage utilisée tient compte d'une partie de la variabilité spatiale comprise à l'échelle d'échantillonnage choisie. Par exemple le semivariogramme, outil central de la théorie des variables régionalisées, peut être effectué et interprété pour définir les paramètres (configuration, dimension, position) des grilles d'échantillonnages des lichens pour caractériser leur variabilité géographique. Pour des exemples spécifiques se référant à l'utilisation des géostatistiques pour le diagnostic environnemental voir Smith *et al.* (1991), Demougeot-Renard et de Fouquet (2001), Werner et Just (2001). Pour plus de détails sur la théorie des variables régionalisées et le semivariogramme consulter Legendre et Legendre (1998).

La limite majeure de la technique d'analyse d'image proposée est sa dépendance à des types de végétations lichéniques appropriées. Mais si elle est appliquée sur des communautés lichéniques appropriés, cette technique fournit un outil d'analyse supérieur ou au moins égal aux techniques conventionnelles. Une question principale est d'identifier les descripteurs, mesurables avec ce nouvel outil, les plus pertinents pour la description et l'analyse quantitative des communautés lichéniques. En effet, les réponses aux questions et aux hypothèses testées en bioindication par exemple requièrent la possibilité de mesurer des variables pertinentes par rapport aux éléments observés. Les données de base sont les informations (fréquence, abondance, biomasse ou

recouvrement) concernant les espèces dans une sous-unité écologique. La subjectivité de l'estimation du recouvrement qui peut générer des erreurs importantes cause des problèmes majeurs, tant en lichénologie (Innes, 1985) que dans l'analyse de la végétation (Dietz et Steinlein, 1996). A l'inverse de la fréquence, le recouvrement permet de tenir compte i) de l'énorme variabilité des dimensions des individus d'une même espèce, ii) d'une tache de thalles composés de clones de la même espèce où l'identification de l'individu est difficile voire impossible et iii) de la surface des thalles projetée sur l'écorce, ce qui est non négligeable pour des lichens fruticuleux de plusieurs dizaines de centimètres adhérant au substrat par un seul point d'ancrage. La méthode la plus rapide et certainement la plus répandue en Europe Centrale (Dietz et Steinlein, 1996) est l'estimation du recouvrement par l'échelle abondance-dominance de Braun-Blanquet (1964), utilisée par exemple par Van Haluwyn et Lerond (1993) en bioindication lichénique. Pour l'estimation de la qualité de l'air avec les communautés lichéniques épiphytes, l'analyse de la fréquence s'est néanmoins imposée au recouvrement du fait d'une plus grande facilité d'obtention et de standardisation avec une grille d'échantillonnage.

Or, la recherche de l'homogénéité des aires d'échantillonnage, démarche fondamentale pour la définition écologique des types de végétation lichénique (Nimis, 1991), impose la notion d'échelle d'investigation, celle-ci impliquant par conséquent la détermination de zones correspondantes à des sous-ensembles surfaciques homogènes. La remarquable publication de Wiens (1989) expose les concepts d'étendue et de grain (voir également Legendre et Legendre, 1998) pour la détection de sous-ensembles surfaciques. Pour résumer, l'étendue est définie par cet auteur comme l'aire totale englobée par l'objet d'étude, correspondant au tronc d'un arbre dans notre cas (ou à la surface totale d'une grille), et le grain qui est la taille d'une unité individuelle d'observation, qui correspond à la grille d'échantillonnage (ou respectivement à la surface d'une maille de la grille) pour le lichénologue. L'étendue et le grain définissent les limites supérieures et inférieures de la résolution de l'étude. Ces notions permettent de comparer dans un même modèle conceptuel deux choix difficiles en lichénologie : l'emplacement et la dimension de la grille d'échantillonnage en fonction de la dimension de l'arbre. En effet, lorsque l'échelle de mesure d'une variable change, par exemple la valeur de recouvrement dans des grilles de différentes dimensions, la variance de cette variable change. La façon dont ces changements se produisent dépend de l'amplitude des modifications de l'étendue ou du grain.

- Si l'étendue est maintenue constante, une augmentation du grain (la grille d'échantillonnage) fait généralement diminuer la variance spatiale (Wiens, 1989). Ainsi, lorsque la taille d'une grille d'échantillonnage augmente (= variance intragrain), une plus grande proportion d'hétérogénéité spatiale du tronc est alors contenue dans la grille en parallèle d'une perte de résolution et l'hétérogénéité entre grille (= variance intergrain) diminue. L'auteur détaille de

plus les différents cas de figures où les changements de variance à une échelle donnée dépendent de la magnitude et de la forme de l'hétérogénéité dans l'étendue étudiée.

- Si le grain est maintenu constant, une augmentation de l'étendue ajoute une plus grande hétérogénéité spatiale, puisqu'une plus grande variété d'éléments structurants est incluse dans l'aire étudiée. Dans le contexte de l'application des grilles en bioindication ceci peut être observé dans 2 cas. Premièrement lorsqu'une même grille, de dimension fixe, est utilisée sur des arbres de périmètres différents. Deuxièmement lorsque le nombre de mailles, de dimension fixe, composant une grille varie, ce qui a été opéré lors du passage de la méthode VDI (1995), utilisant une grille de 20×50 cm, à la méthode d'Asta *et al.* (2002), utilisant une grille 10×50 cm, les deux grilles étant composées de mailles de 10×10 cm. De plus, la variance intergrain augmente avec l'élargissement de l'échelle (l'étendue).

Bien qu'ayant indiscutablement pris en compte le souci d'efficacité, de simplicité et de standardisation, les techniques actuelles en bioindication lichénique s'affranchissent des notions d'hétérogénéité pour deux raisons : l'application d'échantillonnages stratifiés aléatoires et le choix de la fréquence comme unique descripteur des communautés lichéniques. En revanche, le recouvrement lichénique permet d'identifier des zones floristiquement homogènes, de tenir compte de la structure (distribution, forme, géotropisme des thalles), et de la fonctionnalité (âge, compétition intra et interspécifique) de la flore lichénique épiphyte.

En conclusion, la nouvelle méthode développée dans ce chapitre, qui est en quelque sorte une informatisation des méthodes de dessins sur une feuille de papier appliquée sur le tronc, offre la possibilité d'analyser les relations entre le changement d'échelle spatiale (et temporelle) et les variations des valeurs prises par les descripteurs de communautés lichéniques, de façon arbitraire ou aléatoire. Bien qu'encore éloignée d'une exploitation à grande échelle sur le terrain, cette approche autorise l'application des concepts d'écologie du paysage (Burel et Baudry, 1999) aux paysages des écorces, ce qui constituerait un nouveau regard sur les relations lichens-environnement.

CHAPITRE III. CHANGEMENTS DES PARAMETRES BIOLOGIQUES ET CHIMIQUES CHEZ *HYPOGYMNIA PHYSODES* ATTRIBUABLES A L'ACTION DE POLLUANTS GAZEUX

III.1 INTRODUCTION

Les lichens sont connus pour être sensibles à un grand nombre de pollutions et sont de bons indicateurs biologiques de la qualité de l'air (Conti et Cecchetti, 2001). Dans des conditions de stress abiotique, les lichens présentent un grand éventail de symptômes, qui peuvent être morphologiques, anatomiques et physiologiques. Des dommages significatifs sur la physiologie des lichens et notamment sur les membranes cellulaires des lichens ont été montrés suite à l'exposition au SO₂ (Pearson et Henriksson, 1981; Fields et St. Clair, 1984; Gries *et al.*, 1995), au fluor, aux oxydes d'azotes, au peroxyacétylnitrate (PAN) et aux éléments chimiques (Garty, 1993, 2001). De plus, des polluants atmosphériques tels que O₃ et NO₂ peuvent induire la peroxydation lipidique des membranes (González et Pignata, 1994; González *et al.*, 1996). Beaucoup d'études ont également porté sur la capacité des lichens à absorber et à accumuler des éléments traces métalliques, généralement présents dans l'atmosphère à de très faibles concentrations, ce qui a permis leur importante utilisation comme biocapteurs environnementaux à l'échelle internationale. En général, trois mécanismes sont avancés en ce qui concerne l'absorption des éléments chimiques dans les lichens : le piégeage de particules contenant des éléments chimiques, l'accumulation extracellulaire et l'absorption intracellulaire par des processus d'échanges (Richardson, 1992). Ces interactions lichen-métal, responsables de l'absorption et de l'accumulation des éléments traces dans les thalles, impliquent sans doute des processus de liaisons au niveau membranaire (Garty, 2001).

Cependant, il n'existe pas de travaux sur l'interaction des effets conjoints des polluants de l'air photo-oxydants et des éléments chimiques sur la physiologie des lichens mais quelques travaux récents sur une Broméliacée annoncent le développement de ce sujet (Pignata *et al.*, 2002).

Dans la vallée de la Moselle, en Lorraine (NE France), les scénarios de pollution sont nombreux du fait d'une hétérogénéité des conditions climatiques au cours de l'année, des reliefs et des activités humaines dans les zones urbaines et industrielles (notamment sidérurgie et métallurgie). Avec la diminution de la pollution atmosphérique primaire acide, d'autres pollutions secondaires et instables sont devenus plus préoccupantes depuis la dernière décennie. Ainsi, les épisodes anticycloniques estivaux favorisent la production de polluants atmosphériques de type photo-oxydants autour des grandes agglomérations urbaines et des infrastructures autoroutières. La vallée de la Moselle constitue donc un site expérimental idéal pour l'étude des phénomènes atmosphériques oxydants sur les lichens.

La transplantation de lichens est une technique largement utilisée pour déterminer les dépôts atmosphériques d'éléments traces (Sloof, 1995) et les réponses physiologiques dans des zones polluées (Boonpragob et Nash, 1991). Une espèce de lichen, *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl.,

à large distribution dans les zones tempérées, a fait l'objet de multiples transplantations (références dans Bennett *et al.*, 1996). Il est sans doute un des lichens les plus intéressants pour les études de bioaccumulation d'éléments traces (Jeran *et al.*, 1996) compte tenu de ses fortes capacités de tolérances (Conti et Cecchetti, 2001). Nous avons utilisé la technique de transplantation avec *H. physodes* pour tester l'hypothèse que les polluants atmosphériques photo-oxydants de la vallée de la Moselle ont un effet sur la physiologie des lichens en relation avec la capacité de bioaccumulation des éléments chimiques, dans 5 sites caractérisés par des scénarios de qualité de l'air différents. Les variables suivantes sont pour la première fois étudiées ensemble chez un lichen :

- (i) les paramètres atmosphériques : NO, NO₂ et O₃,
- (ii) les paramètres biologiques : les caroténoïdes, les chlorophylles *a*, *b* et totales, le rapport de phéophytinisation et le malondialdéhyde et,
- (iii) les paramètres chimiques (As, Cd, Ce, Cr, Cu, Fe, La, Pb, Rb, Sr, Ti et V).

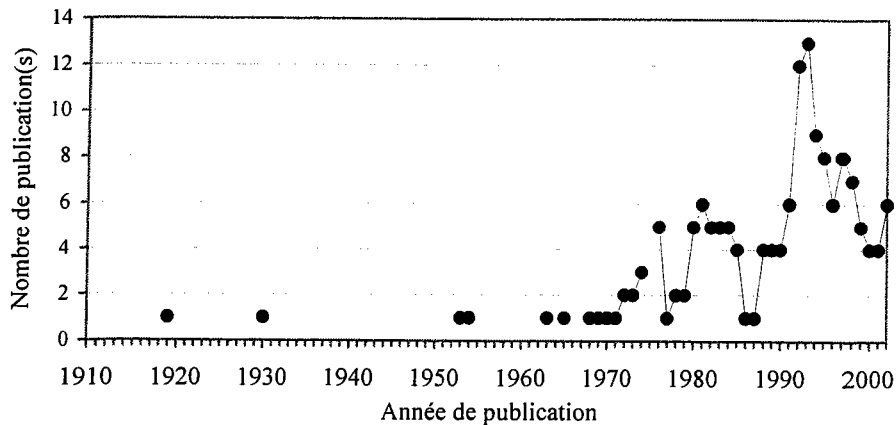
III.2 MATERIEL ET METHODES

III.2.1 Caractéristiques du matériel lichénique

Le lichen *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl., choisi ici comme matériel test, est une espèce bien documentée dans la littérature (Figure 18). L'ouvrage de Barkman (1958) rassemble beaucoup d'informations sur ce lichen. Ce lichen est largement répandu en Europe, en Amérique du Nord, en Afrique de l'Est et en Himalaya (Purvis *et al.*, 1992). C'est un lichen foliacé des zones tempérées, supralittorales à montagnardes (Purvis *et al.*, 1992), acidosubstratique, avec une croissance annuelle de 3-4 mm. *H. physodes* est typique du *Parmelietales physodo-tubulosae* fortement acidophile, strictement nitrophobe, photophytique et ombrophile. Présent en dehors de l'influence des crevasses des écorces, *H. physodes* est souvent séparé des autres lichens par une zone de "no man's land". De plus, ce lichen n'est jamais trouvé sur la face inférieure des troncs inclinés. Barkman (1958) établit que ce lichen croît plus vite dans des situations ensoleillées qu'à l'ombre. Il est donc capable de résister à de longues périodes de faible humidité (Pilegaard, 1979). Selon certains auteurs cités par Barkman (1958), la capacité en eau et la capacité de vapeur d'eau déterminés chez *H. physodes* sont respectivement de 260 - 303 % et de 48 - 53 %, ce qui permet de qualifier cette espèce comme étant un aérohygrophile. Même dans des conditions d'air sec (100 °C), ce lichen contient encore 4% d'eau. Selon Barkman (1958), les expériences montrent que, alors que certains lichens sont favorisés par l'ammoniac, d'autres comme *H. physodes* (espèce nitrophobe), sont tués par des traces de ce composé. Selon

le même auteur, l'échelle de pH de ce lichen acidophile va de 2,9 à 4,7 avec un optimum entre 4,0 et 4,4.

Figure 18. Evolution du nombre de nouvelles publications concernant le lichen *Hypogymnia physodes* d'après Culberson (2002) et complété par des recherches personnelles.



Ce lichen est semi-tolérant au SO_2 (Johnsen et Søchting, 1973), c'est-à-dire qu'il disparaît lorsque la concentration moyenne en SO_2 dépasse $100 \mu\text{g.m}^{-3}$ (Purvis *et al.*, 1992). Les modifications morphologiques et physiologiques d'individus fortement stressés sont :

- une forme de croissance compacte, circulaire et naine;
- une hyperproduction de sorédies (propagules de reproduction constituées de cellules algales et d'hyphes fongiques);
- une réduction des capacités photosynthétiques, et;
- une différence de couleur entre ces individus et les individus sains, due par exemple à une exposition au soleil. Les lichens vivant dans des microhabitats ombragés sont souvent plus verdâtres (c'est-à-dire que la couche algale est plus proche de la surface).

Cette espèce est sélectionnée dans la méthode standardisée d'exposition de lichens transplantés (VDI, 1991). Cette méthode a, pour rappel, été développée pour compléter la cartographie des lichens là où ils ne peuvent plus se développer naturellement (VDI, 1995) car dans certaines zones cette espèce a disparu du fait d'une trop forte pollution ou d'une absence de substrats adéquats.

D'après Conti et Cecchetti (2001), *H. physodes* est l'un des bioindicateurs les mieux adaptés dans les études de bioaccumulation d'éléments traces (Jeran *et al.*, 1996) au vu de ses capacités de fortes tolérances. De nombreuses études ont porté sur ce sujet (Herzig *et al.*, 1989; Bylinska *et al.*, 1991; Skácel et Pekárek, 1992; Bruteig, 1993; Halonen *et al.*, 1993; Egger *et al.*, 1994; Bennett, 1995; Søchting, 1995; Bennett *et al.*, 1996; Bennett et Wetmore, 1997; Garty *et al.*,

1996, 1997; Mikhailova et Vorobeichik, 1999; Mikhailova et Scheidegger, 2001; Jeran *et al.*, 2002).

III.2.2 Récolte du matériel lichénique, transplantation et pré-traitement

III.2.2.1 Récolte et transport des transplants

En août 2001, le lichen *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl., abondant dans la vallée de la Moselle mais absent des sites de transplantation, a été récolté dans un site considéré comme non pollué (cf. Mont Saint-Quentin, paragraphe III.2.3.1) à proximité de la ville de Metz (Lorraine, France). *H. physodes*, appartenant aux *Parmeliaceae* (Ascomycotina lichenisé), a un thalle foliacé de plus de 10 cm de diamètre et est faiblement attaché à son substrat. Cette espèce est corticole sur tout type d'arbre, notamment en abondance sur des écorces acidifiées, mais elle peut être également terricole ou saxicole (Diederich et Sérusiaux, 2000).

Des échantillons d'*H. physodes* se développant sur *Crataegus monogyna* (Aubépine monogyne), famille: Rosaceae, ont été récoltés en coupant des petites branches d'environ 10 cm de longueur entre 1 et 2 m de hauteur. Pour minimiser les variations liées au substrat, tous les échantillons proviennent de 4 arbustes voisins. Les lichens ont été sélectionnés sur la base de leur homogénéité d'apparence. Ils ont été immédiatement placés dans des sacs plastiques transparents, puis enfermés dans des boîtes cartonnées étanches à la lumière. Ces boîtes enfin ont été placées dans de grands sacs plastiques noirs soigneusement fermés pour éviter des contaminations pendant le transport. Toutes les précautions ont été prises pour éviter la contamination des transplants lors de chacune des étapes : non-utilisation d'outils métalliques et lavage des mains à l'eau distillée.

Une partie du matériel récolté a subi les mêmes analyses chimiques et biologiques que celles effectuées sur le matériel transplanté, afin d'évaluer un niveau de base lors du prélèvement des échantillons (Temps 0).

III.2.2.2 Dispositifs expérimentaux

Les lichens récoltés ont alors été transportés vers cinq sites de transplantation, dont le site témoin, et installés sur deux types de dispositifs : le premier type est dit découvert (Figure 19), le second est dit couvert (Figure 20).

Figure 19. Schéma d'un dispositif découvert

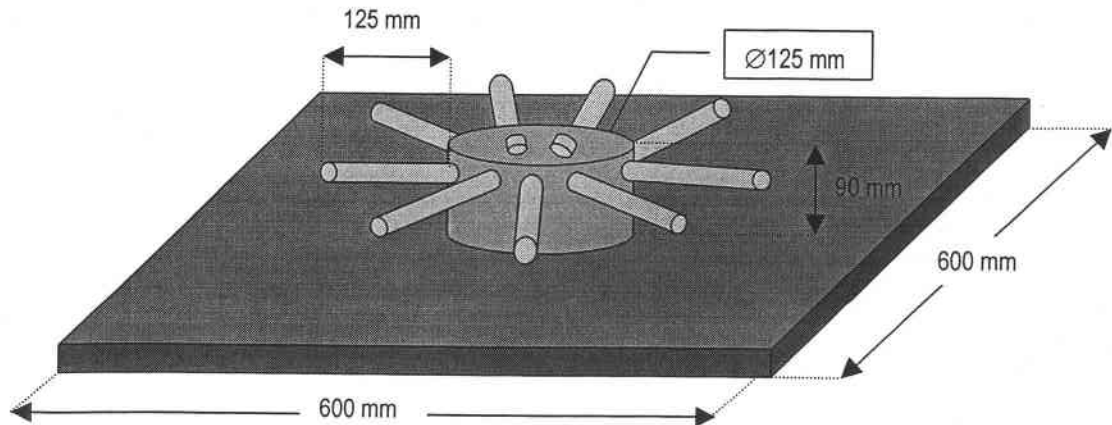
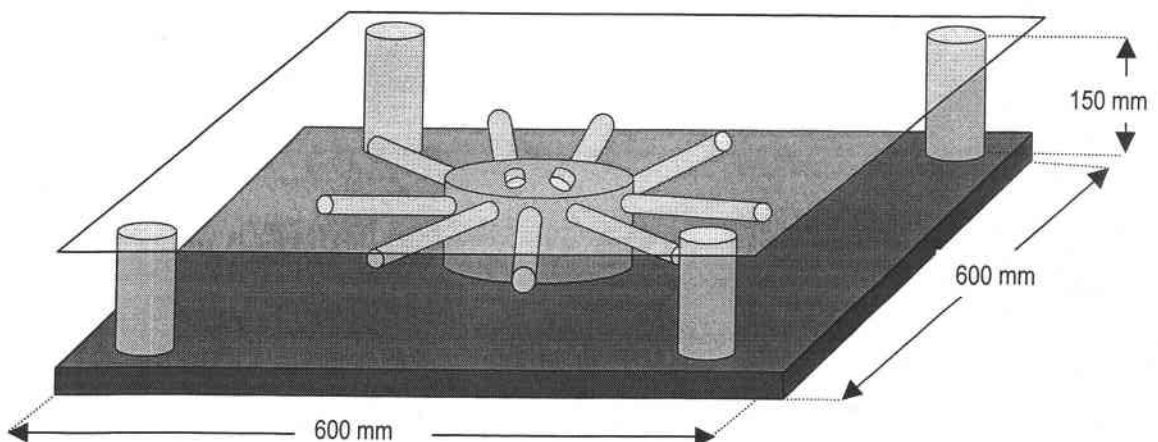


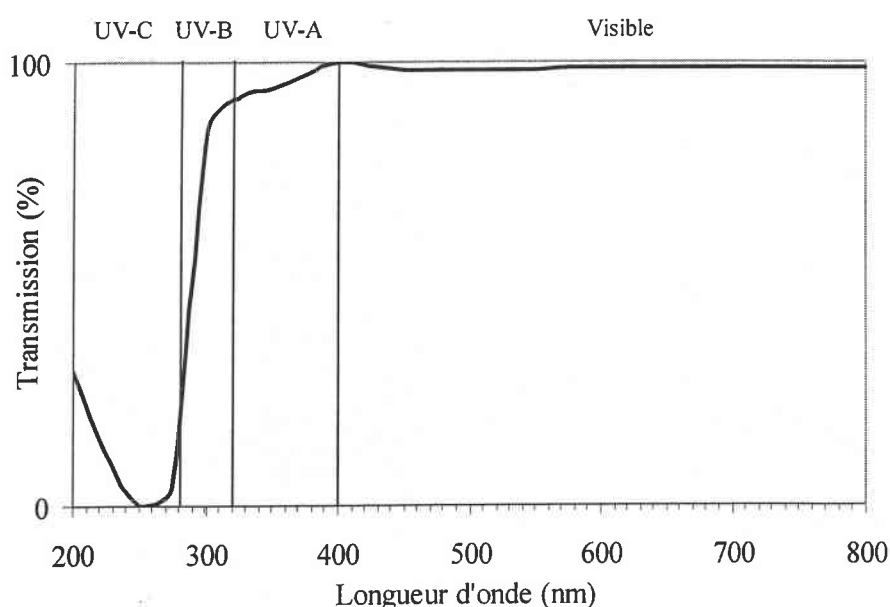
Figure 20. Schéma d'un dispositif couvert



Le dispositif découvert est constitué d'une tablette mélaminée en bois de dimensions 600 x 600 x 18 mm recouverte de gazon artificiel en polyéthylène (FinTurf, Leroy-Merlin). Des observations préalables *in situ* ont montré que ce gazon permet de casser les gouttes de pluies et évite ainsi la projection d'éléments déposés sur la tablette. Au centre de cet ensemble, est fixé un tube en PVC (tube IRO tulipe diamètre 125 mm, Bauhaus) de 90 mm de longueur. La partie sommitale de ce tube est percée de 9 trous équidistants et de 16 mm de diamètre chacun. Neuf tubes en PVC (tube IRO tulipe diamètre 16 mm, Bauhaus) de 150 mm de longueur sont placés dans chacun des trous. Toutes les fixations des éléments de ce dispositif sont assurées par des attache-câbles en nylon (4,6 x 100 mm, Bauhaus). Les lichens sont fixés sur ces 9 tubes au moyen également d'attache-câbles dont l'emprise se fait sur la branche, évitant ainsi tout contact avec le lichen. Ce mode de fixation des lichens aux dispositifs, contrairement à l'emploi de colle

et de "moss-bag", offrent une grande souplesse de manipulation lors de leur mise en place et de leur collecte après exposition. Le dispositif couvert dérive du dispositif découvert puisqu'une plaque transparente en Plexiglas® lisse de dimensions 600 x 600 x 2,5 mm vient recouvrir l'ensemble. Les propriétés physiques du matériau de cette plaque lui confèrent une excellente résistance face aux intempéries. Cette plaque, maintenue à 150 mm de la tablette, protège donc les lichens des précipitations sans gêner la circulation de l'air et évite un éventuel effet microclimatique de la plaque (effet plaque). Des mesures de températures effectuées au niveau des deux types de dispositifs dans différentes conditions météorologiques, ne montrent pas de phénomènes thermiques sous les plaques. La transmittance des plaques dans l'ultraviolet (UV) et le visible (Figure 21) a été analysée par spectrophotométrie.

Figure 21. Spectre de transmittance des plaques de Plexiglas® équipant les dispositifs couverts



III.2.2.3 Exposition des transplants

Les lichens récoltés ont été tirés au hasard puis installés le jour de leur récolte, c'est-à-dire le 02 août 2001, sur 6 dispositifs (3 couverts et 3 découverts) dans chacun des cinq sites. Une partie des lichens transplantés a été récupérée dans l'ensemble des stations à la fin de chaque période d'exposition, soit le 16 août, le 5 septembre et le 9 octobre 2001. Au niveau de chaque dispositif, un lot (= replicat) de 3 branches possédant plusieurs thalles était tiré au hasard. Sur chaque site, trois dispositifs d'un même type constituaient donc un triplicat. Tous les lots qui correspondaient à la biomasse nécessaire pour l'ensemble des analyses, ont été conservés à -20 °C jusqu'à la phase de préparation.

III.2.2.4 Préparation des lichens

De l'eau distillée nanopure a été pulvérisée sur les lichens collectés pour retirer leur substrat et d'autres espèces de lichens ainsi que pour éliminer les débris de feuilles, les poussières ou les insectes. Les thalles d'un même lot ont été immergés dans 25 ml d'eau distillée nanopure pendant 5 minutes (Egger *et al.*, 1994) pour éliminer les particules trouvées à la surface du thalle et conserver uniquement les éléments chimiques accumulés dans le thalle. Après que l'excédent d'eau ait été retiré, les thalles destinés à l'analyse des éléments chimiques ont été placés dans une étuve à 105°C (Gombert et Asta, 1998; Garty *et al.*, 2001, 2002) pendant 1 heure. Les thalles destinés à l'analyse des paramètres biologiques ont été séchés dans une étuve à 40°C. Tous les échantillons, conservés à l'abri de la lumière dans des flacons plastiques hermétiques de 50 ml à -20°C, ont été broyés dans l'azote liquide avec un pilon et un mortier avant les analyses. Pour le dosage des pigments chlorophylliens, les thalles ont été conservés entiers.

III.2.3 Description des sites et caractéristiques de la qualité de l'air

Les cinq sites de transplantation (Figure 22), incluant le Mont Saint-Quentin comme témoin, sont : Scy-Chazelles, Moyeuve-Grande, Florange et Thionville-Autoroute. Sur le site du Mont Saint-Quentin, les dispositifs ont été placés sur des pieds (tube IRO tulipe diamètre 110 mm) de 700 mm de hauteur, à proximité des arbustes d'où les lichens ont été prélevés. Sur les quatre autres sites, les dispositifs ont été placés à 3 m de hauteur, sur le toit des stations de mesures du réseau de surveillance de la qualité de l'air d'AERFOM, où les concentrations de polluants atmosphériques gazeux ont été continuellement déterminées pendant la période d'exposition. Chaque station du réseau AERFOM est caractérisée par une typologie de scénarios de pollutions comme décrite en Annexe 3. Les données climatiques recueillies à la station météorologique de Metz-Frescaty (Figure 22) sont indiquées dans le Tableau 3.

Figure 22. Localisation et typologie des cinq sites de transplantation dans la vallée de la Moselle. Echelle 1 cm = 3,2 km. Polygone gris foncé : forêt, polygone gris clair : zone urbaine, trait double : autoroute, trait simple gris foncé : route principale, trait simple gris clair : route secondaire (Mappy, 2001).

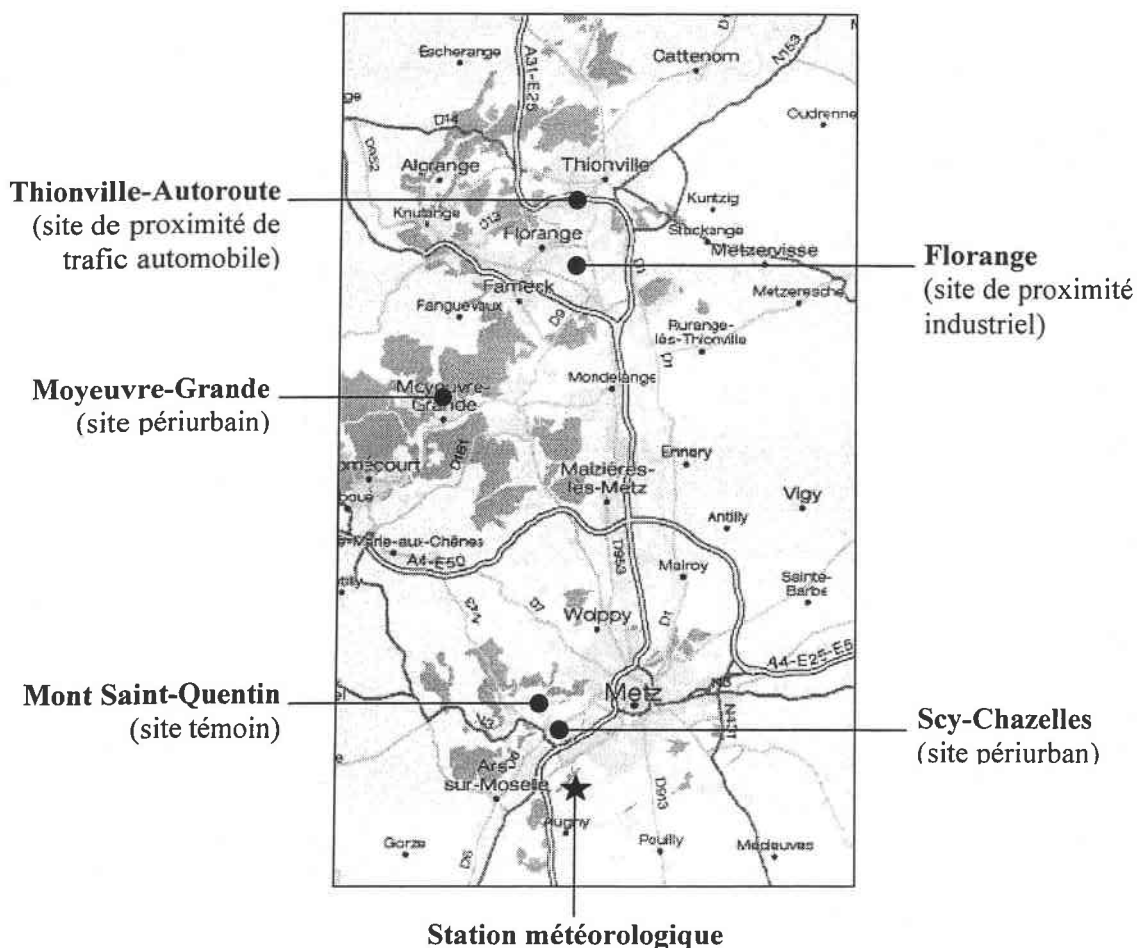


Tableau 3. Données météorologiques de la station METEO-FRANCE de Metz-Frescaty au cours des 3 mois de la période d'étude et du mois qui la précède (source : <http://www.ilclima.com/>).

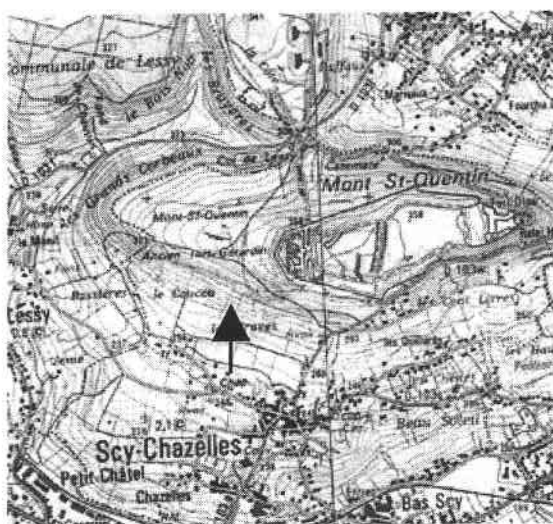
	Température (°C)					Humidité relative (%)	Précipitation (mm)			Vitesse du vent (km/h)	
	Moyenne minimale	Moyenne maximale	Moyenne	La plus basse	La plus haute	Moyenne	Totale	Maximum sur 24h	Nombre de jours de pluie	Moyenne	Vitesse maximale (hors rafale)
Juillet	14,6	26,3	20,3	9,2	31,6	67	60,1	19,1	10	11,3	42,4
Août	14,2	26,0	19,7	8,4	33,5	73	57,4	15,0	10	9,3	35,2
Septembre	9,3	16,8	12,9	4,5	23,2	84	91,9	17,8	20	11,6	31,3
Octobre	9,6	18,8	13,6	5,8	26,4	89	45,8	17,8	19	8,5	31,3

III.2.3.1 Site témoin du Mont Saint-Quentin

Moselle, Scy-Chazelles (57160), Les Varennes, 49°07'11" N, 6°06'42" E.

Ce site de prélèvements (Figure 23) a été choisi en prenant en compte l'abondance des populations d'*H. physodes*, l'échelle altitudinale et géographique proche de celle des zones de transplantation, l'éloignement des sources de pollution atmosphérique connues ou potentielles (axes routiers, industries, zones urbaines), la bonne qualité de l'air sur les bases d'observations de lichens poléo-sensibles, la possibilité de mise en place des dispositifs expérimentaux à proximité immédiate du site de prélèvement, l'autorisation d'accès par les propriétaires des terrains, l'accès en voiture pour permettre l'acheminement du matériel expérimental et leur suivi régulier, la discrétion du site pour écarter le risque d'actes de vandalisme sur le matériel en place et enfin la proximité d'une cabine de mesure du réseau AERFOM.

Figure 23. Le site du Mont Saint-Quentin. La pointe de la flèche, orientée au Nord, indique la position des transplants et des prélèvements. Fond cartographique : Scan 25 IGN©



Ce site est localisé dans une parcelle en friche arbustive, exposée au Sud et de pente de 30° et essentiellement composée des arbustes^a suivants : *Acer pseudoplatanus* (= Erable sycomore), *Cornus sanguinea* (= Cornouiller sanguin), *Crataegus monogyna* (= Aubépine monogyne), *Lonicera xylosteum* (= Chèvrefeuille à balais), *Ligustrum vulgare* (= Troène vulgaire), *Prunus avium* (= Merisier), *Prunus mahaleb* (= Cerisier de Sainte-Lucie), *Prunus spinosa* (= Prunellier),

^a Les nomenclatures utilisées sont celles de Rameau *et al.* (1989) et de Diederich et Sérusiaux (2000) respectivement pour les phanérogames et les lichens

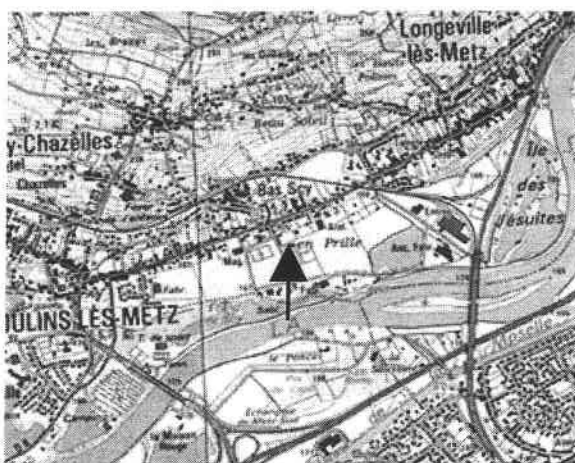
Viburnum lantana (= Viorne lantane). Les lichens suivants, appartenant à l'ordre *Parmelietales* *physodo-tubulosae*, ont été identifiés sur le site : *Evernia prunastri*, *Hypogymnia physodes*, *Hypogymnia tubulosa*, *Melaniella glabratula*, *Parmelia saxatilis*, *Parmelia sulcata*, *Usnea* sp., *Pseudevernia furfuracea* et *Xanthoria parietina*.

III.2.3.2 Site périurbain de Scy-Chazelles

Moselle, Scy-Chazelles (57160), Stade Municipal, 49°06'12" N, 6°09'30" E.

Le site de Scy-Chazelles (Figure 24), qui mesure NO, NO₂ et O₃, constitue une des 4 stations du réseau AERFOM qui sert au calcul de l'indice Atmo^a sur l'agglomération messine. Son rôle est de mesurer la pollution en périphérie de l'agglomération de Metz.

Figure 24. Le site de Scy-Chazelles. La pointe de la flèche, orientée au Nord, indique la position des transplants. Fond cartographique : Scan 25 IGN©



III.2.3.3 Site périurbain de Moyeuvre-Grande

Moselle, Moyeuvre-Grande (57250), rue du Bois, 49°15'35" N, 6°03'06" E.

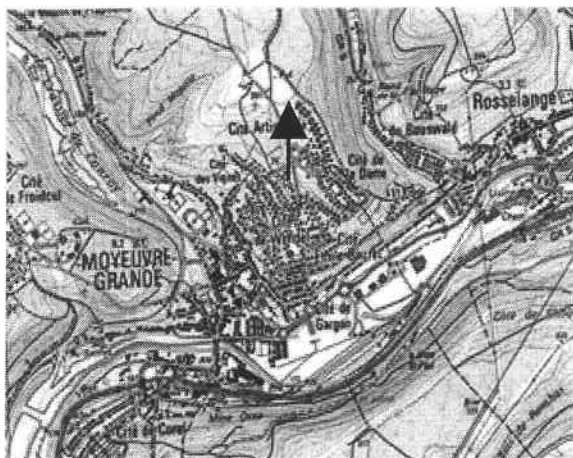
Ce site, localisé sur les hauteurs de la ville de Moyeuvre-Grande (Figure 25) et mesurant CO, NO, NO₂, O₃, PS^b, P. Séd.^c et SO₂, permet la surveillance de la pollution de la vallée industrielle de l'Orne.

^a L'indice ATMO est un indicateur journalier de la qualité de l'air. Il est calculé chaque jour pour les agglomérations de plus de 100 000 habitants, qui constituent des zones dites "de pollution homogène". Plus d'informations sont disponibles sur internet: <http://www.ademe.fr/jda/indatmo.htm>

^b Particules en suspension

^c Poussières sédimentables

Figure 25. Le site de Moyeuvre-Grande. La pointe de la flèche, orientée au Nord, indique la position des transplants.
Fond cartographique : Scan 25 IGN©



III.2.3.4 Site de proximité industrielle de Florange

Moselle, Florange (57190), route d'Uckange, 49°19'11" N, 6°08'27" E.

Ce site est équipé de capteurs de mesures météorologiques. Localisé sur une zone industrielle (Figure 26), ce site qui mesure NO, NO₂, O₃, PS, P. Séd et SO₂, a pour mission la surveillance de la pollution due à l'ensemble des émissions de la vallée de la Fensch, et sous certaines conditions de l'agglomération thionilloise.

Figure 26. Le site de Florange. La pointe de la flèche, orientée au Nord, indique la position des transplants. Fond cartographique : Scan 25 IGN©



III.2.3.5 Site de proximité de trafic automobile de Thionville-Autoroute

Moselle, Thionville (57100), Centre de Recherches du Fer blanc, Quartier Beauregard, 49°19'21" N, 6°10'20" E.

Ce site est situé à proximité immédiate de l'autoroute A31 (Figure 27). Son rôle est d'étudier l'impact de la circulation automobile sur les niveaux de concentration des différents polluants mesurés : NO, NO₂, O₃, PS, P. Séd. et SO₂.

Figure 27. Le site de Thionville-Autoroute. La pointe de la flèche, orientée au Nord, indique la position des transplants. Fond cartographique : Scan 25 IGN©



III.2.4 Mesures de polluants gazeux

Toutes les mesures de polluants gazeux figurant dans ce travail ont été fournies en donnée quart-horaire (nombre entier) par le réseau de surveillance de la qualité de l'air AERFOM (Annexe 4, Annexe 5).

Les problèmes d'interprétation, liés aux importantes variations de concentrations des polluants au cours du temps, ont nécessité l'emploi de paramètres statistiques simples, en particulier les paramètres de position d'une série d'observations. La réglementation européenne et nationale ainsi que les valeurs guides de l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) font référence pour l'établissement des objectifs de qualité ou des valeurs limites, aux notions de percentile et de moyenne. Nous avons donc calculé les paramètres suivants :

- la moyenne, fortement affectée par les valeurs extrêmes ;
- le p50, ou médiane, partage la série des observations en deux ensembles d'effectifs égaux, est peu affecté par les valeurs extrêmes et par conséquent peut être différente de la moyenne (Legendre et Legendre, 1998);
- le p75, ou quartile 75, c'est-à-dire la concentration dépassée par 25% des données mesurées;
- le p90, c'est-à-dire la concentration dépassée par 10% des données mesurées;
- le p98, c'est-à-dire la concentration dépassée par 2% des données mesurées, reflète les valeurs extrêmes atteintes lors des pics.

Compte tenu du caractère entier des nombres dont nous disposons, les résultats impliquant des calculs de percentiles seront exprimés en nombre entier et ceux des moyennes, avec une décimale.

Afin d'intégrer l'ensemble des variations de concentrations de polluants gazeux sur la totalité de l'exposition des lichens, les moyennes et les percentiles ont été calculés pour chaque période d'exposition, c'est-à-dire de 0 à 14 jours, de 0 à 34 jours et de 0 à 68 jours. Ce sont des valeurs cumulées qui seront utilisées dans tout le texte.

III.2.5 Mesures de l'intégrité et des concentrations chlorophylliennes des chloroplastes du photobionte

Le matériel lichénique, conservé à -20°C à l'état déshydraté, a été analysé pour mesurer l'intégrité des chloroplastes du photobionte et leurs teneurs en chlorophylles (Chl) dans le lichen, en utilisant un solvant qui libère les pigments par rupture des membranes des chloroplastes : le diméthylsulfoxyde (DMSO). Cette technique, très efficace, ne requérant ni broyage ni centrifugation ultérieure, a été largement utilisée dans la littérature (Egger *et al.*, 1994; Calatayud *et al.*, 1996; Niewiadomska *et al.* 1998; Riga-Karandinos et Karandinos, 1998; Kong *et al.*, 1999; Zambrano et Nash, 2000; Boonpragob, 2002; Garty *et al.*, 2002; Pfeifhofer *et al.*, 2002).

Comme expliqué par Boonpragob (2002), la chlorophylle *a* montre dans le DMSO un maximum d'absorption dans un pic rouge à 665 nm et dans un pic bleu à 435 nm. Lors de la dégradation de la chlorophylle en phéophytine, l'absorption à 665 nm est réduite et le pic à 435 nm est déplacé à 415 nm (Ronen et Galun, 1984). Un spectrophotomètre UVIKON 930 est utilisé pour mesurer la densité optique (DO) de la solution aux longueurs d'ondes de 665 et 648 nm. La concentration en chlorophylle *a* et *b* peut être calculée à partir des coefficients d'extinction en utilisant l'équation d'Arnon (citée dans Boonpragob, 2002), équation qui avait été adaptée aux lichens par Ronen et Galun (1984).

L'extraction des chlorophylles, des phéophytines et la détermination des concentrations en pigments ont été réalisées d'après Barnes *et al.* (1992).

- 1) Environ 20 mg de thalles déshydratés ont été rincés 6 fois avec 3 ml d'acétone (Fisher Chemicals, for analysis) à 4°C saturé en CaCO₃ pour retirer les acides lichéniques. Le résidu d'acétone contenu dans le thalle est évaporé à l'obscurité.
- 2) Les thalles secs ont été ensuite immergés dans 5 ml de DMSO (Fisher Chemicals, for analysis) saturé en CaCO₃.
- 3) L'incubation est faite à température ambiante (25°C) pendant 30 minutes à l'obscurité pour permettre l'extraction des chlorophylles et de la phéophytine.
- 4) Les extraits ont été dilués à 1:1 dans du DMSO.
- 5) Un aliquot de l'extrait est prélevé et la densité optique de la solution est mesurée, contre un blanc de DMSO, à 665 et 648 nm, et la valeur de l'absorption non spécifique à 700 nm a été soustraite de celles-ci.
- 6) De même, la densité optique est également mesurée à 460 nm pour les caroténoïdes et à 435 et 415 nm pour l'estimation de la dégradation chlorophyllienne en phéophytine.

Le calcul des concentrations de chlorophylles, comme décrite par Barnes *et al.* (1992), utilise les équations suivantes :

$$\text{Chl totales (mg/l)} = 20,34 \text{ DO}_{648} + 7,49 \text{ DO}_{665}$$

$$\text{Chl } a \text{ (mg/l)} = 14,85 \text{ DO}_{665} - 5,14 \text{ DO}_{648}$$

$$\text{Chl } b \text{ (mg/l)} = 25,48 \text{ DO}_{648} - 7,36 \text{ DO}_{665}$$

Les résultats ont été exprimés en $\mu\text{g.g}^{-1}$ de matière sèche (mat.s.).

III.2.6 Evaluation de la lipoperoxydation membranaire

La lipoperoxydation est fréquemment évaluée et quantifiée par la mesure de produits de la réaction tel que le malondialdéhyde (MDA). La quantification du MDA par l'acide thiobarbiturique (TBA) est l'un des essais les plus communs dans les études de la lipoperoxydation. Le dosage du MDA dans les lichens s'est développé depuis une dizaine d'année (Egger *et al.*, 1994; Schlee *et al.*, 1995; Gonzáles *et al.*, 1996; Cañas *et al.*, 1997; González et Pignata, 2000; Carreras et Pignata, 2001). Le test TBA a l'avantage d'être simple et rapide. Son principe est basé sur la formation d'un complexe chromogène entre le MDA et le TBA, à pH acide (2 à 3) et à chaud; le complexe formé est détectable par spectrophotométrie à 535 nm (Buege et Aust, 1978). L'augmentation des taux de MDA traduit un impact toxique consécutif à la peroxydation des lipides membranaires.

1. 100 mg de poudre déshydratée d'*H. physodes* ont été homogénéisés dans 2 ml d'une solution d'acide thichloracétique 10% (v/v) afin de précipiter les protéines.
2. L'homogénat a été centrifugé à 1500 g pendant 5 minutes à 4°C.
3. Des aliquots du surnageant (510 μl , non dilué et dilué au 1/2 dans H_2SO_4 1%) ont été mélangé à 510 μl de TBA 1 % (dans NaOH 0,1 N).
4. L'incubation est faite pendant 20 minutes à 80°C dans un bain-marie.
5. Après refroidissement sur glace, la densité optique a été lue à 535 nm contre un blanc (510 μl H_2SO_4 1 % + 510 μl TBA 1 %).

Les concentrations de MDA ont été déterminées en comparant l'absorption sur une courbe étalon^a obtenue avec une solution mère de MDA 50 µM préparée dans H₂SO₄ 1 %. L'effet de la matrice biologique, négligeable dans notre cas, a été vérifié ($n=3$) par l'ajout dosé de MDA dans un aliquot donné. Cette vérification nous a conduit à comparer les 3 mélanges réactionnels (A), (B) et (C) suivants :

(A) : 225 µl aliquot + 225 µl MDA 0,46 µM + 510 µl TBA 1 %

(B) : 225 µl aliquot + 225 µl H₂SO₄ 1 % + 510 µl TBA 1 %

(C) : 510 µl MDA 0,23 µM + 510 µl TBA 1 %

L'effet matrice est négligeable si :

$$DO_{535(A)} - DO_{535(B)} = DO_{535(C)} \text{ (à 10 \% près)}$$

Les résultats ont été exprimés en µmol.g⁻¹ de matière sèche (mat.s.).

Notons que pour être tout à fait exact, nous devrions employer à la place de MDA, la désignation de substances réagissant avec l'acide thiobarbiturique (en anglais : Thiobarbituric Acid Reactive Substances ou TBARS), qui est préférentiellement réservée aux résultats obtenus par mesure directe en spectrophotométrie sans séparation préalable des produits par Chromatographie Liquide Haute Performance. Le lecteur pourra se référer à la synthèse de Lefèvre *et al.* (1998) sur l'évaluation de la peroxydation lipidique par le dosage des substances réagissant avec l'acide thiobarbiturique.

III.2.7 Détermination des éléments chimiques dans les thalles

L'analyse multi-élémentaire des éléments chimiques contenus dans les lichens portait sur une liste primaire de 26 éléments mesurés suivant la méthode développée par Ayrault *et al.* (2001) : antimoine (Sb), arsenic (As), baryum (Ba), cadmium (Cd), calcium (Ca), cérium (Ce), césium (Cs), chrome (Cr), cobalt (Co), cuivre (Cu), europium (Eu), fer (Fe), lanthane (La), nickel (Ni), mercure (Hg), plomb (Pb), rubidium (Rb), samarium (Sm), scandium (Sc), strontium (Sr), thorium (Th), titane (Ti), uranium (U), vanadium (V), yttrium (Y) et zinc (Zn). La Spectrométrie de Masse à Source Plasma à Couplage Inductif (en anglais ICP-MS pour Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometer) a été sélectionnée, car cette technique donne accès à la majorité des éléments de la liste. Par conséquent, des éléments importants au niveau biologique comme le

^a MDA (µM) = (DO₅₃₅ - 0,0176)/0,7258, $r^2 = 0,9998$

potassium (K), le calcium (Ca) et le magnésium (Mg) ont été écartés, d'autres comme les terres rares et les marqueurs de la contamination des échantillons par des poussières du sol ont été ajoutés car accessibles par ICP-MS. Le matériel de référence utilisé pour vérifier nos résultats était l'IAEA-336 (lichen *Evernia prunastri*) fourni par l'International Atomic Energy Agency (Heller-Zeisler *et al.*, 1999). Une comparaison entre les valeurs moyennes mesurées de 14 réplicats de ce lichen de référence et l'intervalle de confiance (IC) des valeurs de référence éditées par l'IAEA, nous a permis de regrouper les éléments chimiques en 3 catégories :

1. Huit éléments sont dits "validés" puisque les valeurs mesurées du lichen de référence appartiennent à l'IC 95% de l'IAEA : As, Cd, Fe, La, Pb, Rb, Sb et V.
2. Sept éléments sont dits "considérés" puisque les valeurs mesurées du lichen de référence n'appartiennent pas à l'IC 95% de l'IAEA : Ce, Co, Cr, Cu, Sr, Ti et Zn.
3. Onze éléments sont dits "non validés" puisque les valeurs mesurées du lichen de référence n'appartiennent pas à l'IC de l'IAEA et sont souvent inférieures à la limite de détection : Ba, Ca, Cs, Eu, Hg, Ni, Sc, Sm, Th, U et Y.

L'absence d'un nombre suffisant de réplicats pour Co, Sb et Zn nous a conduit à ne pas tenir compte de ces éléments. Dans la suite de ce travail, les éléments validés et considérés, c'est-à-dire As, Cd, Ce, Cr, Cu, Fe, La, Pb, Rb, Sr, Ti, V, seront donc traités ensemble sous le terme d'éléments chimiques. Nous n'emploierons cependant pas le terme générique de métaux qui n'engloberait pas la liste des éléments ci-dessus. Plusieurs définitions de métaux lourds existent toutefois dans la littérature, la plupart basées sur certaines densités, par ex. densité $> 4,5 \text{ g.cm}^{-3}$ (Lesaca, 1977), ou le caractère métallique (Friberg *et al.*, 1979) des éléments ou sur un compromis entre les deux caractéristiques (Reimann et de Caritat, 1998). Le lecteur intéressé trouvera des informations sur les propriétés physico-chimiques de tous les éléments en consultant les références suivantes Reimann et de Caritat (1998) et Winter (2002). Les résultats ont été exprimés en $\mu\text{g.g}^{-1}$ de matière sèche (mat.s.).

III.2.8 Analyses statistiques des données

Les données de cette étude sont complexes. Il existe trois variables indépendantes : dispositif (2 modalités), site (5 modalités) et temps (4 modalités). Pour chacune d'elles, il y a 18 variables dépendantes, qui sont les concentrations thallines des 12 éléments chimiques (As, Cd, Ce, Cr, Cu, Fe, La, Pb, Rb, Sr, Ti, V) et les 6 paramètres relatifs à la physiologie des lichens (Caroténoïdes, Chl *a*, Chl *b*, Chl totales, $\text{DO}_{435}/\text{DO}_{415}$, MDA). De plus, trois réplicats ont été récupérés sur chaque type de dispositif, après chaque période d'exposition et sur chaque site, soit 93 échantillons (3 réplicats $\times$ 2 dispositifs $\times$ 3 temps $\times$ 5 sites de transplantation + 3 réplicats sur

le site au temps $t=0$) par variables dépendantes. Ceci représente en théorie un total de 1674 données. Cependant le total réel était de 1638 suite à la perte de l'échantillon destiné aux dosages des éléments chimiques dans les lichens du dispositif découvert après 15 jours d'exposition sur le site de Scy-Chazelles.

Toutes les standardisations, les groupements hiérarchiques agglomératifs, les analyses de variance univariées (ANOVA) et multivariées (MANOVA) et leurs tests *post-hoc*, qui permettent de déterminer la significativité des différences des moyennes pour chaque variable indépendante (ou facteur), ont été réalisées avec Statistica de Statsoft, Inc. (1997). Le test *post-hoc* Honest Significant Difference (HSD) de Tukey (ou encore T-method; Annexe 6) a été choisi d'après les recommandations de Sokal et Rohlf (1995) sur les tests de comparaisons multiples en analyse de variance. Les Analyses en Composantes Principales (ACP) ont été réalisées avec Canoco 4 for Windows (Ter Braak et Smilauer, 1998). La valeur standardisée (z_{ij}) d'un facteur (j) pour la modalité (i) a été calculée par centrage (soustraction de la moyenne $\bar{y}$) et réduction

(division par l'écart-type s) suivant l'équation suivante : $z_{ij} = \frac{y_{ij} - \bar{y}_j}{s_j}$.

III.3 RESULTATS

III.3.1 Polluants gazeux

La moyenne, les percentiles (p) 50, 75, 90 et 98, les valeurs minimales et les valeurs maximales calculés pour chaque polluant et pour chaque période d'exposition (de 0 à 14j, de 0 à 34j et de 0 à 68j), figurent dans le Tableau 4. L'absence d'analyseurs de PS et SO₂ à la station de Scy-Chazelles nous a conduit à ne pas tenir compte de ces polluants acido-particulaires dans ce travail. Nous avons donc cherché à mettre en relation les variations des concentrations en éléments chimiques observées chez *Hypogymnia physodes* avec des indicateurs atmosphériques de pollution photo-oxydante NO, NO₂ et O₃. Une comparaison graphique des valeurs atteintes par ces 3 polluants est donnée dans la Figure 28.

Les concentrations de NO ont été, pour les valeurs moyennes et les différents percentiles, nettement plus élevées à Thionville-Autoroute que pour les sites de Scy-Chazelles et de Florange, eux-mêmes particulièrement supérieurs au site de Moyeuivre-Grande. Par exemple le p98 (et la moyenne) a augmenté au cours de la période de mesure de 125 à 241 $\mu\text{g.m}^{-3}$ (respectivement de 17,5 à 36,4 $\mu\text{g.m}^{-3}$) à Thionville-Autoroute, de seulement 15 à 39 $\mu\text{g.m}^{-3}$ (respectivement de 2,1 à 4,9 $\mu\text{g.m}^{-3}$) à Scy-Chazelles, et a baissé de 7 à 4 $\mu\text{g.m}^{-3}$ (respectivement de 0,6 à 0,3 $\mu\text{g.m}^{-3}$) à Moyeuivre-Grande. Sur le site de Florange, les concentrations de NO, du même ordre de grandeur que sur le site de Scy-Chazelles, ont connu une augmentation puis une diminution passant par une valeur maximale (p98 = 34 $\mu\text{g.m}^{-3}$, moy = 3,5 $\mu\text{g.m}^{-3}$).

De la même façon que pour le NO, il existe une importante différence des profils des concentrations de NO₂ entre les sites. Les valeurs moyennes (et les percentiles) ont augmenté au cours du temps à Thionville-Autoroute (de 28,0 à 36,7 $\mu\text{g.m}^{-3}$) et à Scy-Chazelles (de 10,3 à 18,3 $\mu\text{g.m}^{-3}$), ont diminué à Florange (de 15,2 à 13,8 $\mu\text{g.m}^{-3}$) et ont monté puis baissé à Moyeuivre-Grande (2,2, 3,8 et 2,1 $\mu\text{g.m}^{-3}$).

Enfin, les concentrations d'ozone, de façon inverse à NO et à NO₂, montrent des valeurs (moyennes et percentiles) à Moyeuivre-Grande supérieures à celles de Scy-Chazelles et Florange, elles-mêmes supérieures à celles mesurées à Thionville-Autoroute. Sur les 4 sites, le p98 qui reflète les valeurs extrêmes atteintes lors des pics, a montré une augmentation puis une diminution, en passant par une valeur maximale : 187 $\mu\text{g.m}^{-3}$ à Moyeuivre-Grande, 170 $\mu\text{g.m}^{-3}$ à Scy-Chazelles et Florange et 153 $\mu\text{g.m}^{-3}$ à Thionville-Autoroute. En revanche, les concentrations moyennes d'O₃ ainsi que les p50, et les p75 ont diminué au cours des 3 périodes étudiées.

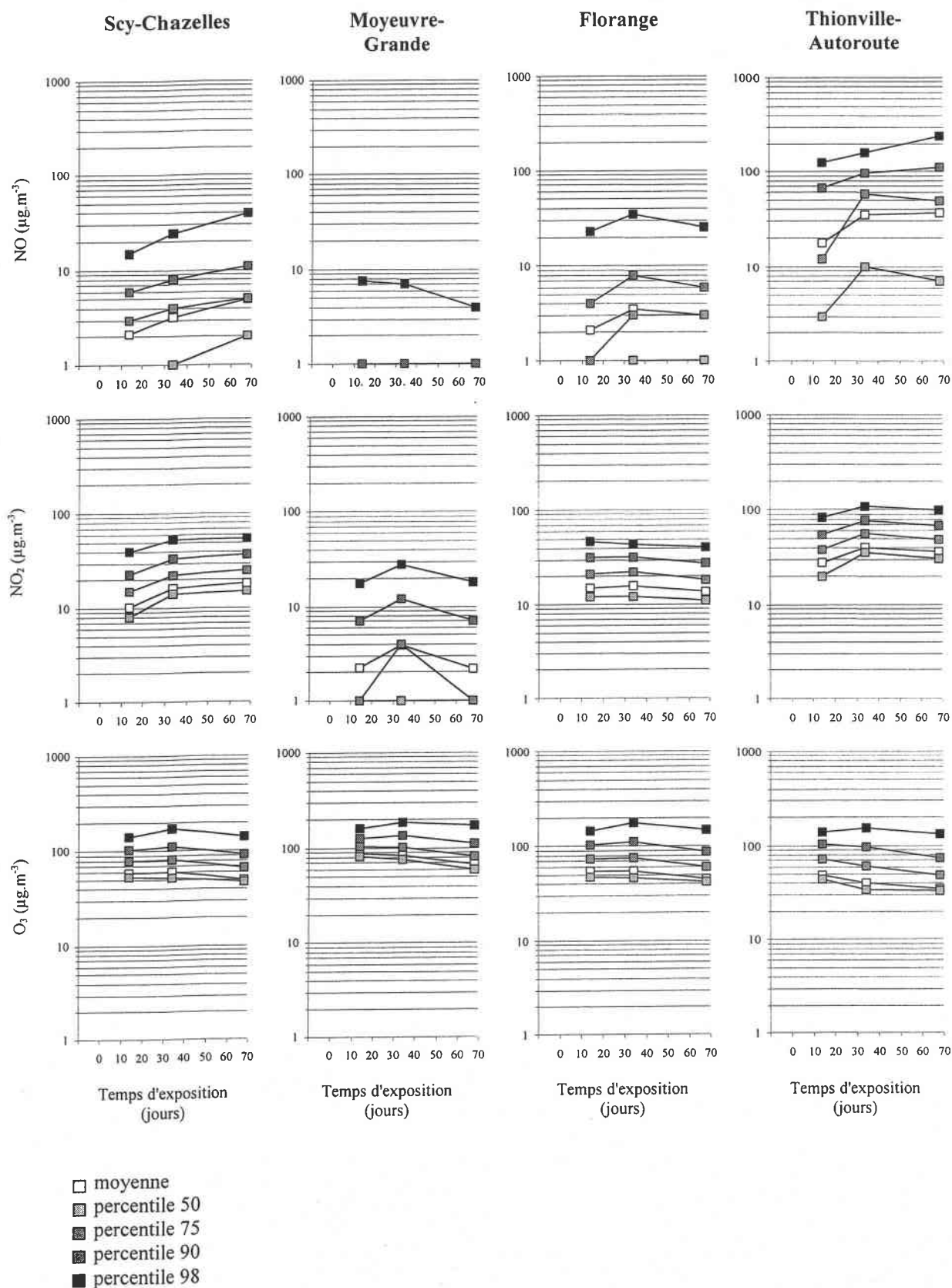
Les relations positives entre NO et NO₂ et négatives entre ces derniers et O₃ s'explique par le phénomène de destruction et de balancement de l'ozone (cf. Annexe 7).

Tableau 4. Paramètres statistiques liés aux concentrations ($\mu\text{g. m}^{-3}$) de NO , NO_2 , O_3 , PS et SO_2 au niveau des sites de transplantation de lichens sur trois périodes 0 à 14 jours (2 août 2001 à 12h00 au 16 août 2001 à 12h00), 0 à 34 jours (2 août 2001 à 12h00 au 5 septembre 2001 à 12h00) et 0 à 68 jours (2 août 2001 à 12h00 au 9 octobre 2001 à 12h00).

Paramètre	Période	Scy-Chazelles					Moyeuvre-Grande					Site Florange					Thionville-Autoroute				
		NO	NO ₂	O ₃	PS	SO ₂	NO	NO ₂	O ₃	PS	SO ₂	NO	NO ₂	O ₃	PS	SO ₂	NO	NO ₂	O ₃	PS	SO ₂
Moyenne (écart-type)	0 à 14 jours	2,1 (10,0)	10,3 (4,0)	59,2 (33,1)	nd	nd	0,6 (2,1)	2,2 (5,3)	88,1 (28,6)	8,0 (16,5)	2,4 (4,5)	2,1 (7,1)	15,2 (11,1)	59,2 (33,1)	12,5 (13,2)	2,1 (3,9)	17,5 (32,5)	28,1 (19,7)	48,6 (38,1)	5,2 (5,4)	12,6 (5,1)
	0 à 34 jours	3,2 (13,2)	16,2 (6,8)	60,7 (39,4)	nd	nd	0,6 (1,9)	3,8 (7,0)	84,8 (36,6)	9,1 (16,9)	11,2 (17,4)	3,5 (8,3)	15,7 (10,8)	60,7 (39,4)	12,8 (11,2)	2,3 (3,4)	34,8 (44,7)	40,7 (26,4)	40,7 (40,3)	5,3 (5,5)	16,9 (5,6)
	0 à 68 jours	4,9 (13,6)	18,3 (9,9)	50,3 (34,3)	nd	nd	0,4 (1,4)	2,2 (5,3)	67,7 (33,3)	6,8 (13,2)	6,3 (13,0)	3,0 (7,1)	13,9 (9,9)	50,3 (34,3)	11,2 (10,4)	2,7 (3,3)	36,4 (59,5)	36,8 (22,9)	35,3 (32,6)	4,7 (5,0)	15,6 (6,2)
Percentile 50	0 à 14 jours	0	8	54	nd	nd	0	1	81	2	1	0	12	54	10	1	3	20	44	4	11
	0 à 34 jours	1	14	53	nd	nd	0	1	77	1	2	1	12	53	12	1	10	36	34	4	17
	0 à 68 jours	2	15	48	nd	nd	0	1	60	1	1	1	11	48	10	2	7	31	33	3	16
Percentile 75	0 à 14 jours	3	15	79	nd	nd	0	1	105	7	2	1	21	79	17	2	12	38	72	8	14
	0 à 34 jours	4	22	81	nd	nd	1	4	102	10	17	3	22	81	19	3	58	57	61	8	21
	0 à 68 jours	5	25	67	nd	nd	0	1	81	7	5	3	19	67	18	4	49	49	49	7	20
Percentile 90	0 à 14 jours	6	23	104	nd	nd	1	7	126	18	4	4	32	104	23	5	67	55	103	14	17
	0 à 34 jours	8	34	110	nd	nd	1	12	135	32	33	8	32	110	25	6	96	77	96	13	23
	0 à 68 jours	11	37	92	nd	nd	1	7	111	17	20	6	28	92	24	7	111	69	74	12	23
Percentile 98	0 à 14 jours	15	40	141	nd	nd	8	18	159	83	18	23	47	141	32	15	126	83	140	18	28
	0 à 34 jours	24	53	171	nd	nd	7	28	187	66	62	34	44	171	35	12	161	108	153	21	29
	0 à 68 jours	39	55	143	nd	nd	4	18	173	48	54	25	41	143	35	12	241	97	132	19	29
Minimum	0 à 14 jours	0	0	3	nd	nd	0	0	28	0	0	0	1	3	0	0	0	4	0	0	6
	0 à 34 jours	0	0	2	nd	nd	0	0	16	0	0	0	0	2	0	0	0	4	0	0	6
	0 à 68 jours	0	0	0	nd	nd	0	0	14	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	2
Maximum	0 à 14 jours	55	44	163	nd	nd	30	50	204	103	41	84	57	163	107	44	200	138	185	21	62
	0 à 34 jours	81	86	240	nd	nd	30	53	212	103	177	84	57	240	107	44	326	165	199	26	62
	0 à 68 jours	81	172	240	nd	nd	30	53	212	103	177	84	57	240	107	44	412	165	199	26	57
n^a	0 à 14 jours	1317	1317	1329	nd	nd	1317	1317	1334	1343	1059	1294	1297	1329	1345	1311	1314	1317	1331	1345	1317
	0 à 34 jours	3187	3187	3226	nd	nd	3198	3196	3231	3245	2823	3011	3004	3226	3263	3189	3194	3197	3231	3265	3197
	0 à 68 jours	6378	6378	6454	nd	nd	6386	6384	6438	6486	5977	4257	4235	6454	6396	6187	6381	6384	6435	6429	6387

^a le nombre de données quart-horaires théorique, c'est-à-dire si toutes les données mesurées avaient été validées, est pour les périodes 0 à 14 jours, 0 à 34 jours et 0 à 68 jours, respectivement : 1342, 3262 et 6526.

Figure 28. Concentrations de polluants gazeux photo-oxydants (moyenne et percentiles) dans les sites de transplantation d'*Hypogymnia physodes* pour chaque période d'exposition (de 0 à 14j, de 0 à 34j et de 0 à 68j).



III.3.2 Paramètres biologiques

La Figure 29 présente les valeurs des paramètres biologiques mesurées dans les thalles d'*Hypogymnia physodes* récoltés le 2 août 2001 sur le site du Mont Saint-Quentin, transplantés sur ce même site plus quatre autres sites dans le sillon Nord mosellan, et récupérés après 3 périodes d'exposition de 14, 34 et 68 jours.

Les concentrations de caroténoïdes, de Chl *a* et de Chl totales après 34 jours d'exposition ne montrent pas de différences entre les dispositifs couverts et découverts. Une différence de ces concentrations entre les types de dispositifs apparaît plus nettement entre 34 jours et 68 jours d'exposition pour les sites de Scy-Chazelles, Moyeuvre-Grande et Florange, où les concentrations au niveau des dispositifs couverts ont baissé, comparativement aux conditions à temps 0. Les concentrations de ces paramètres biologiques ont également diminué par rapport au temps 0 sur les sites de Mont Saint-Quentin et de Thionville-Autoroute, mais pour les 2 types de dispositifs.

Les concentrations de Chl *b*, présentant d'importants écarts-type, ont baissé après 68 jours d'exposition chez les lichens couverts des sites de Moyeuvre-Grande, Florange et Thionville-Autoroute. Sur ces deux derniers sites, les concentrations de Chl *b* dans les lichens découverts ont également diminué jusqu'à 34 jours, puis augmenté jusqu'au niveau de base à 68 jours. De façon similaire aux concentrations de caroténoïdes, Chl *a* et Chl totales, l'évolution des concentrations de Chl *b* entre les dispositifs montrent des tendances divergentes sur les sites de Scy-Chazelles, de Moyeuvre-Grande, de Florange. Les concentrations de Chl *b* ont baissé pendant toute la durée d'exposition à Thionville-Autoroute, comparativement au site témoin.

L'intégrité chlorophyllienne, indiquée par le rapport DO_{435}/DO_{415} , et les concentrations de caroténoïdes, de Chl *a* et de Chl totales montrent les mêmes variations dans les lichens découverts de chaque site, sauf pour Moyeuvre-Grande. Dans ce dernier site, les rapports DO_{435}/DO_{415} des 2 types de dispositifs sont restés les mêmes pendant la totalité de la période d'exposition. Dans l'ensemble des sites, l'intégrité des chloroplastes des lichens couverts n'a pas changé après les 68 jours d'exposition. Cependant elle a augmenté puis diminué au cours du temps, avec un maximum à 14 jours sur Thionville-Autoroute, à 34 jours sur le Mont Saint-Quentin, Moyeuvre-Grande et Florange, et 68 jours sur Scy-Chazelles. Les faibles valeurs du rapport DO_{435}/DO_{415} sur le site témoin à t0 indiquaient que l'intégrité des chlorophylles du photobionte était atteinte.

Le Tableau 5 montre les résultats de la MANOVA pour toutes les paramètres biologiques avec les valeurs de *p* (probabilité d'erreur) chez *Hypogymnia physodes*. Une augmentation des concentrations de Chl *a* et de Chl totales a été observée pendant les 14 premiers jours, puis une diminution pendant les 34 derniers jours, de la même façon que les caroténoïdes. La Chl *b*

montre une diminution significative des concentrations par rapport à t0 à partir de 34 jours. La diminution de la concentration en Chl *b* entre 14 et 68 jours semble concerner les lichens couverts, comme le révèle l'interaction significative entre les facteurs dispositifs et temps d'exposition. L'intégrité des chloroplastes n'augmente qu'au cours des 14 premiers jours. Cependant, aucune différence significative n'a été trouvée pour l'ensemble des paramètres biologiques liés aux pigments chlorophylliens entre les sites.

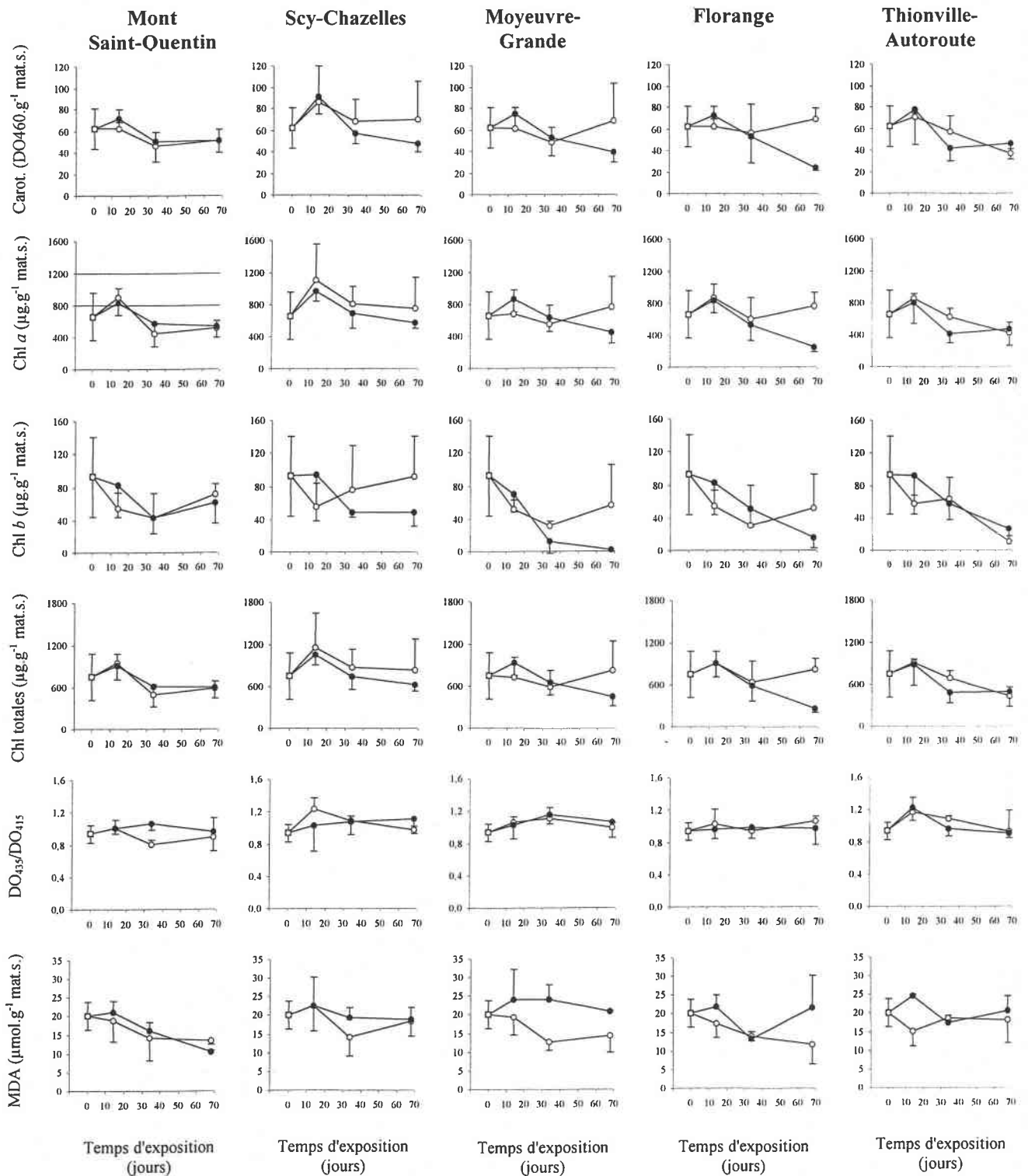
Les concentrations de MDA diminuent clairement chez les lichens découverts pendant les 68 jours d'exposition aussi bien sur le site témoin de Mont Saint Quentin que ceux de Moyeuve-Grande et Florange. La lipoperoxydation membranaire dans les thalles des lichens couverts a été généralement supérieure à celle mesurée dans les lichens découverts. Cette différence est plus évidente sur le site de Moyeuve-Grande que sur les autres sites. Les fortes concentrations de MDA mesurées à t0 ont montré que les thalles du Mont Saint-Quentin avaient subi un stress oxydant avant la transplantation. D'après nos observations et les résultats des analyses de la MANOVA (Tableau 5), le stress oxydant, qui a évolué différemment entre 14 et 34 jours, a été plus important pour les lichens couverts que découverts. Bien que le test soit non significatif au seuil fixé de 0,05, les concentrations de MDA ($p=0,070$) révèlent les différents scénarios de stress oxydant entre chaque site.

Tableau 5. Résultats de la MANOVA pour les paramètres biologiques chez *Hypogymnia physodes* (la valeur de p en gras montre les résultats significatifs pour chaque test). Le test HSD de Tukey est indiqué lorsque les temps d'exposition sont significatifs.

	Caroténoïdes	Chl <i>a</i>	Chl <i>b</i>	Chl totales	DO ₄₃₅ /DO ₄₁₅	MDA
Effet						
sites	0,178	0,145	0,202	0,149	0,118	0,070
dispositifs	0,364	0,159	0,915	0,196	0,805	0,001
temps d'exposition	0,000	0,000	0,000	0,000	0,002	0,000
Interaction entre les effets						
sites × dispositifs	0,747	0,707	0,748	0,773	0,620	0,256
sites × temps d'exposition	0,950	0,973	0,602	0,978	0,389	0,561
dispositifs × temps d'exposition	0,055	0,412	0,030	0,328	0,583	0,241
sites × dispositifs × temps d'exposition	0,769	0,810	0,985	0,845	0,748	0,208
Test HSD de Tukey	14j ≠ 34j, 68j	0j ≠ 14j 14j ≠ 34j, 68j	0j ≠ 34j, 68j 14j ≠ 68j	0j ≠ 14j 14j ≠ 34j, 68j	0j ≠ 14j	0j, 14j ≠ 34j, 68j

≠ moyennes significativement différentes

Figure 29. Concentrations des paramètres biologiques (moyenne $\pm$ écart-type de 3 replicats) chez *Hypogymnia physodes* après différents temps d'exposition



III.3.3 Contenu élémentaire du lichen

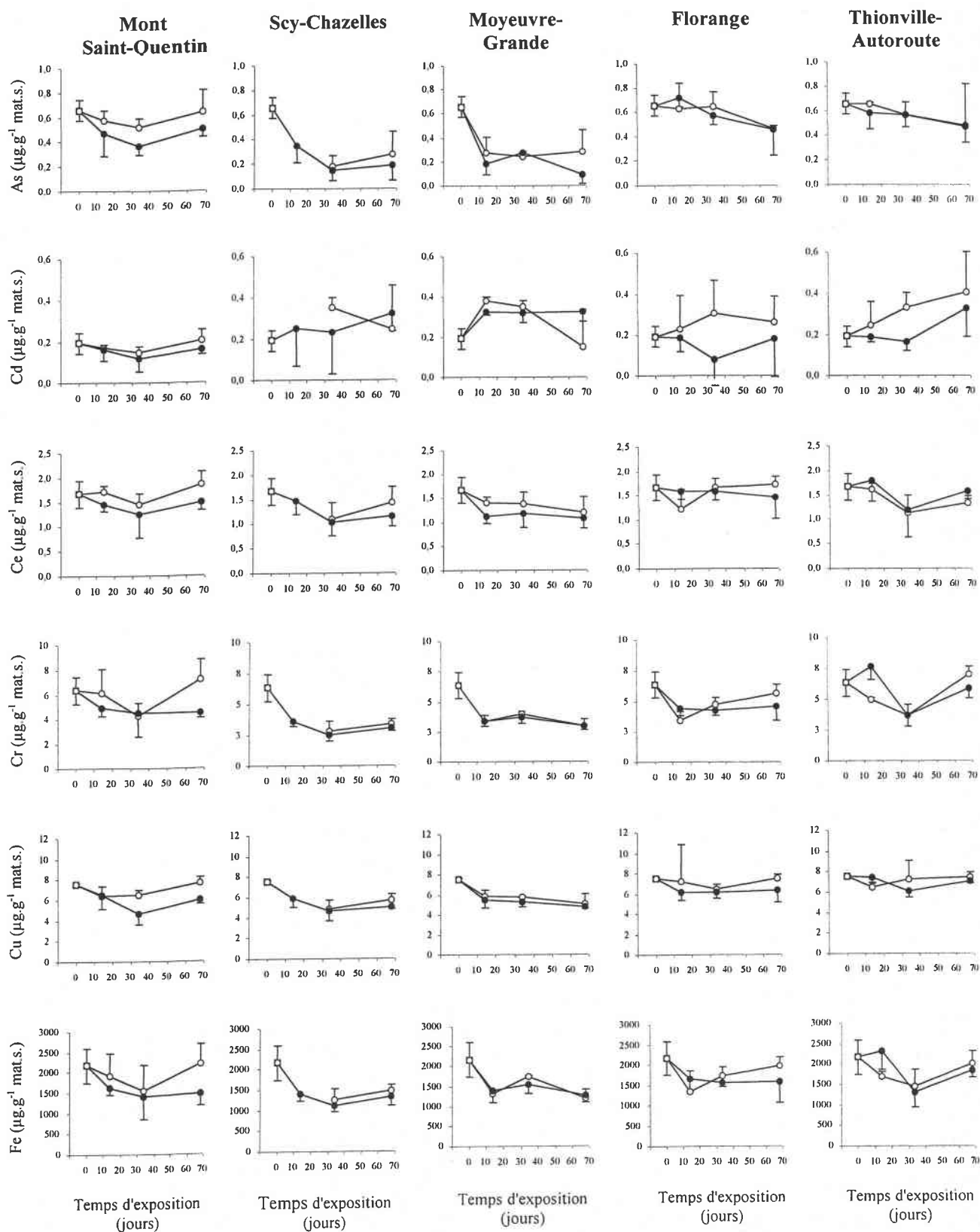
L'évolution des concentrations des éléments chimiques As, Cd, Ce, Cr, Cu, Fe, La, Pb, Rb, Sr, Ti, V dans le lichen *Hypogymnia physodes* au cours de notre étude a été reportée dans la Figure 30 et la Figure 31.

Une première analyse a consisté en un groupement hiérarchique agglomératif des éléments chimiques sur la base de leurs concentrations standardisées ($n=90$) afin de faciliter l'interprétation de nos résultats. Cette analyse de classification (Figure 32) a été réalisée sur la base des distances Euclidiennes et selon la méthode de Ward (Legendre et Legendre, 1998) qui fusionne les variables de façon à minimiser la variance à l'intérieur de chaque groupe (Borcard et Buttler, 2001). Le dendrogramme du groupement des éléments chimiques suggère que les concentrations en éléments n'aient pas évolué uniformément et pourraient être regroupées en 3 groupes.

- Le premier groupe, qui serait représenté par 7 éléments Ce, Cr, Fe, Rb, Sr, Ti et V, montrait une diminution très nette des concentrations dès 14 jours d'exposition et jusqu'à la fin de l'étude, indépendamment du type de dispositif, sauf à Scy-Chazelles où les concentrations augmentent à partir de 34 jours de façon plus importante dans les lichens découverts que couverts. Les résultats de l'ANOVA, montrés dans le Tableau 6, mettent en évidence l'effet du temps d'exposition et du site pour les éléments de ce premier groupe, sauf pour le Fe dont les profils sont similaires dans l'ensemble des sites. La significativité de l'interaction site $\times$ temps d'exposition indique que plus les lichens étaient exposés et plus les différences de concentrations entre les sites étaient marquées. A ce propos, le site témoin de Mont Saint-Quentin se distingue particulièrement des autres sites, et la différence de scénarios rencontrée à Moyeuvre-Grande et à Thionville-Autoroute est importante. L'interaction significative dispositifs $\times$ temps d'exposition s'expliquerait par des écarts de concentrations entre les dispositifs à 68 jours d'exposition au Mont Saint-Quentin pour le Cr et à 14 jours à Thionville-Autoroute pour le Sr.
- Le deuxième groupe constitué de As, La et Cu est plus hétérogène. La diminution des concentrations en éléments est moins évidente que dans le premier groupe, notamment sur les sites de Florange et de Thionville-Autoroute. Par exemple, les profils de concentrations montrent une accumulation de La dans le temps plutôt qu'une perte d'éléments. L'effet des dispositifs pour l'As (non significatif) et le Cu (significatif) concerne uniquement le site du Mont Saint-Quentin.
- Le troisième groupe, avec Cd et Pb, se singularise des 2 autres par l'effet significatif des dispositifs au niveau desquels l'accumulation métallique des lichens découverts était plus

importante que chez les lichens couverts, sauf pour le Cd au bout de 68 jours d'exposition à Moyeuve-Grande. L'accumulation de Pb est d'autant plus importante que le temps d'exposition est long comme le montre l'interaction significative dispositifs $\times$ temps d'exposition (Tableau 6).

Figure 30. Concentrations des éléments chimiques (moyenne $\pm$ écart-type de 3 replicats) As, Cd, Ce, Cr, Cu, Fe chez Hypogymnia physodes après différents temps d'exposition.



○ dispositif découvert
● dispositif couvert
□ avant transplantation

Figure 31. Concentrations des éléments (moyenne $\pm$ écart-type de 3 replicats) La, Pb, Rb, Sr, Ti, V chez *Hypogymnia physodes* après différents temps d'exposition

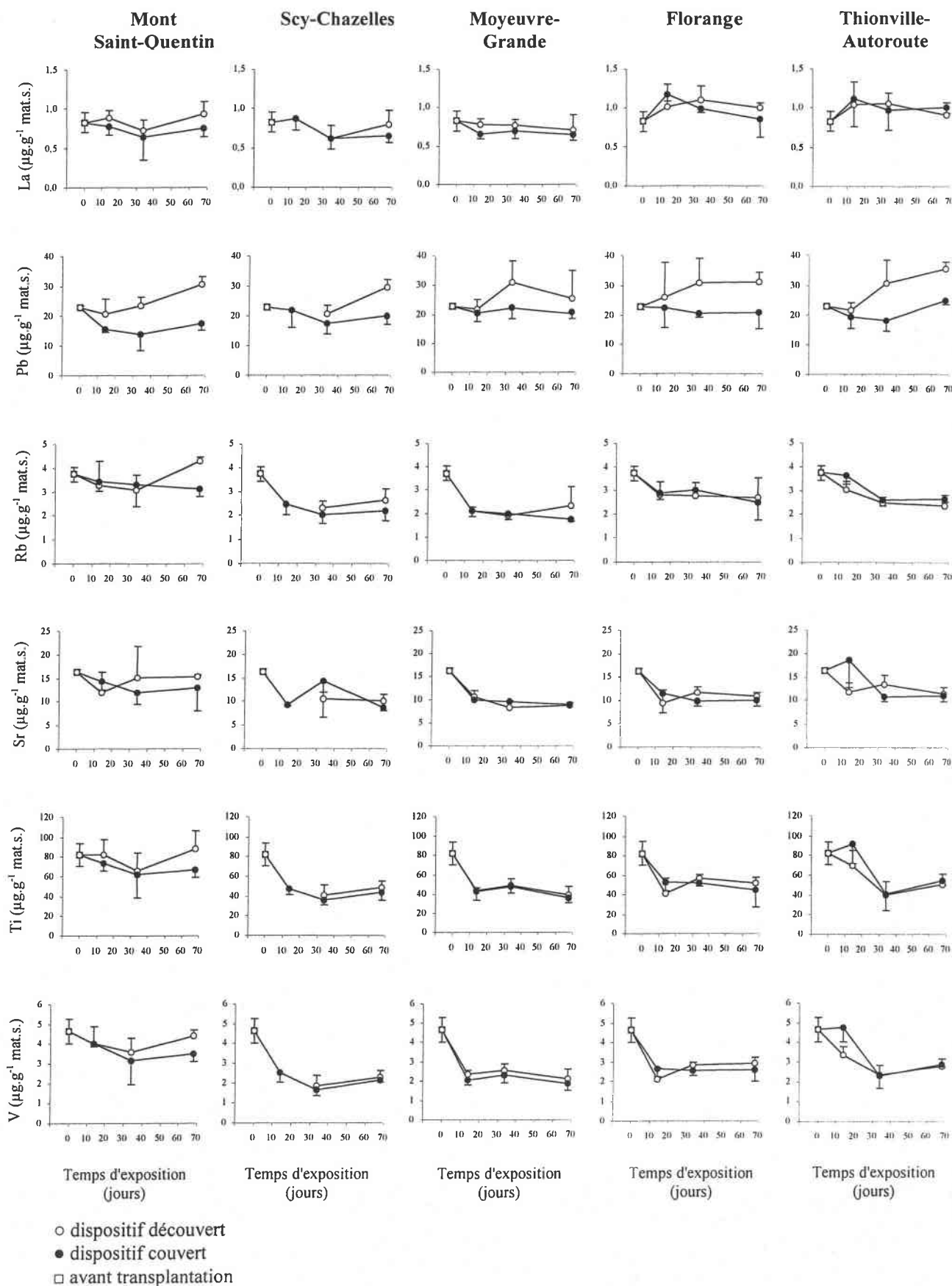
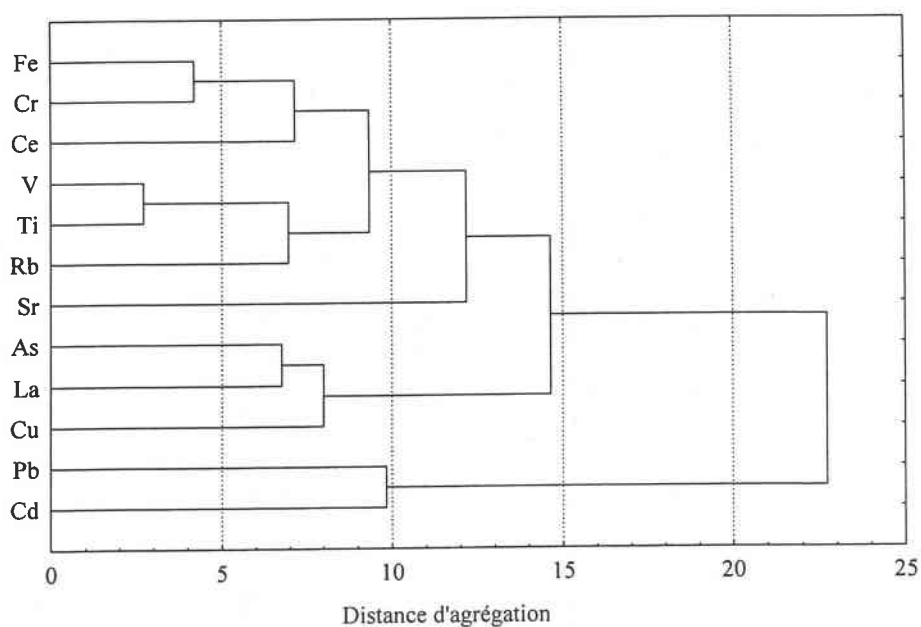


Figure 32. Dendrogramme du groupement des éléments chimiques mesurés chez Hypogymnia physodes (distance Euclidienne, méthode de Ward, n=1080).



Les concentrations de Cd dans les lichens sont différentes selon le type de dispositif (Tableau 6) et à l'inverse du Pb, l'effet dispositif n'est pas accentué par le temps d'exposition.

Tableau 6. Résultats de la MANOVA pour les concentrations en éléments chimiques chez Hypogymnia physodes (la valeur de p en gras montre les résultats significatifs pour chaque test). Le test HSD de Tukey est indiqué lorsque les effets des sites de transplantation ou des temps d'exposition sont significatifs. Q : Mont Saint-Quentin, M : Moyeuvre-Grande, F : Florange, T : Thionville-Autoroute

	As	Cd	Ce	Cr	Cu	Fe	La	Pb	Rb	Sr	Ti	V
Effet												
sites	0,000	0,000	0,013	0,000	0,000	0,071	0,000	0,022	0,000	0,000	0,000	0,000
dispositifs	0,080	0,035	0,323	0,380	0,013	0,377	0,214	0,000	0,962	0,955	0,805	0,654
temps d'exposition	0,000	0,152	0,003	0,000	0,000	0,000	0,176	0,005	0,000	0,000	0,000	0,000
Interaction entre les effets												
sites × dispositifs	0,514	0,142	0,184	0,147	0,538	0,365	0,670	0,661	0,332	0,631	0,222	0,167
sites × temps d'exposition	0,001	0,017	0,036	0,000	0,157	0,042	0,056	0,113	0,001	0,048	0,000	0,000
dispositifs × temps d'exposition	0,700	0,132	0,794	0,018	0,167	0,137	0,694	0,000	0,076	0,015	0,349	0,070
sites × dispositifs × temps d'exposition	0,866	0,551	0,739	0,158	0,700	0,783	0,914	0,992	0,661	0,387	0,879	0,776
Test HSD de Tukey	Q ≠ M M ≠ F, T	Q ≠ M, T M ≠ F	Q ≠ M M ≠ F	Q ≠ M M ≠ F, T F ≠ T	M ≠ F, T		Q ≠ F, T	Q ≠ F, T	Q ≠ M, F, T M ≠ F, T	Q ≠ M, F M ≠ T	Q ≠ M, F, T M ≠ T	Q ≠ M, F, T M ≠ T
	0j ≠ 14j, 34j, 68j		0j ≠ 14j	0j ≠ 14j, 34j, 68j 34j ≠ 68j	0j ≠ 14j, 34j, 68j	0j ≠ 14j, 34j, 68j		0j ≠ 14j, 34j	0j ≠ 14j, 34j, 68j	0j ≠ 14j, 34j, 68j	0j ≠ 14j, 34j, 68j 14j ≠ 34j	0j ≠ 14j, 34j, 68j 14j ≠ 34j

* moyennes significativement différentes

III.3.4 Mise en évidence et simplification par Analyse en Composantes Principales des relations entre les éléments chimiques des lichens et les polluants gazeux

Afin de simplifier l'interprétation des corrélations entre les paramètres biologiques, chimiques et atmosphériques dans le prochain chapitre (III.3.5), nous avons réalisé une Analyse en Composantes Principales (ACP) pour obtenir une vue d'ensemble des données relatives aux éléments chimiques et aux polluants gazeux. L'ACP a été effectuée sur une matrice objets (les 2 modalités C et D pour les sites Y, M, F, T pour chaque temps d'exposition 0, 14, 34 et 68 jours) $\times$ descripteurs (concentrations non standardisées des 12 éléments). Des variables supplémentaires, qui ne participent pas au calcul des valeurs propres mais qui figurent sur le diagramme, ont été ajoutées. Il s'agit des 4 paramètres sélectionnés (moyenne, percentiles 50, 75 et 98) pour 3 polluants gazeux (NO, NO₂ et O₃) ainsi que le site de Mont Saint-Quentin où nous ne possédons pas de données sur les polluants gazeux. Les poids factoriels des 12 éléments sur les 3 premières composantes sont montrés dans le Tableau 7. Cette ACP (Figure 33) est interprétée sur la base des 2 premières composantes (Comp1 et Comp2) où les valeurs propres sont plus grandes que 1 et qui, au total, expliquent 87,6% de la variance. Les coefficients de corrélation de Pearson entre ces deux composantes et, d'une part les éléments chimiques et d'autre part les polluants gazeux sont présentés respectivement dans le Tableau 8 et le Tableau 9.

III.3.4.1 Description de la composante 1 de l'ACP

Neuf éléments chimiques ont un fort poids sur la composante 1 (Comp1) et pas sur les autres composantes (Tableau 7); il s'agit de As, Ce, Cr, Cu, Fe, La, Rb, Ti, V. Les 9 éléments sont positivement corrélés à la Comp1 sur le site de Mont Saint-Quentin, Scy-Chazelles et Florange (Tableau 8). Parmi ces éléments, 2 ne sont pas corrélés à la Comp1 sur l'ensemble des sites : As à Florange et La à Florange et Thionville-Autoroute. Les poids de ces 9 éléments sont positifs, indiquant que les concentrations de ces éléments augmentent vers le pôle positif de la Comp1 (Figure 33, plan 1 $\times$ 2, vers la droite de l'axe horizontal). Sur ce pôle positif de la Comp1 se trouve également la projection du point correspondant au site Mont Saint-Quentin au temps 0 (Q0). La projection des autres points (combinaisons site $\times$ temps $\times$ dispositif) qui se trouvent davantage vers le pôle négatif de la Comp1, traduit une diminution des concentrations des éléments chimiques dans la plupart de ces sites. Chez les lichens découverts, la corrélation de la Comp1 avec les concentrations moyennes d'O₃ ($r^2 = -0,443$, $p < 0,05$), ou encore avec les concentrations de NO et de NO₂ (Tableau 9), suggère une relation entre la diminution des 9 éléments chimiques et l'exposition croissante des lichens à l'ozone (respectivement à une

exposition décroissante des lichens aux NO_x). Cette relation est plus évidente chez les lichens couverts pour les 3 polluants, notamment pour le percentile 98 d' O_3 , de NO et le percentile 90 de NO_2 (Tableau 9).

Figure 33. Diagramme de l'Analyse en Composantes Principales (composantes 1, 2 et 3) des 12 éléments chimiques mesurés chez *Hypogymnia physodes* pour chaque modalité de dispositifs (D, découvert ; C, couvert), de sites (Q, Mont Saint-Quentin ; Y, Scy-Chazelles, M, Moyeuvre-Grande ; F, Florange ; T, Thionville-Autoroute) et de temps d'exposition (0, témoin avant transplantation ; 14, 14 jours ; 34, 34 jours ; 68, 68 jours). Les étiquettes des variables supplémentaires sont en italiques, celles des éléments en gras et celles d'un même site sont concolores.

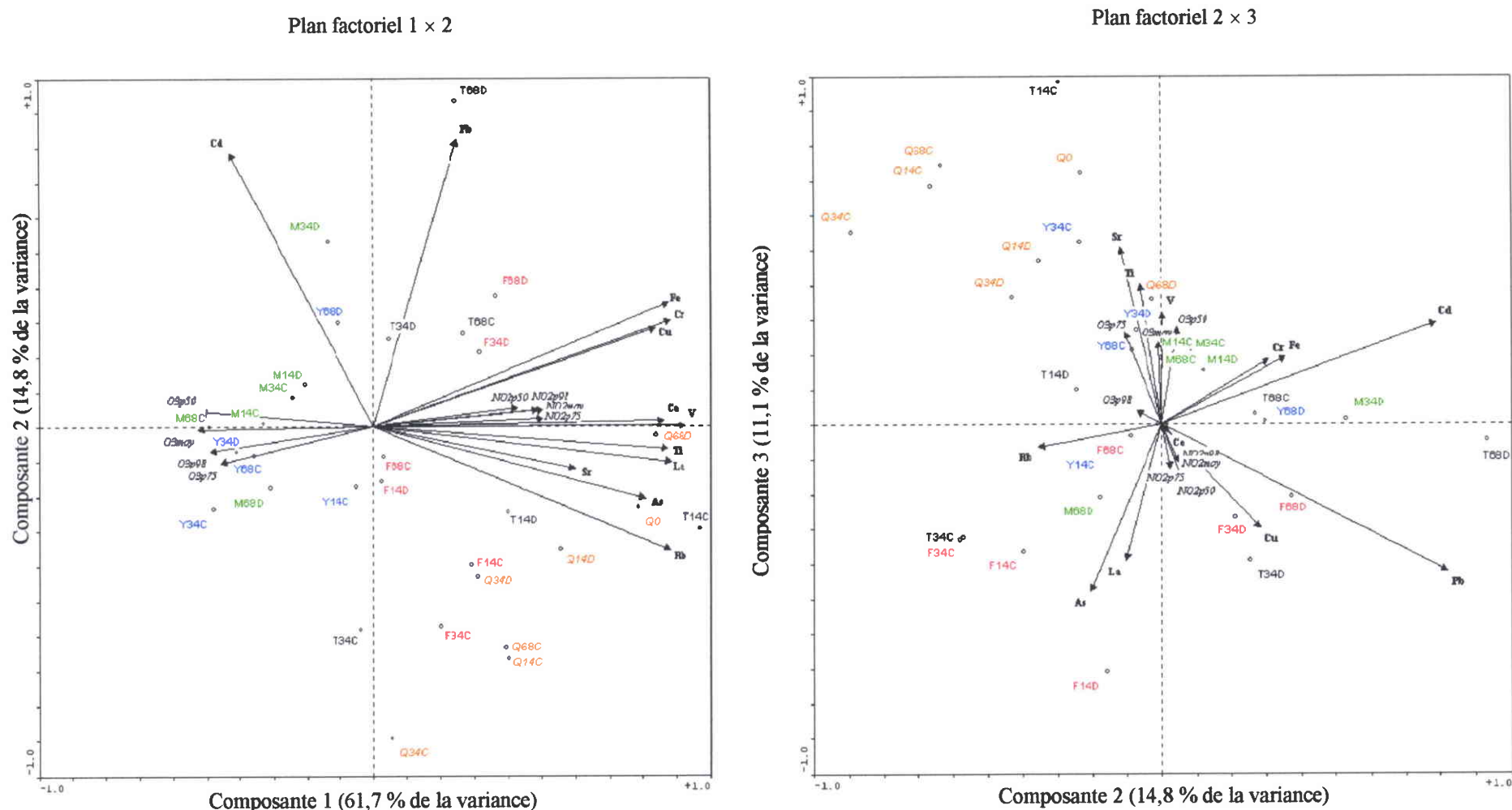


Tableau 7. Poids décroissant de 12 éléments sur les 3 composantes de l'ACP des concentrations en élément chez *Hypogymnia physodes*. Les éléments au poids fort ($p > 0,700$) sur une composante (Comp) mais pas sur une autre sont en gras.

	Comp1	Comp2	Comp3
V	0,925	0,006	-0,319
Cr	0,882	-0,295	-0,195
Rb	0,881	0,351	0,078
La	0,881	0,085	0,401
Fe	0,875	-0,345	-0,209
Ti	0,871	0,079	-0,401
Ce	0,859	-0,021	0,016
Cu	0,837	-0,287	0,288
As	0,809	0,185	0,487
Sr	0,599	0,139	-0,498
Pb	0,249	-0,833	0,391
Cd	-0,436	-0,774	-0,297

Tableau 8. Coefficient de corrélation de Pearson entre les concentrations des éléments chimiques dans les thalles d'*Hypogymnia physodes* et les 2 composantes (Comp) de l'ACP réalisée avec ces concentrations.

		As	Cd	Ce	Cr	Cu	Fe	La	Pb	Rb	Sr	Ti	V
Mont Saint-Quentin													
découvert	Comp1	0,759**	0,604*	0,904***	0,939***	0,782**	0,974***	0,855***	ns	0,881***	0,581*	0,961***	0,912***
(n=12)	Comp2	0,603*	0,745**	ns	0,653*	0,690*	ns	ns	0,745**	0,701*	ns	ns	ns
couvert	Comp1	0,584*	0,723**	0,935***	0,870***	0,897***	0,945***	0,889***	0,755**	0,795**	ns	0,977***	0,955***
(n=12)	Comp2	0,652*	0,906***	0,718**	0,734**	0,840**	0,700*	0,687*	0,906***	0,651*	ns	0,711*	0,709*
Scy-Chazelles													
découvert	Comp1	0,936***	ns	0,904**	0,943***	0,975***	0,959***	0,774*	ns	0,916**	0,843**	0,981***	0,971***
(n=9)	Comp2	ns	0,727*	ns	ns	ns	ns	ns	0,727*	ns	ns	ns	ns
couvert	Comp1	0,929***	ns	0,89***	0,951***	0,909***	0,961***	0,726**	0,593*	0,914***	ns	0,972***	0,970***
(n=12)	Comp2	ns	0,738**	ns	ns	ns	ns	ns	0,738**	ns	ns	ns	ns
Moyeuve-Grande													
découvert	Comp1	0,883***	ns	0,874***	0,928***	0,940***	0,895***	0,696*	ns	0,887***	0,820**	0,967***	0,969***
(n=12)	Comp2	ns	0,838**	ns	ns	ns	ns	ns	0,838**	ns	ns	ns	ns
couvert	Comp1	0,933***	-0,745**	0,947***	0,961***	0,969***	0,964***	0,862***	0,587*	0,953***	0,900***	0,995***	0,988***
(n=12)	Comp2	ns	0,714**	ns	ns	ns	ns	ns	0,714**	ns	ns	ns	ns
Florange													
découvert	Comp1	ns	ns	0,823**	0,786**	0,662*	0,930***	ns	ns	0,615*	0,754**	0,888***	0,835**
(n=12)	Comp2	ns	0,955***	ns	ns	0,594*	ns	0,852***	0,955***	ns	ns	ns	ns
couvert	Comp1	0,715**	ns	0,851***	0,841**	0,896***	0,952***	ns	0,699*	0,891***	0,653*	0,943***	0,850***
(n=12)	Comp2	0,700*	0,844**	ns	ns	0,678*	0,578*	ns	0,844**	ns	ns	ns	ns
Thionville-Autoroute													
découvert	Comp1	0,627*	ns	0,879***	0,636*	ns	0,837**	ns	ns	0,814**	0,588*	0,857***	0,875***
(n=12)	Comp2	ns	0,918***	-0,707*	ns	ns	ns	ns	0,918***	-0,782**	ns	-0,730**	-0,673*
couvert	Comp1	ns	ns	0,878***	0,894***	0,938***	0,963***	ns	ns	0,766**	ns	0,983***	0,943***
(n=12)	Comp2	ns	0,869***	ns	ns	ns	ns	ns	0,869***	ns	ns	ns	ns

ns: non significatif

* $p < 0,05$

** $p < 0,01$

*** $p < 0,001$

III.3.4.2 Description de la composante 2 de l'ACP

Deux éléments ont un poids fort et positif sur la composante 2 (Comp2) et pas sur les autres composantes : Cd et Pb. Ces deux éléments chimiques montrent une corrélation significative avec la Comp2 dans l'ensemble des sites et dispositifs étudiés (Tableau 8). La position relative de la projection du site Mont Saint-Quentin au temps 0 (Q0) sur la composante 2 indique une accumulation de ces éléments chimiques dans la plupart des autres sites. Cette accumulation est plus forte dans les lichens des dispositifs découverts que dans ceux des dispositifs couverts, puisque les points associés aux dispositifs découverts sont principalement orientés vers le pôle positif de la composante 2 (Figure 34). D'après les corrélations calculées dans le Tableau 9, il n'y a pas de relations significatives entre les polluants gazeux et les concentrations de Cd et de Pb dans les thalles, quel que soit le type de dispositif.

Figure 34. Diagramme de l'Analyse en Composantes Principales (composante 1 et 2) des 12 éléments chimiques mesurés chez *Hypogymnia physodes* pour chaque modalité de dispositifs (D, découvert ; C, couvert), de sites (Q, Mont Saint-Quentin ; Y, Scy-Chazelles, M, Moyeuvre-Grande ; F, Florange ; T, Thionville-Autoroute) et de temps d'exposition (0, témoin avant transplantation ; 14, 14 jours ; 34, 34 jours ; 68, 68 jours). Les valeurs obtenues pour les dispositifs découverts et couverts d'un même site à un même temps ont été reliées par un trait noir épais. Les étiquettes des variables supplémentaires sont en italiques, celles des éléments en gras.

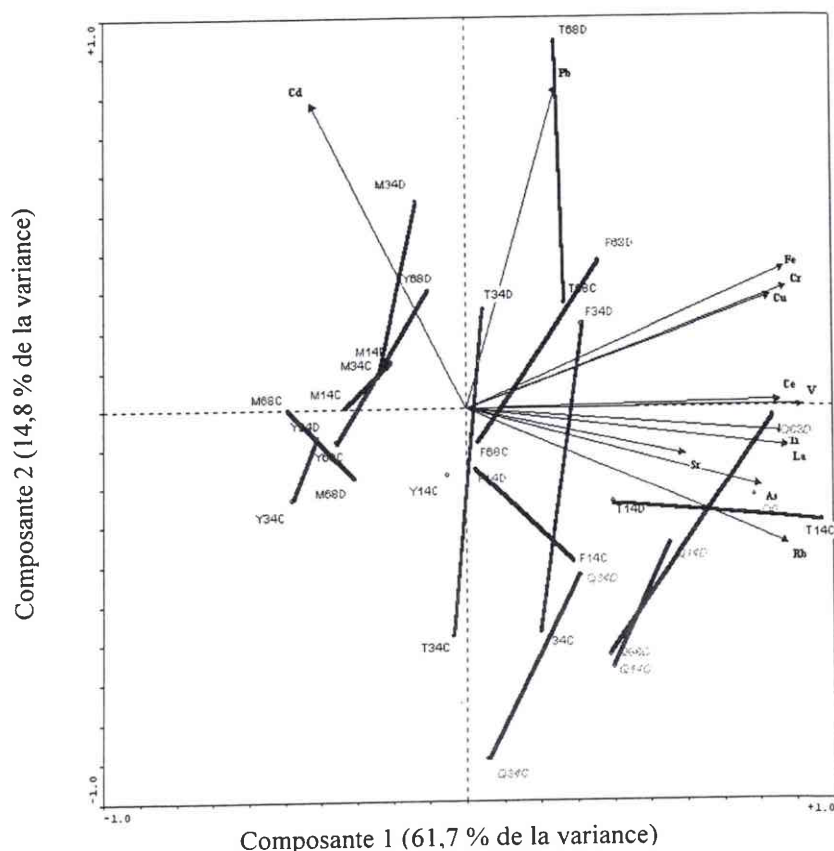


Tableau 9. Coefficient de corrélation de Pearson entre les 2 composantes (Comp) de l'ACP réalisée avec les concentrations des éléments chimiques dans les thalles d'Hypogymnia physodes et les polluants gazeux auxquels le lichen a été exposé sur l'ensemble des sites étudiés en vallée de la Moselle.

		O ₃					NO					NO ₂				
		moy	p50	p75	p90	p98	moy	p50	p75	p90	p98	moy	p50	p75	p90	p98
Tous les sites¹																
découvert	Comp1	-0,443*	-0,432*	-0,415*	-0,370*	-0,371*	ns	ns	ns	ns	0,362*	0,371*	ns	0,371*	0,364*	ns
(n=33)	Comp2	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
couvert	Comp1	-0,438**	-0,436**	-0,367*	ns	-0,458**	0,374*	ns	ns	0,438**	0,455**	0,453**	0,382*	0,452**	0,454**	0,450**
(n=36)	Comp2	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ns: non significatif

* p<0,05

** p<0,01

*** p<0,001

¹ sauf Mont Saint-Quentin

III.3.5 Corrélation entre les paramètres biologiques, les éléments chimiques des lichens et les polluants gazeux

Le Tableau 10 et le Tableau 11 présentent les corrélations entre les paramètres biologiques, chimiques et atmosphériques des lichens transplantés en vallée de la Moselle. Les résultats site par site sont les suivants.

III.3.5.1 Site témoin du Mont Saint-Quentin

Le Tableau 10 révèle que le MDA a été corrélé négativement avec le Pb chez les lichens découverts et positivement avec le Cr et le V chez les lichens couverts. Les caroténoïdes ont été également corrélés positivement avec le Ce, La, Rb, Ti et V, la Chl *a* et la Chl totales avec La et Ti chez les lichens couverts.

III.3.5.2 Site périurbain de Scy-Chazelles

En l'absence d'analyse d'éléments chimiques dans les lichens découverts de Scy-Chazelles au temps 14 jours, nous n'avons pas tenu compte des corrélations entre MDA et Cu, Fe. En revanche, nous avons noté que l'intégrité des chloroplastes (rapport DO_{435}/DO_{415}) chez les lichens découverts a été corrélée positivement au percentile 50 (p50) d'ozone et négativement à l'ensemble des percentiles de NO_x . Ces dernières corrélations ont été maximales pour le p50 et le p75 de NO et le p75 de NO_2 (Tableau 11).

A l'inverse, pour les lichens couverts, le percentile 50 d'ozone et les percentiles de NO_x sont corrélés avec les caroténoïdes, la Chl *a* et la Chl totales. De plus, les concentrations de La dans les lichens ont été corrélées avec celles des caroténoïdes ($r^2=0,711$; $p<0,01$; Tableau 10). La Chl *b*, corrélée positivement avec Ce, Cu, Fe, La et V, ne montre aucune relation avec les polluants gazeux.

En résumé, les lichens ont été exposés à des concentrations croissantes de NO_x sur le site périurbain de Scy-Chazelles où ces polluants pourraient être liés négativement à l'intégrité des chloroplastes chez les lichens découverts et aux concentrations de caroténoïdes, de Chl *a*, de Chl totales chez les lichens couverts.

III.3.5.3 Site périurbain de Moyeuve-Grande

Pour les lichens découverts, il n'y a pas de relations entre les paramètres atmosphériques et biologiques (Tableau 11). La Chl *b* a été positivement corrélée à As, Ce, Rb, Ti et V et négativement corrélée à Cd et Pb (respectivement $r^2=-0,683$ et $r^2=-0,619$; $p<0,05$; Tableau 10). Le Pb est également négativement corrélé aux concentrations de MDA ($r^2=-0,593$; $p<0,05$; Tableau 10).

Pour les lichens couverts, les concentrations de caroténoïdes, Chl *a*, Chl *b* et Chl totales sont positivement corrélées au p50 de l'O₃ et négativement au p98 de NO (Tableau 11). De plus, la Chl *b* est positivement corrélée à As, Ce, Cr, Cu, Fe, La, Rb, Sr, Ti, V et négativement au Cd.

En résumé, les lichens transplantés sur le site Moyeuve-Grande ont été exposés à de faibles concentrations de NO_x mais en revanche aux plus fortes concentrations d'O₃ parmi les 4 sites où ce polluant a été mesuré. Ce polluant ne semble pas avoir été lié directement avec les paramètres biologiques des lichens découverts pour lesquels cependant une réduction de la Chl *b* a été enregistrée en parallèle d'une diminution des concentrations thallines d'As, Ce, Rb, Ti et V (éléments chimiques de la Comp1) et d'une accumulation de Cd et Pb (éléments chimiques de la Comp2). La diminution de la lipoperoxydation (MDA), corrélée avec l'accumulation de Pb, qui pourrait être apportée par les précipitations, pourrait être dû à l'effet positif de ces dernières sur le stress oxydant des lichens. Ainsi, les lichens couverts et par conséquent protégés des précipitations montrent une augmentation du stress oxydant (Figure 29) alors que les concentrations en Pb restent constantes (Figure 31). De plus, la réduction de Chl *b*, plus marquée sous le couvert des plaques, semble être liée à la perte des éléments chimiques de la Comp1 dans les lichens. Cette diminution suggère l'action conjointe de fortes moyennes d'O₃ et aux plus fortes valeurs de NO.

III.3.5.4 Site industriel de Florange

De la même manière que sur le site de Moyeuve-Grande, il n'y a pas de relations entre les paramètres atmosphériques et biologiques des lichens découverts (Tableau 11). La Chl *a* et les Chl totales, dont les concentrations n'ont que faiblement diminué au cours de 34 derniers jours, ont été corrélées négativement à l'As, qui à l'inverse a donc faiblement augmenté. Les corrélations positives entre le rapport DO₄₃₅/DO₄₁₅ et le Cu et le La sont délicates à interpréter puisqu'elles traduisent une relation entre des paramètres dont les valeurs ont peu évolué dans le temps mais de façon parallèle. De plus, la diminution des concentrations de MDA, c'est-à-dire la diminution des phénomènes de lipoperoxydation membranaire indique l'augmentation de la viabilité des lichens.

En ce qui concerne les lichens couverts, de fortes corrélations ($p < 0,01$) existaient entre leur exposition à des valeurs extrêmes (p98) de NO_2 ainsi que des valeurs médianes (p50) d' O_3 et les concentrations thallines de pigments photosynthétiques : caroténoïdes, Chl *a*, Chl *b* et Chl totales. Ces corrélations ont été plus faibles ($p < 0,05$) et négatives avec le NO. Seule la diminution des concentrations de Rb et le Ti est corrélée avec celle de la Chl *b*.

Le site de Florange présente le même profil de faibles concentrations d' O_3 que celui de Scy-Chazelles, mais diffère par des concentrations en NO_2 plus élevées au cours des 14 premiers jours et des concentrations plus faibles au cours des 34 derniers jours. Cependant les paramètres atmosphériques ne semblent pas avoir joué un rôle essentiel sur les paramètres biologiques et chimiques des lichens. Les lichens découverts ne présentent pas d'altération des chloroplastes et des pigments chlorophylliens, mais une diminution de la lipoperoxydation membranaire, ce qui suggère une amélioration de l'état physiologique. Dans ces lichens découverts il y a eu une perte de Ce, Cr, Fe, Sr, Ti et V au cours des 14 premiers jours relativement similaire à celle observée dans ceux qui étaient couverts. Pour les lichens découverts, cette perte est compensée après 34 jours d'exposition par une augmentation des concentrations des éléments chimiques qui ensuite restent constantes jusqu'à 68 jours. A l'inverse, la perte des éléments chimiques dans les lichens couverts reste minimale dès 14 jours, temps après lequel les concentrations en pigments ont diminué constamment. Ceci suggère l'action d'un facteur jouant sur la photosynthèse, comme le Pb dont les concentrations dans les thalles augmentent significativement à partir de 34 jours.

III.3.5.5 Site autoroutier de Thionville-Autoroute

Comme le montre le Tableau 11, les concentrations en caroténoïdes, Chl *a*, et Chl totales dans les lichens découverts sont plus fortement corrélées au p75 d' O_3 (respectivement $r^2 = 0,879$ et $r^2 = 0,907$, $p < 0,01$; $r^2 = 0,918$, $p < 0,001$) ou au p90 pour la Chl *b* ($r^2 = 0,819$, $p < 0,01$). A l'inverse, les concentrations en caroténoïdes, Chl *b*, et Chl totales sont négativement corrélées au p98 de NO et d' O_3 (respectivement $r^2 = -0,880$, $p < 0,01$; $r^2 = -0,878$, $p < 0,05$; $r^2 = -0,902$, $p < 0,01$) ou également au p90 pour la Chl *a* ($r^2 = -0,899$, $p < 0,01$). Ces corrélations existent également, mais avec un ajustement moindre, pour des valeurs moyennes (O_3 et NO) et médianes (O_3) du fait d'une grande similarité de profil des paramètres (moyenne ou percentiles) mesurés (Figure 28). En ce qui concerne la relation entre les paramètres biologiques et les éléments chimiques (Tableau 10), ce sont les caroténoïdes, la Chl *a*, la Chl *b* et les Chl totales qui sont corrélés négativement au Cd (respectivement $r^2 = -0,643$, $-0,603$, $-0,621$ et $-0,640$, $p < 0,05$) et au Pb (respectivement $r^2 = -0,837$, $p < 0,01$; $r^2 = -0,685$ et $-0,655$, $p < 0,05$; $r^2 = -0,719$, $p < 0,01$). Les caroténoïdes et la Chl totales sont corrélés positivement ($p < 0,05$) à Ce et Rb, et la

Chl *b* à Rb, Sr, Ti et V. Enfin, l'intégrité des chloroplastes, estimée par le rapport DO_{435}/DO_{415} , est corrélée positivement à l'As.

Chez les lichens couverts, des corrélations positives avec l' O_3 sont trouvées pour Chl *a*, Chl totales, DO_{435}/DO_{415} et le MDA et les corrélations maximales concernent les concentrations médianes (p50) d' O_3 (Tableau 11). Idem pour la Chl *b* avec le p75 d' O_3 . Les relations des paramètres biologiques avec le NO étaient plus hétérogènes mais toujours négatives : caroténoïdes et Chl *a* avec le p75 (respectivement $r^2 = -0,674$ et $-0,706$, $p < 0,05$), Chl *b* avec le p90 ($r^2 = -0,726$, $p < 0,05$), Chl totales et DO_{435}/DO_{415} avec la moyenne (respectivement $r^2 = -0,705$, $p < 0,05$; $r^2 = -0,843$, $p < 0,01$) et le MDA avec la médiane ($r^2 = -0,818$, $p < 0,01$). Des corrélations négatives existaient entre les paramètres biologiques des lichens et le NO_2 . Elles étaient maximales entre les valeurs moyennes ou médianes de NO_2 et la Chl *a*, la Chl totales et la DO_{435}/DO_{415} ($p < 0,05$) ainsi qu'entre les valeurs supérieures (p75 et p98) de NO_2 et le MDA ($p < 0,01$). Pour finir, les caroténoïdes, la Chl *a*, la Chl *b* et la Chl totales sont corrélés positivement au Sr ($p < 0,01$), idem pour le rapport DO_{435}/DO_{415} avec le La et le Ti ($p < 0,05$) et pour le MDA avec le Cr ($p < 0,01$) et le Fe ($p < 0,05$).

En résumé, au cours des 68 jours d'exposition, l'accumulation de Pb et de Cd a été nettement observée dans les thalles, de façon moins évidente chez les lichens couverts que découverts, chez ces derniers en relation étroite avec une diminution des pigments photosynthétiques. Ces observations, réalisées à quelques dizaines de mètres d'une autoroute, impliqueraient clairement la circulation automobile dans l'émission de polluants gazeux, principalement le NO et le NO_2 comme l'ont témoigné les fortes valeurs enregistrées (Figure 28). Les thalles ont également été exposés à l'ozone, mais à de plus faibles valeurs d' O_3 que dans les 4 autres sites du fait du phénomène de destruction et de balancement subi par ce polluant en présence de fortes concentrations de NO_x (Annexe 7). La présence conjointe d' O_3 et de NO_x en de fortes concentrations sur ce site rend difficile l'interprétation de ces résultats. Cependant, ce mélange atmosphérique photo-oxydant semblait n'avoir eu d'effet que sur les pigments chlorophylliens des lichens découverts, notamment la diminution des concentrations en Chl *b* à laquelle est liée la baisse des concentrations de 4 éléments chimiques : Rb, Sr, Ti et V. L'altération des chloroplastes et des membranes plasmiques des lichens découverts semble avoir été sensible à la transplantation dans les 14 premiers jours où le rapport DO_{435}/DO_{415} et le MDA ont respectivement augmenté et diminué, avant de regagner des valeurs similaires au temps 0. A l'inverse, les lichens couverts semblent avoir subi un stress oxydant (MDA augmente) particulièrement après les 14 premiers jours alors que l'intégrité membranaire ne semblait pas être affectée (DO_{435}/DO_{415} augmente). Nos observations et nos calculs suggèrent finalement que d'une part l' O_3 est lié à la lipoperoxydation membranaire des lichens couverts, et que d'autre part

les NO_x étaient liés à l'altération des pigments chlorophylliens. Le Cr et le Fe, accumulés par les lichens au cours de cette période et corrélés avec le MDA, sont des éléments qui ont pu être émis par le trafic automobile et ont ainsi contribué avec l'O₃ à l'augmentation du stress oxydant. D'ailleurs, au temps 34 jours, le degré de lipoperoxydation est redevenu le même qu'au temps 0 et les concentrations de Cr et Fe avaient clairement diminué au sein des thalles. L'interprétation de la relation entre le rapport DO₄₃₅/DO₄₁₅ et l'As reste ambiguë mais nous a conduit à la réflexion suivante: La détermination de As par ICP-MS (isotope 75) pourrait être interférée par le Cl non mesuré (Ar + Cl = 40 + 35 = 75). De ce fait la probabilité de surestimation des concentrations en arsenic augmenterait avec la concentration de Cl, ici inconnue, présente dans l'échantillon.

Tableau 10. Coefficient de corrélation de Pearson entre les paramètres biologiques et chimiques des thalles d'Hypogymnia physodes transplantés en vallée de la Moselle.

		As	Cd	Ce	Cr	Cu	Fe	La	Pb	Rb	Sr	Ti	V
Mont Saint-Quentin													
découvert (n=12)	Caroténoïdes	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Chl a	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Chl b	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Chl totales	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	DO ₄₃₅ /DO ₄₁₅	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	MDA	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-0,664*	ns	ns	ns	ns
couvert (n=12)	Caroténoïdes	ns	ns	0,641*	ns	ns	ns	0,722**	ns	0,581*	ns	0,654*	0,585*
	Chl a	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,659*	ns	ns	ns	0,578*	ns
	Chl b	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Chl totales	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,643*	ns	ns	ns	0,581*	ns
	DO ₄₃₅ /DO ₄₁₅	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	MDA	ns	ns	ns	0,604*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,587*
Scy-Chazelles													
découvert (n=9)	Caroténoïdes	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Chl a	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Chl b	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Chl totales	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	DO ₄₃₅ /DO ₄₁₅	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	MDA	ns	ns	ns	ns	0,675*	0,692*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
couvert (n=12)	Caroténoïdes	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,711**	ns	ns	ns	ns	ns
	Chl a	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Chl b	ns	ns	0,765**	ns	0,627*	0,590*	0,797**	ns	ns	ns	ns	0,588*
	Chl totales	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,632*	ns	ns	ns	ns	ns
	DO ₄₃₅ /DO ₄₁₅	ns	ns	ns	ns	-0,589*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	MDA	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Moyeuvre-Grande													
découvert (n=12)	Caroténoïdes	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Chl a	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Chl b	0,587*	-0,683*	0,593*	ns	ns	ns	ns	-0,619*	0,623*	ns	0,625*	0,607*
	Chl totales	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	DO ₄₃₅ /DO ₄₁₅	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	MDA	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-0,593*	ns	ns	ns	ns
couvert (n=12)	Caroténoïdes	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Chl a	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Chl b	0,595*	-0,646*	0,659*	0,647*	0,743**	0,707*	0,635*	ns	0,745**	0,707*	0,741**	0,703*
	Chl totales	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	DO ₄₃₅ /DO ₄₁₅	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	MDA	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Florange													
découvert (n=12)	Caroténoïdes	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Chl a	-0,612*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Chl b	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Chl totales	-0,602*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	DO ₄₃₅ /DO ₄₁₅	ns	ns	ns	ns	0,679*	ns	0,601*	ns	ns	ns	ns	ns
	MDA	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
couvert (n=12)	Caroténoïdes	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Chl a	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Chl b	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,624*	ns	0,589*	ns
	Chl totales	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	DO ₄₃₅ /DO ₄₁₅	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	MDA	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Thionville-Autoroute													
découvert (n=12)	Caroténoïdes	ns	-0,643*	0,613*	ns	ns	ns	ns	-0,837**	0,602*	ns	ns	ns
	Chl a	ns	-0,603*	ns	ns	ns	ns	ns	-0,685*	ns	ns	ns	ns
	Chl b	ns	-0,621*	ns	ns	ns	ns	ns	-0,655*	0,705*	0,643*	0,598*	0,652*
	Chl totales	ns	-0,640*	0,589*	ns	ns	ns	ns	-0,719**	0,590*	ns	ns	ns
	DO ₄₃₅ /DO ₄₁₅	0,609*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	MDA	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
couvert (n=12)	Caroténoïdes	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,842**	ns	ns
	Chl a	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,784**	ns	ns
	Chl b	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,715**	ns	ns
	Chl totales	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,795**	ns	ns
	DO ₄₃₅ /DO ₄₁₅	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,650*	ns	ns	ns	0,661*	ns
	MDA	ns	ns	ns	0,793**	ns	0,596*	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ns: non significatif

* p<0,05

** p<0,01

*** p<0,001



Tableau 11. Coefficients de corrélation de Pearson entre les paramètres biologiques des thalles d'Hypogymnia physodes transplantés en vallée de la Moselle et les polluants gazeux auxquels les lichens ont été exposés.

		O ₃					NO					NO ₂				
		moy	p50	p75	p90	p98	moy	p50	p75	p90	p98	moy	p50	p75	p90	p98
Scy-Chazelles																
découvert	Caroténoïdes	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
(n=9)	Chl a	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Chl b	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Chl totales	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	DO ₄₃₅ /DO ₄₁₅	ns	0,721*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	MDA	ns	ns	ns	ns	ns	-0,782*	-0,803**	-0,803**	-0,789*	-0,784*	-0,795*	-0,772*	-0,800*	-0,787*	-0,770*
							ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
couvert	Caroténoïdes	ns	0,690*	ns	ns	ns	-0,794*	-0,845**	-0,845**	-0,808**	-0,797*	-0,887**	-0,886**	-0,885**	-0,888**	-0,885**
(n=9)	Chl a	ns	0,690*	ns	ns	ns	-0,774*	-0,811**	-0,811**	-0,784*	-0,776*	-0,831**	-0,821**	-0,832**	-0,828**	-0,819**
	Chl b	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Chl totales	ns	0,683*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	DO ₄₃₅ /DO ₄₁₅	ns	ns	ns	ns	ns	-0,773*	-0,814**	-0,814**	-0,784*	-0,775*	-0,842**	-0,834**	-0,841**	-0,840**	-0,833**
	MDA	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Moyeuvre-Grande																
découvert	Caroténoïdes	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
(n=9)	Chl a	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Chl b	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Chl totales	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	DO ₄₃₅ /DO ₄₁₅	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	MDA	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
couvert	Caroténoïdes	0,692*	0,702*	0,677*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,700*	ns	ns	ns	ns	ns
(n=9)	Chl a	0,730*	0,739*	0,717*	ns	ns	0,673*	ns	ns	ns	0,737*	ns	ns	ns	ns	ns
	Chl b	0,671*	0,688*	ns	ns	-0,726*	ns	ns	ns	ns	0,684*	ns	ns	ns	ns	ns
	Chl totales	0,740*	0,750*	0,725*	ns	ns	0,675*	ns	ns	ns	0,748*	ns	ns	ns	ns	ns
	DO ₄₃₅ /DO ₄₁₅	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	MDA	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Florange																
découvert	Caroténoïdes	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
(n=9)	Chl a	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Chl b	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Chl totales	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	DO ₄₃₅ /DO ₄₁₅	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	MDA	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
couvert	Caroténoïdes	0,816**	0,861**	0,766*	0,668*	ns	ns	-0,700*	-0,700*	ns	ns	0,678*	0,789*	ns	0,789*	0,859**
(n=9)	Chl a	0,807**	0,877**	0,742*	ns	ns	ns	-0,779*	-0,779*	ns	ns	ns	0,770*	ns	0,770*	0,895**
	Chl b	0,720*	0,773*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,690*	ns	0,690*	0,783*
	Chl totales	0,803**	0,871**	0,738*	ns	ns	ns	-0,772*	-0,772*	ns	ns	ns	0,767*	ns	0,767*	0,888**
	DO ₄₃₅ /DO ₄₁₅	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	MDA	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Thionville-Autoroute																
découvert	Caroténoïdes	0,860**	0,745*	0,879**	0,872**	ns	-0,743*	ns	ns	-0,842**	-0,880**	ns	ns	ns	ns	ns
(n=9)	Chl a	0,906**	0,836**	0,907**	0,859**	ns	-0,835**	ns	ns	-0,713*	-0,899**	-0,878**	ns	ns	ns	ns
	Chl b	ns	ns	0,714*	0,819**	0,734*	ns	ns	ns	ns	-0,796*	ns	ns	ns	ns	ns
	Chl totales	0,908**	0,815**	0,918**	0,888**	ns	-0,813**	ns	ns	-0,675*	-0,896**	-0,902**	ns	ns	ns	ns
	DO ₄₃₅ /DO ₄₁₅	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	MDA	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
couvert	Caroténoïdes	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-0,674*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
(n=9)	Chl a	ns	0,691*	ns	ns	ns	-0,692*	-0,672*	-0,706*	ns	ns	-0,695*	-0,695*	-0,674*	-0,684*	-0,674*
	Chl b	0,733*	0,672*	0,734*	0,699*	ns	-0,671*	ns	ns	-0,726*	-0,713*	ns	ns	ns	ns	ns
	Chl totales	ns	0,705*	ns	ns	ns	-0,705*	ns	-0,703*	ns	ns	-0,686*	-0,685*	ns	-0,671*	ns
	DO ₄₃₅ /DO ₄₁₅	0,823**	0,843**	0,789*	0,681*	ns	-0,843**	-0,690*	-0,792*	-0,835**	-0,715*	-0,750*	-0,748*	-0,695*	-0,719*	-0,695*
	MDA	ns	0,693*	ns	ns	ns	-0,695*	-0,818**	-0,783*	ns	ns	-0,806**	-0,807**	-0,817**	-0,814**	-0,817**

ns: non significatif

* p<0,05

** p<0,01

*** p<0,001

III.4 DISCUSSION

III.4.1 Source, dépôt et accumulation de Cd et de Pb

Une comparaison des concentrations en éléments chimiques sur 5 sites, au cours des mois d'août et septembre 2001 (soit 68 jours d'exposition), montre une augmentation dans le temps de deux éléments : le Pb et le Cd. Les lichens ont une remarquable capacité pour l'absorption d'éléments chimiques d'origine atmosphérique. Les lichens adsorbent et accumulent, parfois à de très fortes concentrations, le Pb et le Cd. Ces éléments chimiques toxiques se localisent aux niveaux extracellulaires et intracellulaires, car les affinités de ces éléments avec respectivement les sites de liaisons des membranes cellulaires et les groupes fonctionnels intracellulaires, sont fortes (Garty, 2001). Cependant, les processus d'absorption des éléments chimiques au niveau extracellulaire sont rapides, passifs, réversibles et non affectés par des inhibiteurs métaboliques (Nieboer *et al.*, 1978; Burton *et al.*, 1981) alors qu'ils sont plus lents, actifs et étroitement liés au métabolisme au niveau intracellulaire (Beckett et Brown, 1984; Brown et Beckett, 1984). L'accumulation de Pb et de Cd, observée seulement après deux mois d'exposition sur les différents sites, reflèterait une adsorption au niveau extracellulaire qui dépend fortement de l'intensité de l'exposition. Nous allons discuter des différents cas de figures rencontrés, d'abord pour le Cd, puis pour le Pb.

III.4.1.1 Cadmium

Les sources anthropiques de Cd sont liées à l'industrie des éléments chimiques non ferreux (fonderie de zinc par ex.), la sidérurgie, la combustion de charbons et de fiouls et l'incinération des déchets. Le Cd atmosphérique est associé aux particules fines (diamètre d'env. 1 μm), ce qui autorise son transport sur de longues distances. Les phénomènes d'accumulation, de rétention, de localisation et de toxicité de Cd chez les lichens sont bien documentés (Garty, 1993, 2001). Ces quantités dans *Hypogymnia physodes* étaient faibles ou non significatives dans les sites de Mont Saint-Quentin et de Florange. A l'inverse ces concentrations montraient une augmentation, significative ou non, sur les sites périurbains de Scy-Chazelles et de Moyeuve-Grande, quel que soit le type de dispositif. Le principal processus responsable de ces dépôts de Cd est probablement rattaché aux transports sur de longues distances de cet élément (Bargagli, 1998). Sous l'effet des vents, le Cd associé aux aérosols atmosphériques peut causer une augmentation des concentrations dans les lichens indépendamment des protections contre les précipitations. En effet, les sites de Scy-Chazelles et de Moyeuve-Grande sont situés dans des milieux plus

exposés aux vents que ceux de Mont Saint-Quentin et de Florange, protégés par de la végétation. De plus, la présence de Cd dans ces dépôts secs, dépendants de la direction des vents et donc des sources locales d'émissions, expliquerait la grande variabilité des résultats analytiques sur le site de Florange, situé au Sud de la basse vallée sidérurgique de la Fensch (aciéries, métallurgies, laminoirs), en opposition des sites de Scy-Chazelles et de Moyeuvre-Grande, situés dans des zones périurbaines. Le profil des dépôts du site de Thionville-Autoroute montre cependant une contribution plus importante des dépôts humides expliquée i) par le lessivage de l'atmosphère par les précipitations contenant du Cd ou ii) par le lessivage de la surface du thalle sur laquelle des particules contenant du Cd associées au trafic autoroutier se sont déposées. En effet, le cadmium est produit par l'usure des pièces mécaniques, galvanisées, des pneumatiques et des lubrifiants; il est issu également de la dégradation des glissières de sécurité (Deletraz et Paul, 1998). Compte tenu de la proximité immédiate de l'autoroute, quelques dizaines de mètres seulement, notre seconde hypothèse semble la plus probable.

III.4.1.2 Plomb

La principale source de Pb dans les lichens, comme *H. physodes* dans le cas de notre étude, est le trafic automobile. Le Pb est bien connu comme traceur des essences au plomb et par conséquent de pollution automobile. De même que pour le Cd (cf. références données pour le Cd), une abondante documentation existe concernant i) les processus biologiques impliquant le Pb chez les lichens et ii) les concentrations de Pb mesurées chez *H. physodes* à travers le monde. Les données bibliographiques montrent généralement une diminution des concentrations de Pb suite à la suppression de l'utilisation de plomb tétraéthyle dans les carburants dans de nombreux pays. Cette suppression, commencée au 1^{er} janvier 2000 conformément à la directive européenne 98/78/CE, a conduit en France à une division par trois des émissions de plomb au cours de l'année 2000 selon le Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement (2001). Toutefois, les augmentations des concentrations de Pb, clairement observées au niveau des dispositifs découverts, montrent une exposition à la pollution automobile encore bien présente dans tous les sites. Il n'est pas surprenant que l'accumulation de Pb soit la plus forte à Thionville-Autoroute compte tenu de la proximité d'un trafic autoroutier important de plus de 62000 véhicules.jour⁻¹ (Direction Régional de l'Équipement de Lorraine, 1998). Les dépôts de Pb sur les autres sites mettent en évidence i) des émissions automobiles, provenant de la route périurbaine "N3" et de l'autoroute "A31" situées respectivement à 110 m et à 950 m de distance du site de Scy-Chazelles, ii) des émissions industrielles de la vallée de la Fensch sur le site Florange, et iii) des émissions mixtes sur le site de Moyeuvre-Grande (alt. 300 m) surplombant la vallée avec ses routes et ses industries sidérurgiques (alt. 175 m). Le site du Mont Saint-

Quentin est situé sur une pente (alt. 275 m) et séparé des routes les plus proches par une prairie et des haies. Cependant ce site est placé sous les vents dominants qui se chargent du transport du Pb émis par les véhicules en contrebas (alt. 180-250 m). Cette augmentation des concentrations de Pb observée dans le site de prélèvement des lichens pourrait être expliquée par la grande capacité d'accumulation des jeunes thalles ayant servi dans notre étude.

III.4.2 Stress hydrique, exposition à l'ozone et relargage métallique

Les récentes études qui utilisent la technique de transplantation des lichens pour le suivi de la qualité de l'air, s'intéressent aux rôles des polluants gazeux particuliers, au niveau de l'accumulation d'éléments traces (Jeran *et al.*, 1996 ; Bennett et Wetmore, 1997; Garty *et al.*, 1997 ; Budka *et al.*, 2002), ou particuliers et gazeux, au niveau des changements biologiques (Häffner *et al.*, 2001; Garty *et al.*, 2002). Notre étude montre que la capacité de biosorption d'*H. physodes* est influencée par des polluants gazeux en deux semaines.

III.4.2.1 Perte d'éléments chimiques chez les lichens

Un grand nombre d'éléments a été perdu par les lichens au cours du mois d'août 2001, puis parfois regagné sans atteindre les concentrations initiales au mois de septembre 2001. Cette tendance concerne des éléments associés à des poussières du sol (Ce, Rb, Ti, V) et à des émissions polluantes (As, Cr, Cu, Fe). Le relargage d'éléments chimiques contenus dans les thalles des lichens est connu (Nieboer *et al.*, 1978 ; Trembley *et al.*, 1997) mais pas toujours pris en compte. Par exemple, Bennett *et al.* (1996) montrent que les concentrations de 20 éléments chez *H. physodes* transplanté le long du lac Michigan varient sur une période de 3 ans, mais ils n'expliquent pas la baisse temporaire qu'ils observent pour un certain nombre d'éléments au cours des premiers mois de transplantation. Après une période sèche, les pluies peuvent causer le déplacement de cations et la modification élémentaire des membranes cellulaires (Bargagli, 1998). Les lichens opéreraient comme une résine échangeuse d'ions en biosorbant les ions métalliques extracellulaires des apports atmosphériques et relargueraient des ions H^+ ou des ions métalliques de faibles affinités de liaisons (Richardson et Nieboer, 1981 ; Richardson, 1992). De récents travaux (Reis *et al.*, 1999, 2002) tendent à montrer que des lichens placés dans un nouvel environnement requièrent un certain temps pour atteindre un équilibre après quoi ils accumuleraient les éléments chimiques plus efficacement. Les résultats de Bennett *et al.* (1996) vont dans ce sens puisque les concentrations des éléments ne se stabilisent qu'au cours de la première année de transplantation.

III.4.2.2 Stress hydrique et précipitations

L'intérêt de l'utilisation dans notre étude de deux types de dispositifs est manifeste lorsque les profils de concentrations en éléments chimiques obtenues à partir des lichens exposés ou non aux précipitations sont comparés : la perte d'éléments chimiques s'est produite de façon plus importante chez les lichens non exposés aux précipitations que ceux exposés. Cette constatation nous permet d'écarter le rôle prépondérant des précipitations comme phase mobile entraînant par élution les éléments chimiques dont les concentrations diminuent chez les lichens. L'absorption d'eau liquide ou de vapeur d'eau joue un rôle très important de protection contre le stress hydrique lié à la dessiccation chez les lichens (Kranmer et Grill, 1994; Kranmer, 2002). L'augmentation de stress oxydant et des espèces chimiques actives de l'oxygène durant un déficit d'eau est connu chez la plupart des organismes poïkilohydriques (Dat *et al.*, 2000) comme chez les lichens (Kranmer et Lutzoni, 1999). Aussi, de nombreuses études montrent des pertes d'éléments, en plus de K^+ , suite à un stress oxydant dans le cas d'une exposition à une pollution. Bien que le stress hydrique induise un stress oxydant, celui-ci ne conduit à des lésions membranaires importantes que dans des cas extrêmes, du fait de l'adaptation physiologique des lichens à la poïkilohydrie (Kranmer et Lutzoni, 1999). Dans notre cas, *H. physodes* a été isolé d'eau liquide pendant au moins 14 jours, mais la vapeur d'eau, sous forme de brouillard ou d'humidité nocturne par exemple, a pu permettre une résistance du lichen à la dessiccation. Ces conditions expérimentales étaient d'ailleurs similaires à celles rencontrées lors d'un épisode anticyclonique non pluvieux dans des conditions naturelles. Or, nous avons clairement montré que la moyenne des concentrations standardisées de certains éléments (As, Ce, Cr, Cu, Fe, La, Rb, Ti, V) chez *H. physodes* avait diminué au cours du mois d'août 2001 sur l'ensemble des sites, mais que cette baisse avait été généralement plus forte et plus longue lorsque les lichens avaient été protégés des précipitations. Cette constatation implique, qu'en plus d'un stress hydrique, d'autres facteurs atmosphériques ont conduit au relargage d'éléments chimiques. Notre étude suggère que des polluants gazeux et oxydants, aux concentrations très fortes au mois d'août puis faibles au mois de septembre, pourraient être ces facteurs atmosphériques aux effets délétères.

III.4.2.3 Stress oxydant et ozone

L'O₃, le NO et le NO₂ sont en effet de puissants agents de la peroxydation lipidique : l'effet principal de l'O₃ par exemple sur les lichens est la détérioration des membranes cellulaires (Conti et Cecchetti, 2001). Or, les membranes cellulaires des lichens (essentiellement au niveau

du champignon) ont un rôle important de liaison et de localisation d'éléments traces métalliques issus du piégeage de particules véhiculées dans l'atmosphère (Garty, 2001). Les phénomènes de séquestration, mobilisation et transformation des éléments chimiques et des métalloïdes coexistent au niveau extracellulaire et intracellulaire de façon étroite avec le métabolisme et la vitalité du lichen (Garty, 2001). Notre hypothèse consiste à suspecter les fortes concentrations d'ozone mesurées à très court terme dans la destruction des membranes cellulaires qui impliquerait une diminution des capacités de biosorption du lichen *Hypogymnia physodes*. Quelques récents résultats tirés de la littérature appuient cette hypothèse. Scheidegger et Schroeter (1995) montrent que des fumigations à long terme (80 jours) d'ozone ($180 \mu\text{g.m}^{-3}$ le jour, $80 \mu\text{g.m}^{-3}$ la nuit) causent une réduction significative des capacités maximales de la réaction primaire de la photosynthèse ainsi qu'un stress important du photosystème II chez cinq lichens dont *Hypogymnia bitteri*. De même, Carreras et Pignata (2001) observent que la dégradation des pigments chlorophylliens et le malondialdéhyde entre autres augmentent également chez *Usnea amblyoclada* en hiver où les plus hauts niveaux d'ozone et d'autres polluants sont atteints. De plus, Egger *et al.* (1994) indiquent l'augmentation de la production de deux éléments du stress oxydant (malondialdéhyde et superoxyde dismutase) chez *Hypogymnia physodes* qui avait été transplanté dans des sites hautement pollués avec des concentrations mensuelles d' O_3 de 20 à $198 \mu\text{g.m}^{-3}$. Enfin, Tarhanen *et al.* (1997) relatent une diminution de la conductivité des pertes électrolytiques chez *H. physodes* exposé en chambre de fumigation à 40 ($78 \mu\text{g.m}^{-3}$) et 150 ppb ($294 \mu\text{g.m}^{-3}$) pendant 2 semaines et à l'inverse une augmentation à 300 ppb d'ozone ($588 \mu\text{g.m}^{-3}$) après 4 semaines. Les premiers niveaux de concentrations, similaires à ceux que nous avons rencontrés, engendrent bien une altération des membranes qui aurait pu conduire à une diminution des concentrations dans le thalle. De plus, la comparaison des scénarios de pollutions d' O_3 et NO_x rencontrés sur nos sites renseigne sur la relation entre les polluants gazeux et les teneurs en éléments des lichens : par exemple le site de Moyeuve-Grande avec des fortes valeurs d' O_3 montre une perte d'éléments chimiques plus importante à l'inverse du site de Thionville-Autoroute où les valeurs d' O_3 étaient plus faibles.

CHAPITRE IV. CONCLUSIONS GENERALES ET PERSPECTIVES

En bioindication lichénique, beaucoup de méthodes ont été développées, notamment en Europe, et certaines d'entre elles ont été reconnues par la réglementation nationale de plusieurs pays européens. Malgré cela, ces méthodes standardisées, en faveur d'une plus grande accessibilité et uniformité de la bioindication, écartent parfois les possibilités de développement de techniques plus expérimentales et sophistiquées. C'est pourquoi, les investigations menées dans cette thèse visent à contribuer à un développement méthodologique et conceptuel dans le domaine de la bioindication lichénique. Les deux chapitres de cette thèse présentent une partie spécifique de deux méthodologies employées en bioindication, l'utilisation d'une grille d'échantillonnage des lichens épiphytes pour le diagnostic de la qualité de l'air (Chapitre II) et la transplantation de lichens pour évaluer les effets de polluants gazeux sur la biochimie des lichens (Chapitre III).

Développement d'une nouvelle technique d'échantillonnage et d'analyse des communautés lichéniques épiphytes

La technique de photographies de tronc d'arbre que nous avons développée est très utile pour l'étude de la végétation lichénique épiphytique. Un ensemble de photographies de haute-résolution peut être utilisé avec succès aussi bien pour un échantillonnage systématique pour l'étude de la flore lichénique que pour le tracé des contours des thalles de lichens et par la suite pour une analyse fine de la distribution des lichens.

Avec notre expérience sur cette technique, il est possible de déterminer la localisation et la superficie des thalles de lichens sur une cartographie de l'écorce autour d'un tronc d'arbre. La cartographie des lichens et le jeu de données constitué des coordonnées associées pourraient être utilisés efficacement pour faire le lien entre le relevé et le diagnostic de la qualité de l'air, avec des perspectives sur : i) les techniques d'échantillonnages stratifiés aléatoires des communautés lichéniques épiphytes basées sur l'interprétation de photographies, ii) les techniques d'échantillonnage multi-échelles pour évaluer l'efficacité des grilles d'échantillonnages classiquement utilisées en bioindication et iii) les techniques de Systèmes d'Informations Géographiques (SIG) et les géotraitements statistiques pour étudier les variations floristiques et écologiques pour chaque point d'échantillonnage.

Une fois que la photographie est prise et traitée numériquement, elle peut être utilisée autant de fois que désiré. Cette technique développée pour la cartographie des lichens épiphytes n'est néanmoins adaptée que pour la comparaison spatio-temporelle de la structure de la flore lichénique à de petites échelles. Pour un usage plus large et plus fréquent de cette méthode, un appareil photographique numérique peut être utilisé pour enregistrer un grand nombre d'images dans une mémoire qui peuvent être transférées vers un ordinateur. Un tel équipement numérique

évite le coût lié au développement des photographies, élimine un délai entre le moment où la photographie est prise et les analyses qui en découlent et garantit une homogénéité de la qualité de l'image. Dans cette étude de faisabilité, toutes les étapes (photographie, numérisation, traitement, digitalisation) ont été réalisées manuellement, ce qui a rendu le travail long et fastidieux dès qu'il faut multiplier les cas d'étude. Aujourd'hui, le perfectionnement et la qualité des technologies numériques permettent d'automatiser certaines de ces tâches (photographie numérique, logiciel de fusion et d'analyse d'images) et d'augmenter très significativement le rendement de la technique (quelques heures de travail au lieu de quelques semaines). L'expérience accumulée dans le travail de cette thèse va nous permettre de développer l'année prochaine, dans le cadre d'un programme PRIMEQUAL^a, un outil automatisé et de meilleure qualité, dont l'objectif sera d'améliorer les connaissances dans le domaine de la bioindication lichénique.

Changements des paramètres biologiques et chimiques chez *Hypogymnia physodes* attribuables à l'action de polluants gazeux

Les résultats présentés montrent que des polluants gazeux photo-oxydants à des concentrations réelles de terrain affectent significativement la physiologie du lichen *Hypogymnia physodes* et ses teneurs en éléments chimiques. Cependant, les lichens exposés aux précipitations, nécessaires à leurs activités métaboliques, montrent des altérations biologiques et des modifications chimiques moins importantes que ceux isolés des pluies. Ainsi, les précipitations jouent un rôle essentiel en faveur de la résistance des lichens aux stress hydriques et oxydants subits lors des périodes de sécheresse du thalle, en revanche elles contribuent aux dépôts d'éléments chimiques potentiellement phytotoxiques et aux lessivages d'autres. Les interactions entre les polluants gazeux et les flux d'éléments chimiques dans les différents états d'hydratation des lichens sont des phénomènes complexes. Premièrement, la caractérisation des systèmes de défense des lichens contre le stress hydrique et oxydant sera nécessaire pour une meilleure compréhension de la tolérance des lichens aux périodes de sécheresse et aux polluants gazeux photo-oxydants. Deuxièmement, ces réponses biologiques devront intégrer les phénomènes de dépôts d'éléments chimiques dont les aspects d'absorption et d'accumulation dans les thalles encouragent la recherche vers l'écophysiologie lichénique. Enfin, l'impact des polluants gazeux sur les capacités de bioaccumulation devra être quantifié pour améliorer la fiabilité des suivis en bioindication. En effet, notre hypothèse implique que dans des régions où l'O₃ est le principal

^a Programme de Recherche Interorganisme pour une MEilleure Qualité de l'Air à l'échelle Locale

polluant atmosphérique, les changements biologiques provoqués par un stress oxydant pourraient affecter significativement les concentrations en éléments chimiques dans le thalle. Par conséquent, les choix de sites d'études, pour la transplantation par exemple, tiendront compte de la présence d'un tel polluant et les résultats des déterminations analytiques devront clairement distinguer les facteurs conduisant à une variabilité de concentrations d'éléments chimiques dans les thalles.

Cette thèse ouvre ainsi des perspectives nouvelles dans l'informatisation et l'amélioration du diagnostic de la qualité de l'air par les lichens, ainsi que dans une meilleure compréhension des mécanismes de réponse des champignons lichénisés aux pollutions atmosphériques.

ANNEXES

Annexe 1. Calcul des coordonnées des points d'intersection d'une ligne avec un cercle (Weisstein, 2002)	117
Annexe 2. Algorithme de découpage, de redressement et de juxtaposition des images	119
Annexe 3. Typologie des stations de surveillance de la qualité de l'air. (Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement, 2001)	123
Annexe 4. Concentrations de O₃ et de NO₂ au niveau de quatre stations AERFOM pour trois périodes d'exposition des lichens	127
Annexe 5. Concentrations de PS et de SO₂ au niveau de trois stations AERFOM pour trois périodes d'exposition des lichens	129
Annexe 6. Tukey's Honestly Significant Difference Method (Lane, 1993-2001)	131
Annexe 7. Phénomène de destruction et de balancement de NO, NO₂ et O₃	133

ANNEXE 1. CALCUL DES COORDONNEES DES POINTS D'INTERSECTION D'UNE LIGNE AVEC UN CERCLE (WEISSTEIN, 2002)

Circle-Line Intersection

[DOWNLOAD](#)
 Mathematica Notebook
 MathReader

A line determined by two points (x_1, y_1) and (x_2, y_2) may intersect a circle of radius r and center $(0, 0)$ in two imaginary points, a degenerate single point (corresponding to the line being tangent to the circle), or two real points. Defining

$$d_x = x_2 - x_1 \tag{1}$$

$$d_y = y_2 - y_1 \tag{2}$$

$$d_r = \sqrt{d_x^2 + d_y^2} \tag{3}$$

$$D = \begin{vmatrix} x_1 & x_2 \\ y_1 & y_2 \end{vmatrix} = x_1 y_2 - x_2 y_1 \tag{4}$$

gives the points of intersection as

$$x = \frac{D d_y \pm \text{sgn}^*(d_y) d_x \sqrt{r^2 d_r^2 - D^2}}{d_r^2} \tag{5}$$

$$y = \frac{-D d_x \pm |d_y| \sqrt{r^2 d_r^2 - D^2}}{d_r^2}, \tag{6}$$

where the function sgn^* is defined as

$$\text{sgn}^*(x) \equiv \begin{cases} -1 & \text{for } x < 0 \\ 1 & \text{otherwise.} \end{cases} \tag{7}$$

The discriminant

$$\Delta \equiv r^2 d_r^2 - D^2 \tag{8}$$

therefore determines the incidence of the line and circle as summarized in the following table.

Δ	Incidence
$\Delta < 0$	no intersection
$\Delta = 0$	tangent
$\Delta > 0$	intersection

Pour un complément d'informations sur le développement de cette méthode, le lecteur pourra se référer à Burch (1999).

ANNEXE 2. ALGORITHME DE DECOUPAGE, DE REDRESSEMENT ET DE JUXTAPOSITION DES IMAGES

```
'Fichier DecoupJuxtImage_v2.csc
'créé le Monday, December, 18, 2000
'par Jonathan SIGNORET (c) - Université de Metz
'Ouvrir dans Corel Script Editor

'ATTENTION, mettre Option en Pixels dans CORELPP7
```

```
'-----
'Script permettant de découper,
'de déplacer et de juxtaposer
'des sections verticales redimensionnées
'(à 30px de large) d'une image
'-----
```

```
'Largeur max de la photo traitée en pixels (cf. dans CorelPP7, Image, Informations)
GLOBAL CONST larg%=1101
'Hauteur max de la photo traitée en pixels (cf. dans CorelPP7, Image, Informations)
GLOBAL CONST ht%=1672
```

```
'Pas centimétrique(nb de pixels à partir du bord gauche de la photo)
GLOBAL CONST a%=163
GLOBAL CONST b%=194
GLOBAL CONST c%=225
GLOBAL CONST d%=256
GLOBAL CONST e%=288
GLOBAL CONST f%=320
GLOBAL CONST g%=352
GLOBAL CONST h%=384
GLOBAL CONST i%=417
GLOBAL CONST j%=450
GLOBAL CONST k%=482
GLOBAL CONST l%=515
GLOBAL CONST m%=549
GLOBAL CONST n%=582
GLOBAL CONST o%=615
GLOBAL CONST p%=648
GLOBAL CONST q%=681
GLOBAL CONST r%=714
GLOBAL CONST s%=747
GLOBAL CONST t%=780
GLOBAL CONST u%=813
GLOBAL CONST v%=846
GLOBAL CONST w%=879
GLOBAL CONST x%=911
GLOBAL CONST y%=0
GLOBAL CONST z%=0
GLOBAL CONST aa%=0
GLOBAL CONST ba%=0
GLOBAL CONST ca%=0
GLOBAL CONST da%=0
GLOBAL CONST ea%=0
GLOBAL CONST fa%=0
GLOBAL CONST ga%=0
GLOBAL CONST ha%=0
GLOBAL CONST ia%=0
GLOBAL CONST ja%=0
GLOBAL CONST ka%=0
GLOBAL CONST la%=0
GLOBAL CONST ma%=0
GLOBAL CONST na%=0
GLOBAL CONST oa%=0
GLOBAL CONST pa%=0
GLOBAL CONST qa%=0
GLOBAL CONST ra%=0
GLOBAL CONST sa%=0
GLOBAL CONST ta%=0
GLOBAL CONST ua%=0
```

GLOBAL CONST va%=0
 GLOBAL CONST wa%=0
 GLOBAL CONST xa%=0
 GLOBAL CONST ya%=0
 GLOBAL CONST za%=0

WITHOBJECT "CorelPhotoPaint.Automation.7"

'Agrandissement de la taille du papier

'Placement du coin haut à gauche de l'image d'origine à la position x=1000, y=0
 .ImagePapersize 3000, ht%, 3000-larg%, 0, 5, 255, 255, 255, 0

'Sélection d'une zone de largeur a% pixels sur une hauteur de ht% pixels

.MaskRectangle (3000-larg%)+a%, 0, (3000-larg%)+b%, ht%, 0, 0

'Déplacement de cette zone dans le coin haut-gauche du nouveau papier

.MaskFloaterMoveTo -(((3000-larg%)+a%)-30), -0, FALSE

'Transforme un masque en objet, sans quoi pas possible d'étendre à 30px de large

.ObjectCreate TRUE

'Modification de la largeur de cette zone pour atteindre 30 pixels de large

.ObjectDistort 0, 0, 30*1, 0, 30*1, ht%, 0, ht%

'Répétition pour l'ensemble des autres zones(=colonnes)

.MaskRectangle (3000-larg%)+b%+1, 0, (3000-larg%)+c%, ht%, 0, 0

.MaskFloaterMoveTo -(((3000-larg%)+b%)-30), -0, FALSE

.ObjectCreate TRUE

.ObjectDistort 30*1, 0, 30*2, 0, 30*2, ht%, 30*1, ht%

.MaskRectangle (3000-larg%)+c%+1, 0, (3000-larg%)+d%, ht%, 0, 0

.MaskFloaterMoveTo -(((3000-larg%)+c%)-30), -0, FALSE

.ObjectCreate TRUE

.ObjectDistort 30*2, 0, 30*3, 0, 30*3, ht%, 30*2, ht%

.MaskRectangle (3000-larg%)+d%+1, 0, (3000-larg%)+e%, ht%, 0, 0

.MaskFloaterMoveTo -(((3000-larg%)+d%)-30), -0, FALSE

.ObjectCreate TRUE

.ObjectDistort 30*3, 0, 30*4, 0, 30*4, ht%, 30*3, ht%

.MaskRectangle (3000-larg%)+e%+1, 0, (3000-larg%)+f%, ht%, 0, 0

.MaskFloaterMoveTo -(((3000-larg%)+e%)-30), -0, FALSE

.ObjectCreate TRUE

.ObjectDistort 30*4, 0, 30*5, 0, 30*5, ht%, 30*4, ht%

.MaskRectangle (3000-larg%)+f%+1, 0, (3000-larg%)+g%, ht%, 0, 0

.MaskFloaterMoveTo -(((3000-larg%)+f%)-30), -0, FALSE

.ObjectCreate TRUE

.ObjectDistort 30*5, 0, 30*6, 0, 30*6, ht%, 30*5, ht%

.MaskRectangle (3000-larg%)+g%+1, 0, (3000-larg%)+h%, ht%, 0, 0

.MaskFloaterMoveTo -(((3000-larg%)+g%)-30), -0, FALSE

.ObjectCreate TRUE

.ObjectDistort 30*6, 0, 30*7, 0, 30*7, ht%, 30*6, ht%

.MaskRectangle (3000-larg%)+h%+1, 0, (3000-larg%)+i%, ht%, 0, 0

.MaskFloaterMoveTo -(((3000-larg%)+h%)-30), -0, FALSE

.ObjectCreate TRUE

.ObjectDistort 30*7, 0, 30*8, 0, 30*8, ht%, 30*7, ht%

.MaskRectangle (3000-larg%)+i%+1, 0, (3000-larg%)+j%, ht%, 0, 0

.MaskFloaterMoveTo -(((3000-larg%)+i%)-30), -0, FALSE

.ObjectCreate TRUE

.ObjectDistort 30*8, 0, 30*9, 0, 30*9, ht%, 30*8, ht%

.MaskRectangle (3000-larg%)+j%+1, 0, (3000-larg%)+k%, ht%, 0, 0

.MaskFloaterMoveTo -(((3000-larg%)+j%)-30), -0, FALSE

.ObjectCreate TRUE

.ObjectDistort 30*9, 0, 30*10, 0, 30*10, ht%, 30*9, ht%

.MaskRectangle (3000-larg%)+k%+1, 0, (3000-larg%)+l%, ht%, 0, 0

.MaskFloaterMoveTo -(((3000-larg%)+k%)-30), -0, FALSE

.ObjectCreate TRUE

.ObjectDistort 30*10, 0, 30*11, 0, 30*11, ht%, 30*10, ht%

.MaskRectangle (3000-larg%)+l%+1, 0, (3000-larg%)+m%, ht%, 0, 0

.MaskFloaterMoveTo -(((3000-larg%)+l%)-30), -0, FALSE

.ObjectCreate TRUE

.ObjectDistort 30*11, 0, 30*12, 0, 30*12, ht%, 30*11, ht%

```

.MaskRectangle (3000-larg%)+m%+1, 0, (3000-larg%)+n%, ht%, 0, 0
.MaskFloaterMoveTo -(((3000-larg%)+m%)-30), -0, FALSE
.ObjectCreate TRUE
.ObjectDistort 30*12, 0, 30*13, 0, 30*13, ht%, 30*12, ht%

.MaskRectangle (3000-larg%)+n%+1, 0, (3000-larg%)+o%, ht%, 0, 0
.MaskFloaterMoveTo -(((3000-larg%)+n%)-30), -0, FALSE
.ObjectCreate TRUE
.ObjectDistort 30*13, 0, 30*14, 0, 30*14, ht%, 30*13, ht%

.MaskRectangle (3000-larg%)+o%+1, 0, (3000-larg%)+p%, ht%, 0, 0
.MaskFloaterMoveTo -(((3000-larg%)+o%)-30), -0, FALSE
.ObjectCreate TRUE
.ObjectDistort 30*14, 0, 30*15, 0, 30*15, ht%, 30*14, ht%

.MaskRectangle (3000-larg%)+p%+1, 0, (3000-larg%)+q%, ht%, 0, 0
.MaskFloaterMoveTo -(((3000-larg%)+p%)-30), -0, FALSE
.ObjectCreate TRUE
.ObjectDistort 30*15, 0, 30*16, 0, 30*16, ht%, 30*15, ht%

.MaskRectangle (3000-larg%)+q%+1, 0, (3000-larg%)+r%, ht%, 0, 0
.MaskFloaterMoveTo -(((3000-larg%)+q%)-30), -0, FALSE
.ObjectCreate TRUE
.ObjectDistort 30*16, 0, 30*17, 0, 30*17, ht%, 30*16, ht%

.MaskRectangle (3000-larg%)+r%+1, 0, (3000-larg%)+s%, ht%, 0, 0
.MaskFloaterMoveTo -(((3000-larg%)+r%)-30), -0, FALSE
.ObjectCreate TRUE
.ObjectDistort 30*17, 0, 30*18, 0, 30*18, ht%, 30*17, ht%

.MaskRectangle (3000-larg%)+s%+1, 0, (3000-larg%)+t%, ht%, 0, 0
.MaskFloaterMoveTo -(((3000-larg%)+s%)-30), -0, FALSE
.ObjectCreate TRUE
.ObjectDistort 30*18, 0, 30*19, 0, 30*19, ht%, 30*18, ht%

.MaskRectangle (3000-larg%)+t%+1, 0, (3000-larg%)+u%, ht%, 0, 0
.MaskFloaterMoveTo -(((3000-larg%)+t%)-30), -0, FALSE
.ObjectCreate TRUE
.ObjectDistort 30*19, 0, 30*20, 0, 30*20, ht%, 30*19, ht%

.MaskRectangle (3000-larg%)+u%+1, 0, (3000-larg%)+v%, ht%, 0, 0
.MaskFloaterMoveTo -(((3000-larg%)+u%)-30), -0, FALSE
.ObjectCreate TRUE
.ObjectDistort 30*20, 0, 30*21, 0, 30*21, ht%, 30*20, ht%

.MaskRectangle (3000-larg%)+v%+1, 0, (3000-larg%)+w%, ht%, 0, 0
.MaskFloaterMoveTo -(((3000-larg%)+v%)-30), -0, FALSE
.ObjectCreate TRUE
.ObjectDistort 30*21, 0, 30*22, 0, 30*22, ht%, 30*21, ht%

.MaskRectangle (3000-larg%)+w%+1, 0, (3000-larg%)+x%, ht%, 0, 0
.MaskFloaterMoveTo -(((3000-larg%)+w%)-30), -0, FALSE
.ObjectCreate TRUE
.ObjectDistort 30*22, 0, 30*23, 0, 30*23, ht%, 30*22, ht%

.MaskRectangle (3000-larg%)+x%+1, 0, (3000-larg%)+y%, ht%, 0, 0
.MaskFloaterMoveTo -(((3000-larg%)+x%)-30), -0, FALSE
.ObjectCreate TRUE
.ObjectDistort 30*23, 0, 30*24, 0, 30*24, ht%, 30*23, ht%

.MaskRectangle (3000-larg%)+y%+1, 0, (3000-larg%)+z%, ht%, 0, 0
.MaskFloaterMoveTo -(((3000-larg%)+y%)-30), -0, FALSE
.ObjectCreate TRUE
.ObjectDistort 30*24, 0, 30*25, 0, 30*25, ht%, 30*24, ht%

.MaskRectangle (3000-larg%)+z%+1, 0, (3000-larg%)+aa%, ht%, 0, 0
.MaskFloaterMoveTo -(((3000-larg%)+z%)-30), -0, FALSE
.ObjectCreate TRUE
.ObjectDistort 30*25, 0, 30*26, 0, 30*26, ht%, 30*25, ht%

.MaskRectangle (3000-larg%)+aa%+1, 0, (3000-larg%)+ba%, ht%, 0, 0
.MaskFloaterMoveTo -(((3000-larg%)+aa%)-30), -0, FALSE
.ObjectCreate TRUE
.ObjectDistort 30*26, 0, 30*27, 0, 30*27, ht%, 30*26, ht%

.MaskRectangle (3000-larg%)+ba%+1, 0, (3000-larg%)+ca%, ht%, 0, 0

```

```

.MaskFloaterMoveTo -(((3000-larg%)+ba%)-30), -0, FALSE
.ObjectCreate TRUE
.ObjectDistort 30*27, 0, 30*28, 0, 30*28, ht%, 30*27, ht%

.MaskRectangle (3000-larg%)+ca%+1, 0, (3000-larg%)+da, ht%, 0, 0
.MaskFloaterMoveTo -(((3000-larg%)+ca%)-30), -0, FALSE
.ObjectCreate TRUE
.ObjectDistort 30*28, 0, 30*29, 0, 30*29, ht%, 30*28, ht%

.MaskRectangle (3000-larg%)+da%+1, 0, (3000-larg%)+ea%, ht%, 0, 0
.MaskFloaterMoveTo -(((3000-larg%)+da%)-30), -0, FALSE
.ObjectCreate TRUE
.ObjectDistort 30*29, 0, 30*30, 0, 30*30, ht%, 30*29, ht%

.MaskRectangle (3000-larg%)+ea%+1, 0, (3000-larg%)+fa%, ht%, 0, 0
.MaskFloaterMoveTo -(((3000-larg%)+ea%)-30), -0, FALSE
.ObjectCreate TRUE
.ObjectDistort 30*30, 0, 30*31, 0, 30*31, ht%, 30*30, ht%

.MaskRectangle (3000-larg%)+fa%+1, 0, (3000-larg%)+ga%, ht%, 0, 0
.MaskFloaterMoveTo -(((3000-larg%)+fa%)-30), -0, FALSE
.ObjectCreate TRUE
.ObjectDistort 30*31, 0, 30*32, 0, 30*32, ht%, 30*31, ht%

.MaskRectangle (3000-larg%)+ga%+1, 0, (3000-larg%)+ha%, ht%, 0, 0
.MaskFloaterMoveTo -(((3000-larg%)+ga%)-30), -0, FALSE
.ObjectCreate TRUE
.ObjectDistort 30*32, 0, 30*33, 0, 30*33, ht%, 30*32, ht%

.MaskRectangle (3000-larg%)+ha%+1, 0, (3000-larg%)+ia%, ht%, 0, 0
.MaskFloaterMoveTo -(((3000-larg%)+ha%)-30), -0, FALSE
.ObjectCreate TRUE
.ObjectDistort 30*33, 0, 30*34, 0, 30*34, ht%, 30*33, ht%

.MaskRectangle (3000-larg%)+ia%+1, 0, (3000-larg%)+ja%, ht%, 0, 0
.MaskFloaterMoveTo -(((3000-larg%)+ia%)-30), -0, FALSE
.ObjectCreate TRUE
.ObjectDistort 30*34, 0, 30*35, 0, 30*35, ht%, 30*34, ht%

.MaskRectangle (3000-larg%)+ja%+1, 0, (3000-larg%)+ka%, ht%, 0, 0
.MaskFloaterMoveTo -(((3000-larg%)+ja%)-30), -0, FALSE
.ObjectCreate TRUE
.ObjectDistort 30*35, 0, 30*36, 0, 30*36, ht%, 30*35, ht%

.MaskRectangle (3000-larg%)+ka%+1, 0, (3000-larg%)+g%, la%, 0, 0
.MaskFloaterMoveTo -(((3000-larg%)+ka%)-30), -0, FALSE
.ObjectCreate TRUE
.ObjectDistort 30*36, 0, 30*37, 0, 30*37, ht%, 30*36, ht%

```

END WITHOBJECT

ANNEXE 3. TYPOLOGIE DES STATIONS DE SURVEILLANCE DE LA QUALITE DE L'AIR. (MINISTERE DE L'AMENAGEMENT DU TERRITOIRE ET DE L'ENVIRONNEMENT, 2001)

Les réseaux de surveillance de la qualité de l'air sont engagés dans une démarche de standardisation de leurs pratiques. Les informations suivantes sont extraites du document établi par le groupe de travail animé par l'ADEME : "Classification et critères d'implantation des stations de surveillance de la qualité de l'air, ADEME/Département Air et les associations agréées de surveillance". Aux appellations consacrées stations "de fond" et "de proximité" se substitue désormais la typologie suivante (les définitions des entités géographiques territoriales sont basées sur les définitions de l'I.N.S.E.E. du zonage urbain).

1. Les stations urbaines

L'objectif de ces stations est le suivi du niveau d'exposition moyen de la population aux phénomènes de pollution atmosphérique dite de "fond" dans les centres urbains. Les niveaux relevés par ces stations devront être représentatifs du niveau d'exposition moyen de la population résidente de l'agglomération considérée. Les stations devront être implantées dans les communes urbaines de type villes centres ou banlieues formant le pôle urbain des aires urbaines, et installées en priorité dans les zones représentatives des maxima de densité de population. Les sources responsables sont plutôt du type surfacique et multi-émetteurs. Les émetteurs se situent à l'intérieur de l'aire urbaine et sont les principaux facteurs de pollution atmosphérique. Les types d'émetteurs (nomenclature CITEPA) sont les suivants :

- Résidentiel, tertiaire, commercial, institutionnel ;
- Industrie y compris traitement des déchets ;
- Agriculture et sylviculture ;
- Extraction, transformation d'énergie et distribution ;
- Transport routier ;
- Modes de transports autres que routier ;
- Autres secteurs ou indifférenciés y compris nature ;
- Emetteurs non situés sur le territoire national.

Certains secteurs peuvent avoir une influence prédominante sur le comportement de la station. Un indicateur R peut servir à déterminer si une station est sous l'influence majeure du trafic routier à l'aide des concentrations d'oxyde d'azote. Ce seuil ainsi que la méthode de calcul pourront être révisés en fonction de l'amélioration des connaissances scientifiques. Le rapport

R de la moyenne annuelle de monoxyde d'azote sur celle de dioxyde d'azote doit être inférieur à 1,5 (ces concentrations sont exprimées en partie par billion).

$$R = \text{NO}/\text{NO}_2 < 1,5$$

2. Les stations périurbaines

L'objectif de ces stations est le suivi du niveau d'exposition moyen de la population à des maxima de pollution photochimique à la périphérie du centre urbain. Ces stations devront être représentatives du maximum des niveaux d'exposition moyens de la population de l'agglomération surveillée. Elles se situent en priorité dans un tissu urbanisé appartenant toujours à l'aire urbaine mais soit dans des communes urbaines de la couronne périurbaine soit dans des communes urbaines de type banlieue du pôle urbain (à la périphérie intérieure). Il est recommandé de rechercher un site représentatif de la densité maximale de population de la zone surveillée. Néanmoins, ce type de station doit être situé dans une zone où les conditions favorables à un épisode photochimique sont remplies et représentatives du risque individuel d'exposition des populations à des valeurs supérieures aux seuils de protection de la santé. Le rapport R de la moyenne annuelle de monoxyde d'azote sur celle de dioxyde d'azote doit être inférieur à 1,5 (ces concentrations sont exprimées en partie par billion).

$$R = \text{NO}/\text{NO}_2 < 1,5$$

Les sources responsables sont plutôt du type surfacique et multi-émetteurs. Dans ce cas, les émetteurs peuvent être dans la commune ou à l'extérieur de celle-ci (influence d'aires urbaines importantes). La station peut être influencée pour certains polluants par des émetteurs proches et pour d'autres par des émetteurs éloignés.

3. Les stations trafic

L'objectif de ces stations est de fournir des informations sur les concentrations mesurées dans des zones représentatives du niveau maximum d'exposition auquel la population située en proximité d'une infrastructure routière est susceptible d'être exposée. Ces stations peuvent être installées dans n'importe quel type de zone du territoire que ce soit dans un espace à dominante rurale ou urbaine. Elles se situent en priorité dans une zone représentative en terme de trafic et de population exposée (piétons, cyclistes, riverains, automobilistes). La catégorie d'émetteur dont l'influence doit être prédominante sur la station est le transport routier. Cette catégorie doit être représentative du niveau maximal dans la zone surveillée. Le rapport R des moyennes annuelles en monoxyde d'azote et en dioxyde d'azote doit être supérieur à 2 (ces concentrations sont exprimées en partie par billion).

$$R = \text{NO}/\text{NO}_2 > 2$$

4. Les stations industrielles

L'objectif de ces stations est de fournir des informations sur les concentrations représentatives du niveau maximum de pollution induit par des phénomènes de panache ou d'accumulation en proximité d'une source industrielle. Ce type de stations se situe en proximité ou à l'intérieur d'une zone ou d'un site industriel caractéristique en termes d'activité industrielle et de quantités de polluants émis. Cette catégorie doit être représentative d'une ou plusieurs source(s) industrielle(s) locale(s) importante(s) (la priorité est accordée aux sources soumises à la taxe parafiscale sur la pollution atmosphérique). La station peut être sous l'influence de plusieurs émetteurs d'une même zone industrielle. Les types d'émetteurs dont l'influence doit être prédominante sont les suivants :

- Industrie y compris traitement des déchets ;
- Extraction, transformation d'énergie et distribution.

5. Les stations rurales régionales

Ces stations participent à la surveillance de l'exposition des écosystèmes et de la population à la pollution atmosphérique de " fond ", notamment photochimique, dans les zones rurales. Elles participent à la surveillance de la qualité de l'air sur l'ensemble du territoire et notamment dans les zones très étendues à densité de population faible. Ces stations se situent dans l'espace à dominante rurale et sont dans des communes rurales dont la population et l'activité économique sont faibles. Elles peuvent être sous l'influence d'émissions locales faibles et ne perturbant pas la mesure de la pollution d'origine régionale (notamment photochimique). Cette catégorie de station doit permettre la surveillance de la pollution atmosphérique, notamment photochimique, à l'échelle régionale et notamment des panaches des zones urbaines proches. Elle participe à la surveillance des territoires dont la surface est grande et dont la densité de population est faible mais dont la population totale n'est pas négligeable. Les niveaux doivent être représentatifs d'une région donnée (le sens du mot région étant à prendre ici au sens climatologique du terme), c'est-à-dire représentatifs des différents flux météorologiques arrivant sur une zone donnée. Les polluants concernés peuvent être d'origine naturelle ou dus aux transports sur de longues distances à l'échelle régionale.

6. Les stations rurales nationales

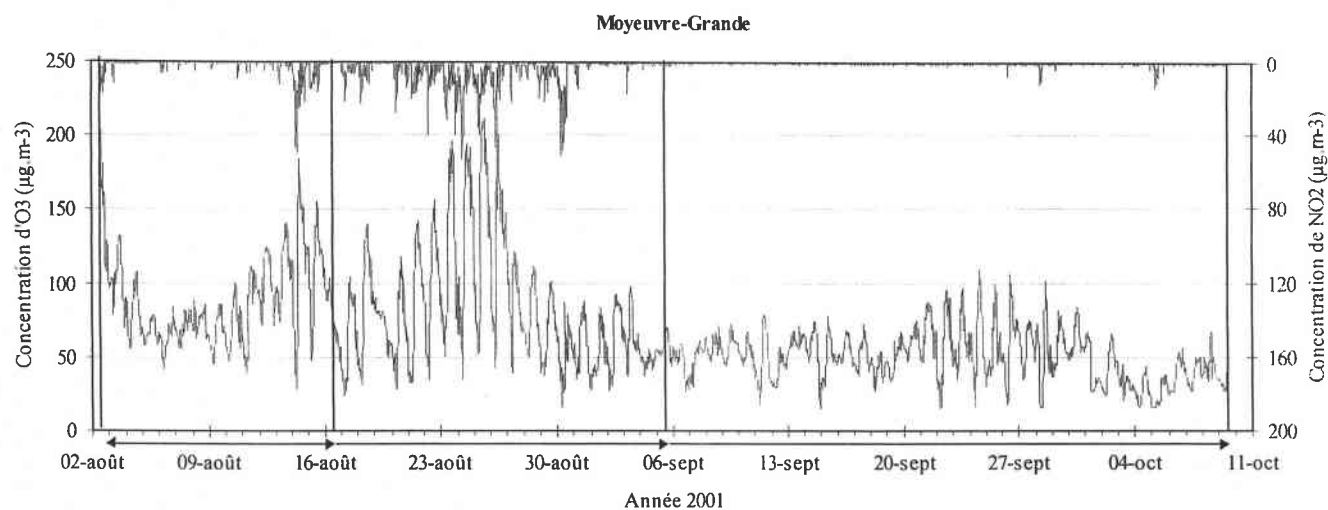
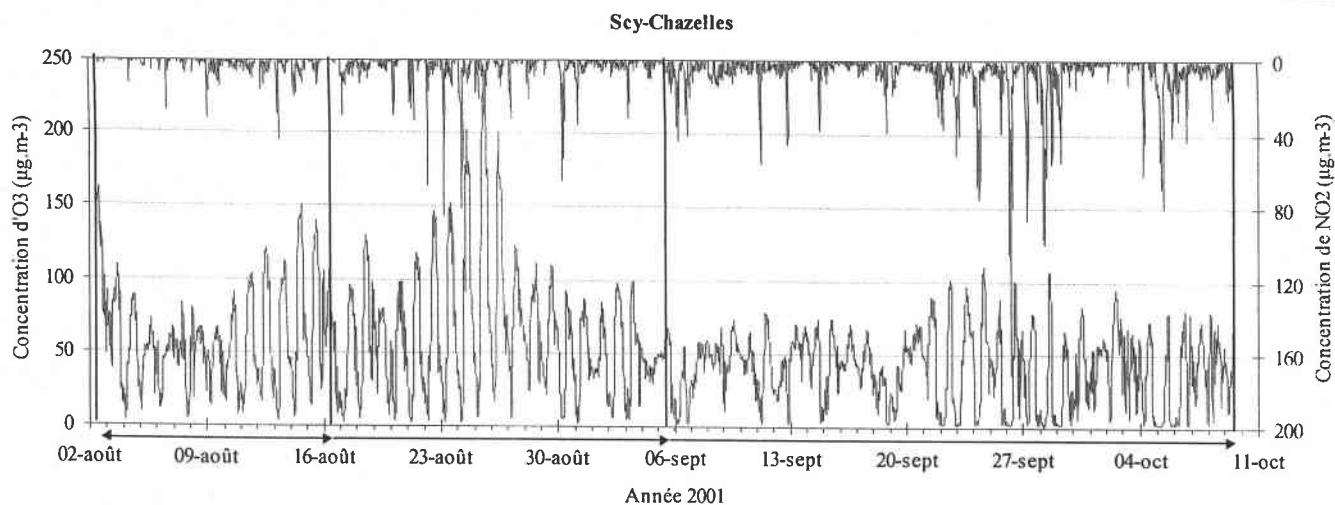
Ce sont les stations qui participent à la surveillance de fond du territoire national dans le cadre des conventions liées aux pollutions dites transfrontalières ou permettant de déterminer les niveaux de pollution de fond à l'échelle nationale dans les zones rurales. Ces stations participent à la surveillance dans les zones rurales de la pollution atmosphérique dite de fond issue des transports de masse d'air à longue distance notamment transfrontaliers.

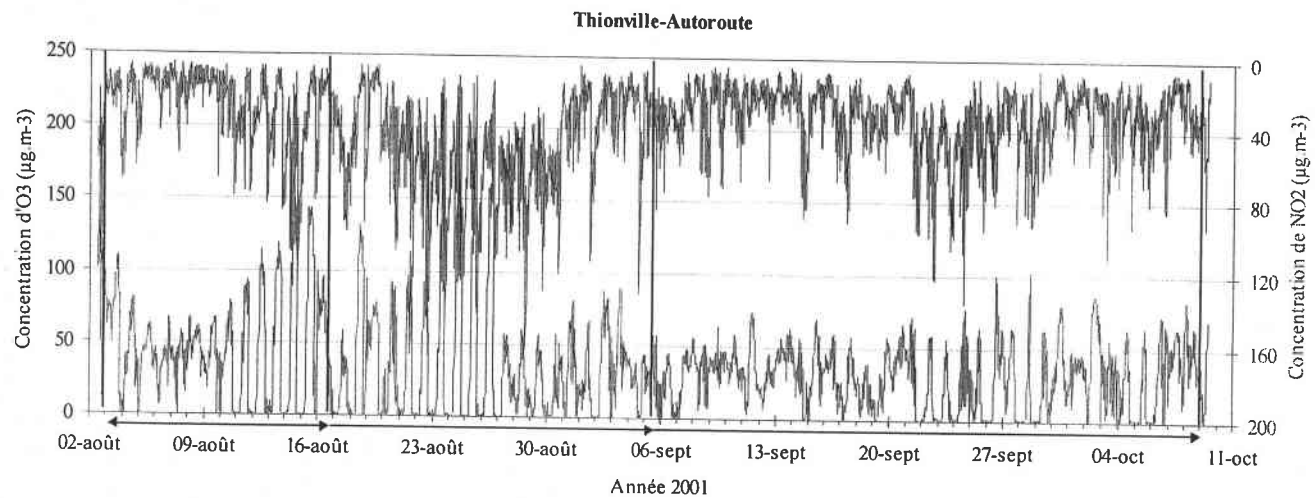
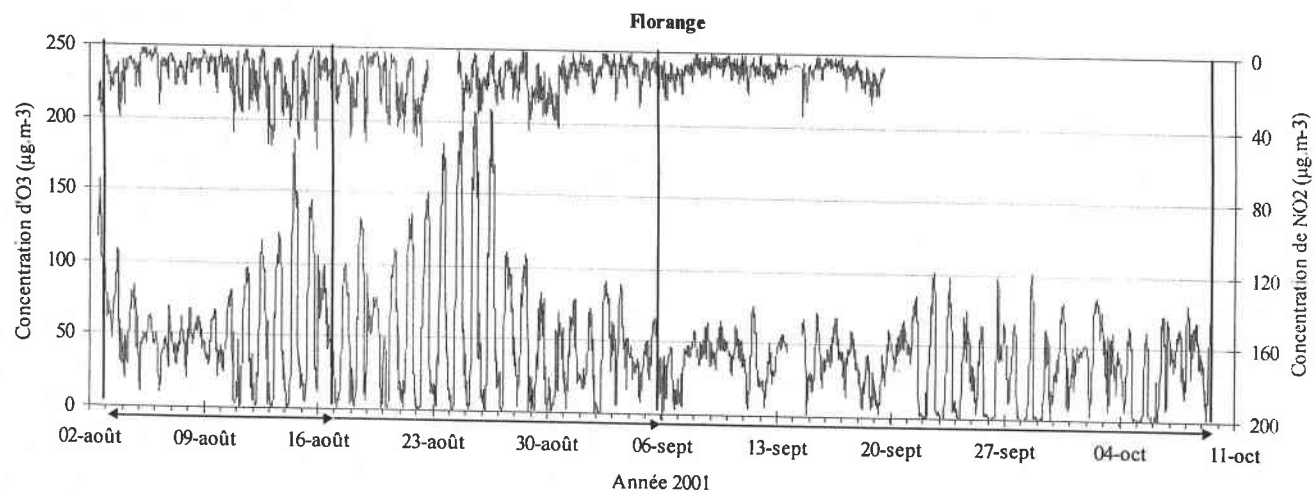
7. Les stations d'observation spécifique

Ce sont toutes les stations n'obéissant à aucun des critères des stations énumérées ci-dessus. Les fonctions prioritaires de ces stations sont :

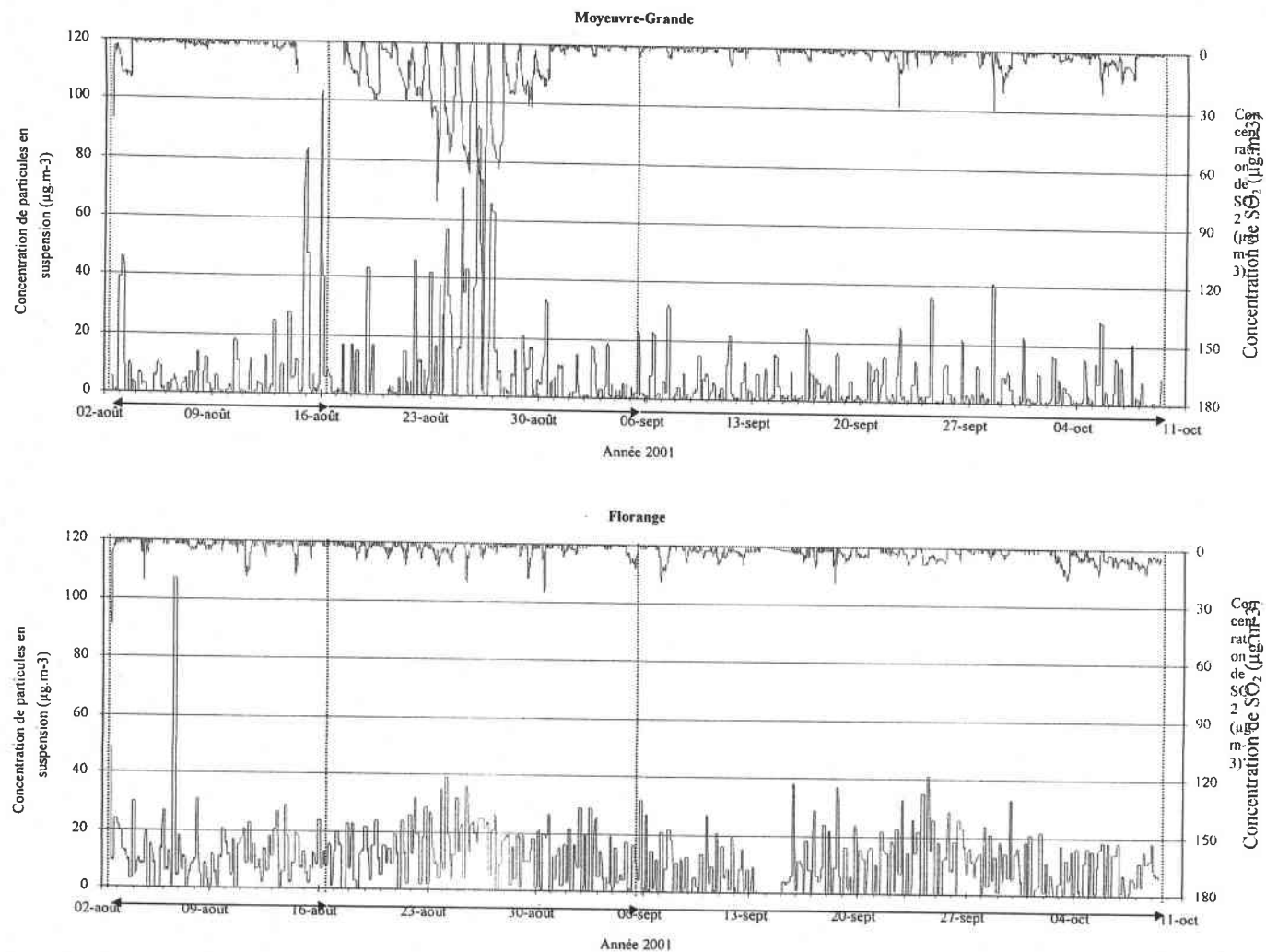
- 1) L'alimentation en information dans le cadre d'outils de modélisation de la pollution notamment photochimique. Ces stations peuvent être installées en fonction de besoins bien spécifiques (études épidémiologiques par exemple) ;
- 2) Les cas de configuration particulières ;
- 3) Les stations qui disposent d'un historique très important malgré un emplacement peu optimum.

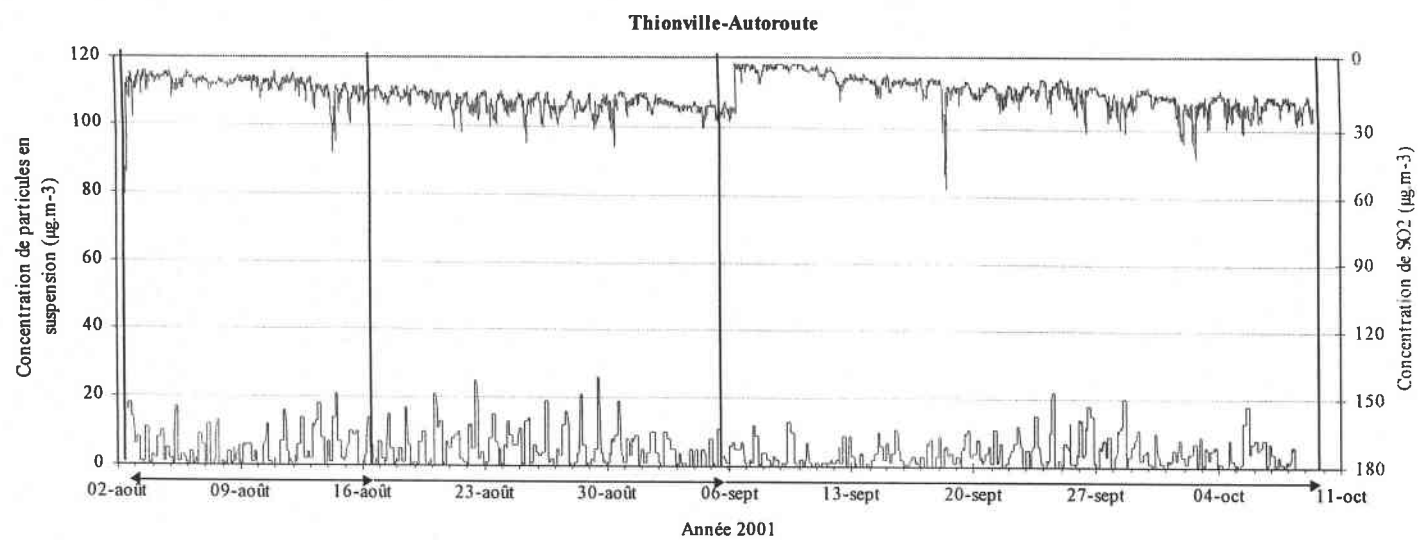
ANNEXE 4. CONCENTRATIONS DE O_3 ET DE NO_2 AU NIVEAU DE QUATRE STATIONS AERFOM POUR TROIS PERIODES D'EXPOSITION DES LICHENS





ANNEXE 5. CONCENTRATIONS DE PS ET DE SO₂ AU NIVEAU DE TROIS STATIONS AERFOM POUR TROIS PERIODES D'EXPOSITION DES LICHENS





ANNEXE 6. TUKEY'S HONESTLY SIGNIFICANT DIFFERENCE METHOD (LANE, 1993-2001)

The "Honestly Significantly Different" (HSD) test proposed by the statistician John Tukey is based on what is called the "studentized range distribution"¹. To test all pairwise comparisons among means using the Tukey HSD, compute t for each pair of means using the formula :

$$t_s = \frac{M_i - M_j}{\sqrt{\frac{MSE}{n_h}}}$$

where $M_i - M_j$ is the difference between the i th and j th means, MSE^2 is the Mean Square Error, and n_h is the harmonic mean³ of the sample sizes of groups i and j .

The critical value of t_s is determined from the distribution of the studentized range. The number of means in the experiment is used in the determination of the critical value, and this critical value is used for all comparisons among means. Typically, the largest mean is compared with the smallest mean first. If that difference is not significant, no other comparisons will be significant either, so the computations for these comparisons can be skipped.

The Tukey HSD procedure keeps the experimentwise error rate⁴ (EER) at the specified significance level. This is a great advantage. This advantage comes at a cost, however : the Tukey HSD is less powerful than other methods of testing all pairwise comparisons.

¹ The studentized range distribution is used for testing all differences among pairs of means. It is similar to the t distribution, differing only in that it takes into account the number of means under consideration. The more means under consideration, the larger the critical value of t_s (studentized t). This makes sense since the more means there are, the greater the likelihood that at least some differences between pairs of means will be large due to chance alone.

² The mean square error (MSE) is an estimate of the population variance in the analysis of variance. The mean square error is the denominator of the F ratio.

³ The harmonic mean is used to take the mean of sample sizes. If there are k samples each of size n , then the harmonic mean is defined as :

$$n_h = \frac{k}{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} + \dots + \frac{1}{n_k}}$$

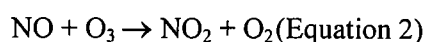
⁴ When a series of significance tests is conducted, the experimentwise error rate is the probability that one or more of the significance tests results in a Type I error. If the comparisons are independent, then the experimentwise error rate is : $\alpha_{ew} = 1 - (1 - \alpha_{pc})^c$.

where α_{ew} is experimentwise error rate, α_{pc} is the per-comparison error rate, and c is the number of comparisons. For example, if 5 independent comparisons were each to be done at the 0,05 level, then the probability that at least one of them would result in a Type I error is : $1 - (1 - 0,05)^5 = 0,226$.

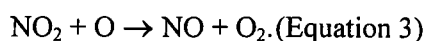
If the comparisons are not independent then the experimentwise error rate is less than $1 - (1 - \alpha_{pc})^c$. Finally, regardless of whether the comparisons are independent, $\alpha_{ew} \leq (c)(\alpha_{pc})$. For this example, $0,226 < (5)(0,05) = 0,25$.

ANNEXE 7. PHENOMENE DE DESTRUCTION ET DE BALANCEMENT DE NO, NO₂ ET O₃

Les relations entre NO, NO₂ et O₃ trouveraient leur explication dans le phénomène de destruction et de balancement de l'ozone (Kley *et al.* 1999) : l'ozone est lentement détruit par une réaction de l'oxygène atomique avec l'ozone (Eq. 1), alors qu'il est plus efficacement détruit par des réactions catalytiques (transformant l'ozone mais pas le catalyseur) impliquant le monoxyde d'azote (NO) et le dioxyde d'azote (NO₂) comme catalyseurs (Eq. 2) :



suivi par (Eq. 3) :



L'effet net de ceci est (Eq. 4)



sans aucun changement pour NO ou NO₂. Cependant, l'augmentation de NO et NO₂ dans la stratosphère n'implique pas nécessairement la destruction d'ozone puisque NO et NO₂ réagissent également avec d'autres gaz (tels que OH) qui détruisent l'ozone de façon catalytique.

REFERENCES

- AERFOM (2000). *Résultats des mesures de la qualité de l'air 2000*. Rapport d'activité, 71 p.
- Amblard-Gross, G., Férard, J.-F., Carrot, F., Bonnin-Mosbah, M., Maul, S., Ducruet, J.M., Coddeville, P., Béguinel, P. et Ayrault, S. (2002). Biological fluxes conversion and SXRF experiment with a new active biomonitoring tool for atmospheric metals and trace element deposition. *Environmental Pollution* **120**: 47-58.
- Armstrong, R.A. et Smith, S.N. (1987). Development and growth of the lichen *Rhizocarpon geographicum*. *Symbiosis* **3**: 287-300.
- Asta, J., Erhardt, W., Ferretti, M., Fournasier, F., Kirschbaum, U., Nimis, P.L., Purvis, O.W., Pirintsos, S., Scheidegger, C., Van Haluwyn, C. et Wirth, V. (2002). Mapping lichen diversity as an indicator of environmental quality. In : Nimis, P.L., Scheidegger, C. et Wolseley, P.A. (eds.), *Monitoring with lichens - Monitoring lichens*, Kluwer Academic Publishers, NATO Science Series, p. 273-279.
- Ayrault, S., Bonhomme, P., Carrot, F., Amblard, G., Sciarretta, M.D. et Galsomies, L. (2001). Multianalysis of trace elements in mosses with Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometry. *Biological Trace Element Research* **79**: 177-184.
- Ayrault, S., Galsomies, L., Amblard, G., Sciarretta, M.D., Bonhomme, P. et Gaudry, A. (2002). Instrumental neutron activation analysis (INAA) and inductively coupled plasma/mass spectrometry (ICP-MS) for trace element biomonitoring using mosses. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* **82**: 463-473.
- Badin, G. et Nimis, P.L. (1996). Biodiversity of epiphytic lichens and air quality in the province of Gorizia (NE Italy). *Studia Geobotanica* **15**: 73-89.
- Bargagli, R. (1998). Lichens as biomonitors of airborne trace elements. In: Bargagli, R. (ed.), *Trace elements in terrestrial plants : an ecophysiological approach to biomonitoring and biorecovery*, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, p. 179-205.
- Bargagli, R. et Mikhailova, I. (2002). Accumulation of inorganic contaminants. In : Nimis, P.L., Scheidegger, C. et Wolseley, P.A. (eds.), *Monitoring with lichens - Monitoring lichens*, Kluwer Academic Publishers, NATO Science Series, p. 65-84.
- Barkman, J.J. (1958). *Phytosociology and ecology of cryptogamic epiphytes*. Van Gorcum et Co. Assen. 628 p.
- Barnes, J.D., Balaguer, L., Manrique, E., Elvira, S. et Davison, A.W. (1992). A reappraisal of the use of DMSO for the extraction and determination of chlorophylls *a* and *b* in lichens and higher plants. *Environmental and Experimental Botany* **32**: 85-100.
- Beckett, R.P. et Brown, D.H. (1984). The relationship between cadmium uptake and heavy metal tolerance in the lichen genus *Peltigera*. *New Phytologist* **97**: 301-311.
- Bennett, J.P. (1995). Abnormal chemical element concentrations in lichens of Isle Royale National Park. *Environmental and Experimental Botany* **35**: 259-277.
- Bennett, J.P. et Wetmore, C.M. (1997). Chemical element concentrations in four lichens on a transect entering Voyageurs National Park. *Environmental and Experimental Botany* **37**: 173-185.
- Bennett, J.P. et Wetmore, C.M. (1999). Changes in element contents of selected lichens over 11 years in northern Minnesota, USA. *Environmental and Experimental Botany* **41**: 75-82.

- Bennett, J.B., Dibben, M.J. et Lyman, K.J. (1996). Element concentrations in the lichen *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. after 3 years of transplanting along Lake Michigan. *Environmental and Experimental Botany* **36**: 255-270.
- Bobbink, R., Hornung, M. et Roelofs, J.G.M. (1998). The effects of air-borne nitrogen pollutants on species diversity in natural and semi-natural European vegetation. *Journal of Ecology* **86**: 717-738.
- Boonpragob, K. (2002). Monitoring physiological change in lichens : total chlorophyll content and chlorophyll degradation. In : Nimis, P.L., Scheidegger, C. et Wolseley, P.A. (eds.), *Monitoring with lichens - Monitoring lichens*, Kluwer Academic Publishers, NATO Science Series, p. 323-326.
- Boonpragob, K. et Nash III, T.H. (1991). Physiological responses of the lichen *Ramalina menziesii* Tayl. to the Los Angeles urban environment. *Environmental and Experimental Botany* **31**: 229-238.
- Borcard, D. et Buttler, A. (2001). *Ecologie numérique*. Script de cours, Université de Neuchâtel, 250 p.
- Branquinho, C., Catarino, F., Brown, D.H., Pereira, M.J. et Soares, A. (1999). Improving the use of lichens as biomonitors of atmospheric metal pollution. *The Science of the Total Environment* **232**: 67-77.
- Braun-Blanquet, J. (1964). *Pflanzensoziologie*, Springer, Wien, 865 p.
- Brown, D.H. et Beckett, R.P. (1984). Uptake and effect of cations on lichen metabolism. *The Lichenologist* **16**: 173-188.
- Bruteig, I.E. (1993). The epiphytic lichen *Hypogymnia physodes* as a biomonitor of atmospheric nitrogen and sulphur deposition in Norway. *Environmental Monitoring and Assessment* **26**: 27-47.
- Budka, D., Przybyłowicz, W.J., Mesjasz-Przybyłowicz, J. et Sawicka-Kapusta, K. (2002). Elemental distribution in lichens transplanted to polluted forest sites near Kraków (Poland). *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B* **189**: 499-505.
- Buege, J.A. et Aust, S.D. (1978). Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology* **52**: 302-310.
- Burel, F. et Baudry, J. (1999). *Ecologie du paysage, concepts, méthodes et applications*, Tec & Doc, Paris, 359 p.
- Burtch, B. (1999). Coordinate geometry : line-cercle intersection.
<http://www.ferris.edu/htmls/academics/course.offerings/burtchr/sure215/syllabus.html>
- Burton, M.A.S., LeSuer, P. et Puckett, K.J. (1981). Copper, nickel, and thallium uptake by the lichen *Cladina rangiferina*. *Canadian Journal of Botany* **59**: 91-100.
- Bylinska, E.A., Marczonk, A. et Seaward, M.R.D. (1991). Mercury accumulation in various components of a forest ecosystem influenced by factory emissions. In : Öztürk, M.A., Erdem, Ü., Gök G. (eds.), *Urban Ecology*, Ege University Press, Bornova, p. 75-87.
- Calatayud, A., Sanz, M.J., Calvo, E., Barreno, E. et del Valle-Tascón, S. (1996). Chlorophyll *a* fluorescence and chlorophyll content in *Parmelia quercina* thalli from a polluted region of northern Castellón (Spain). *The Lichenologist* **28**: 49-65.

- Cañas, M.S., Orellana, L. et Pignata, M.L. (1997). Chemical response of the lichens *Parmotrema austrosinense* and *P. conferendum* transplanted to urban and non-polluted environments. *Annales Botanici Fennici* **34**: 27-34.
- Carreras, H.A. et Pignata, M.L. (2001). Comparaison among air pollutants, meteorological conditions and some chemical parameters in the transplanted lichen *Usnea amblyoclada*. *Environmental Pollution* **111**: 45-52.
- Carreras, H.A. et Pignata, M.L. (2002). Biomonitoring of heavy metals and air quality in Cordoba City, Argentina, using transplanted lichens. *Environmental Pollution* **117**: 77-87.
- Chipon, B. (1994). Catalogue des lichens du Nord-Est de la France (Alsace-Lorraine). *Société d'Histoire Naturelle du Pays de Montbéliard* 33-60.
- Chipon, B. (1995). Catalogue des lichens du Nord-Est de la France (Alsace-Lorraine). *Société d'Histoire Naturelle du Pays de Montbéliard* 45-94.
- Conti, M. E. et Cecchetti, G. (2001). Biological monitoring : lichens as bioindicators of air pollution assessment - a review. *Environmental Pollution* **114**: 471-492.
- Culberson, W.L., Egan, R.S. et Esslinger, T.L. (2002). *Recent literature on lichens*. Presented on the Web by Timdal, E., http://www.nhm.uio.no/botanisk/bot-mus/lav/sok_rll.htm
- Cuny (1995). *Evaluation de l'impact du trafic routier de l'autoroute du Nord sur l'environnement par l'étude des lichens et des champignons supérieurs*, mémoire de DEA, Université de Lille, 42 p.
- Cuny, D., Van Haluwyn, C. et Pesch, R. (2001). Biomonitoring of trace elements in air and soil compartments along the major motorway in France. *Water, Air, and Soil Pollution* **125**: 273-289.
- Cuny, D., Pignata, M.L., Kranner, I. et Beckett, R. (2002). Biomarkers of pollution-induced oxidative stress and membrane damage in lichens. In : Nimis, P.L., Scheidegger, C. et Wolseley, P.A. (eds.), *Monitoring with lichens - Monitoring lichens*, Kluwer Academic Publishers, NATO Science Series, p. 97-110.
- Dat, J., Vandenabeele, S., Vranová, E., Van Montagu, M., Inzé, D. et Van Breusegem, F. (2000). Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cellular and Molecular Life Sciences* **57**: 779-795.
- Delcros, P., Asta, J. et Brun, J.-J. (1999). Utilisation d'un système d'information géographique pour l'analyse de la dynamique spatiale des lichens. *Bulletin d'Information de l'Association Française de Lichénologie*. Mémoires n°3, colloque lichens et environnement : "colonisation de milieux naturels et perturbés", p. 69-80.
- Deletraz, G. et Paul, E. (1998). *Etat de l'art pour l'étude des impacts des transports routiers à proximité des routes et autoroutes*. Rapport intermédiaire non confidentiel, contrat ADEME n° 97 93 022, 144 p., <http://www.univ-pau.fr/RECHERCHE/SET/Auteurs/deletraz.htm>.
- Deltoro, V.I., Gimeno, C., Catalayud, A. et Barreno, E. (1999). Effects of SO₂ fumigation on photosynthetic CO₂ gas exchange, chlorophyll *a* fluorescence emission and antioxydant enzymes in the lichens *Evernia prunastri* and *Ramalina farinacea*. *Physiologia Plantarum* **105**: 648-654.
- Demougeot-Renard, H. et de Fouquet, C. (2001). La géostatistique au service de l'environnement. 1- Un atout pour le diagnostic des friches industrielles. *Environnement & Technique* **208**: 40-44.

- Déruelle, S. et Guilloux, F. (1993). Evolution de la végétation lichénique en région parisienne entre 1981 et 1991, en relation avec la qualité de l'air. *Bulletin d'Information de l'Association Française de Lichénologie* 2: 23-42.
- Déruelle, S. et Lallement, R. (1983). *Les lichens témoins de la pollution*, Vuibert, 108 p.
- Diederich, P. et Sérusiaux, E. (2000). *The Lichens and lichenicolous fungi of Belgium and Luxembourg. An annotated checklist*, Musée National d'Histoire Naturelle, Luxembourg, 207 p.
- Dietz, H. et Steinlein, T. (1996). Determination of plant species cover by means of image analysis. *Journal of Vegetation Science* 7: 131-136.
- Direction Générale de la Santé (1998). *Circulaire DGS/VS3/n°98/189 du 24 mars 1998 relative aux aspects sanitaires des plans régionaux de la qualité de l'air*. Ministère de l'emploi et de la solidarité, 24 mars 1998.
- Direction Régional de l'Equipeement de Lorraine (1998). *Traffics journaliers annuels*. Carte, 1 p.
- Egger, R., Schlee, D. et Türk, R. (1994). Changes of physiological and biochemical parameters in the lichen *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. due to the action of air pollutants - a field study. *Phyton* 34: 229-242.
- Evans, C.A. et Hutchinson, T.C. (1996). Mercury accumulation in transplanted moss and lichens at high elevations in Quebec. *Water, Air, and Soil Pollution* 90: 475-488.
- Fields, R.F. (1988). Physiological responses of lichens to air pollutant fumigations. In : Nash III, T.H. et Wirth, V. (eds.), *Lichens, bryophytes and air quality*, J. Cramer, Berlin, 297 p.
- Fields, R.D. et St. Clair, L.L. (1984). The effects of SO₂ on photosynthesis and carbohydrate transfer in the two lichens : *Collema polycarpon* and *Parmelia chlorochroa*. *American Journal of Botany* 71: 986-998.
- Friberg, L., Nordberg, G.F., and Vouk, V.B. (1979). *Handbook on the toxicology of metals*, Amsterdam, Elsevier-North-Holland Biomedical Press, 709 p.
- Garty, J. (1993). Lichens as biomonitors for heavy metal pollution. In : Markert, B. (ed.), *Plants as Biomonitors, Indicators for Heavy Metals in the Terrestrial Environment*, VCH, Weinheim, p. 193-263.
- Garty, J. (2001). Biomonitoring atmospheric heavy metals with lichens : theory and application. *Critical Reviews in Plants Sciences* 20: 309-371.
- Garty, J. (2002). *Biomonitoring heavy metal pollution with lichens*. In : Kranner, I., Beckett, R. et Varma, A. (eds.), *Protocols in lichenology culturing, biochemistry, ecophysiology and use in biomonitoring*, Springer, Berlin, 580 p.
- Garty, J., Karary, Y. et Harel, J. (1993). The impact of air pollution on the integrity of cell membranes and chlorophyll in the lichen *Ramalina duriaei* (De Not.) Bagl. transplanted to industrial sites in - Israel. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 24: 455-460.
- Garty, J., Kauppi, M. et Kauppi, A., (1996). Accumulation of airborne elements from vehicles in transplanted lichens in urban sites. *Journal of Environmental Quality* 25: 265-272.

- Garty, J., Kauppi, M. et Kauppi, A. (1997). The production of stress ethylene relative to the concentration of heavy metals and other elements in the lichen *Hypogymnia physodes*. *Environmental Toxicology and Chemistry* **16**: 2404-2408.
- Garty, J., Kloog, N. et Cohen, Y. (1998). Integrity of lichen cell membranes en relation to concentration of airborne elements. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **34**: 136-144.
- Garty, J., Tamir, O., Cohen, Y., Lehr, H. et Goren, A.I. (2002). Changes in the potential quantum yield of photosystem II and the integrity of cell membranes relative to the elemental content of the epilithic desert lichen *Ramalina maciformis*. *Environmental Toxicology and Chemistry* **21**: 848-858.
- Garty, J., Weissman, L., Cohen, Y., Karneli, A. et Orlovsky, L. (2001). Transplanted lichens in and around the Mount Carmel National Park and the Haifa Bay industrial region in Israel : physiological and chemical responses. *Environmental Research Section A* **85**: 159-176.
- Gombert, S. et Asta, J. (1998). The effect on refuse incinerator fumes on the lead and cadmium content of experimentally exposed corticolous lichens. *Water, Air, and Soil Pollution* **104**: 29-40.
- González, C.M. et Pignata, M.L. (1994). The influence of air pollution on soluble proteins, chlorophyll degradation, MDA, sulphur and heavy metals in a transplanted lichen. *Chemistry and Ecology* **9**: 105-113.
- González, C.M. et Pignata, M.L. (2000). Chemical response of transplanted lichen *Canomaculina pilosa* to different emission sources of air pollutants. *Environmental Pollution* **110**: 235-242.
- González, C.M., Casanovas, S.S. et Pignata, M.L. (1996). Biomonitoring of air pollutants from traffic and industries employing *Ramalina ecklonii* (Spreng.) Mey. and Flot in Córdoba, Argentina. *Environmental Pollution* **91**: 269-277.
- Goodchild, M.F. (1994). Integrating GIS and remote sensing for vegetation analysis and modeling : methodological issues. *Journal of Vegetation Science* **5**: 615-626.
- Gries, C., Sanz, M.J. et Nash III, T.H. (1995). The effect of SO₂ fumigation on CO₂ gaz exchange, chlorophyll fluorescence and chlorophyll degradation in different lichen species from western North America. *Cryptogamic Botany* **5**: 239-246.
- Häffner, E., Lomský, B., Hynek, V., Hällgren, J.E., Batič, F. et Pfanz, H. (2001). Air pollution and lichen physiology. Physiological responses of different lichens in a transplanted experiment following an SO₂-gradient. *Water, Air, and Soil Pollution* **131**: 185-2001.
- Halonen, P., Hyvärinen, M. et Kauppi, M. (1993). Emission related and repeated monitoring of element concentrations in the epiphytic lichen *Hypogymnia physodes* in a coastal area, W Finland. *Annales Botanici Fennici* **30**: 251-261.
- Hawksworth, D.L. et Rose, F. (1970). Qualitative scale for estimating sulphur dioxide air pollution in England and Wales using epiphytic lichens. *Nature* **227**: 145-148.
- Heller-Zeisler, S.F., Zeisler, R., Zeiller, E., Parr, R.M., Radecki, Z., Burns, K.I. et de Regge, P. (1999). *Report on the intercomparaison run for the determination of trace and minor elements in lichen material IAEA-336*. International Atomic Energy Agency. 90 p., http://www.iaea.or.at/programmes/aqcs/pdf/iaea336_ic.pdf

- Herzig, R., Liebendörfer, L., Urech, M. et Ammann, K. (1989). Passive biomonitoring with lichens as a part of an integrated biological measuring system for monitoring air pollution in Switzerland. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* **35**: 43-57.
- Holopainen, T.H. (1983). Ultrastructural changes in epiphytic lichens, *Bryoria capillaris* and *Hypogymnia physodes*, growing near a fertilizer plant and a pulp mill in central Finland. *Annales Botanici Fennici* **20**: 169-185.
- Huneck, S. (1999). The significance of lichens and their metabolites. *Naturwissenschaften* **86**: 559-570.
- Huneck, S. et Yoshimura, I. (1996). *Identification of lichen substances*. Springer, Berlin, 493 p.
- Innes, J.L. (1984). The optimal sample size in lichenometric studies. *Arctic and Alpine Research* **16**: 233-244.
- Innes, J.L. (1985). Replication of lichenometric data : errors associated with variations in operator search efficiency. *Area* **17**: 221-232.
- INRS (2000). *Le calcul d'incertitude dans les méthodes de mesure de l'exposition professionnelle*. Institut National de Recherche et de Sécurité, 20 p., <http://www.inrs.fr/metropol/G.pdf>
- Jeran, Z., Jaćimović R., Batič, F., Smodiš, B. et Wolterbeek, H.Th. (1996). Atmospheric heavy metal pollution in Slovenia derived from results for epiphytic lichens. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* **354**: 681-687.
- Jeran, Z., Jaćimović R., Batič, F., Smodiš, B. et Mavsar, R. (2002). Lichens as integrating air pollution monitors. *Environmental Pollution* **120**: 107-113.
- John, E.A. (1990). Fine scale patterning of species distributions in a saxicolous lichen community at Jonas Rockslide, Canadian Rocky Mountains. *Holarctic Ecology* **13**: 187-194.
- John, E. et Dale, M.R.T. (1991). Determinants of spatial pattern in saxicolous lichen communities. *The Lichenologist* **23**: 227-236.
- Johnsen, I. et Søchting, U. (1973). Influence of air pollution on the epiphytic lichen vegetation and bark properties of deciduous trees in the Copenhagen area. *Oikos* **24**: 344-351.
- Journal Officiel (1997). Loi n°96-1236 du 30 décembre 1996 sur l'air et l'utilisation rationnelle de l'énergie. *Journal Officiel de la République Française*, 1er janvier 1997.
- Journal Officiel (1998). Décret n°98-362 du 6 mai 1998 relatif aux plans régionaux de la qualité de l'air. *Journal Officiel de la République Française*, 13 mai 1998.
- Joyeux, E. et Daillant, O. (1999). Comparaison de différentes méthodes d'évaluation de la qualité de l'air par les lichens en Bourgogne en 1998. *Bulletin d'Informations de l'Association Française de Lichénologie* **24**: 45-52.
- Kamada, M. et Okabe, T. (1998). Vegetation mapping with aid of low-altitude aerial photography. *Applied Vegetation Science* **1**: 211-218.
- Khalil, K. (2000). *Utilisation de bioindicateurs végétaux (lichens et tabac) dans la détection de la pollution atmosphérique de la région lyonnaise*. Thèse, Université de Grenoble 1, 284 p.
- Khalil, K. et Asta, J. (1998). Les lichens bio-indicateurs de pollution atmosphérique dans la région lyonnaise. *Ecologie* **23**: 467-472.

- Kley, D., Kleinmann, M., Sanderman, H. et Krupa, S. (1999). Photochemical oxidants : state of the science. *Environmental Pollution* **100**: 19-42.
- Kong, F.X., Hu, W., Chao, S.Y., Sang, W.L. et Wang, L.S. (1999). Physiological responses of the lichen *Xanthoparmelia mexicana* to oxidative stress of SO₂. *Environmental and Experimental Botany* **42**: 201-209.
- Kovács, M. (1992). *Biological indicators in environmental protection*, Ellis Horwood, New York, 207 p.
- Kranner, I. (2002). Glutathione status correlates with different degrees of desiccation tolerance in three lichens. *New Phytologist* **154**: 451-460.
- Kranner, I. et Grill, D. (1994). Rapid changes of the glutathione status and the enzymes involved in the reduction of glutathione-disulfide during the initial stage of wetting of lichens. *Cryptogamic Botany* **4**: 203-206.
- Kranner, I. et Lutzoni, F. (1999). Evolutionary consequences of transition to a lichen symbiotic state and physiological adaptation to oxidative damage associated with poikilohydry. In : Lerner, H.R. (ed.): *Plant responses to environmental stresses : from phytohormones to genome reorganization*, Marcel Dekker Inc., New York, p. 591-628.
- Kricke, R. et Feige, G.B. (2002). *Presentation and comparison of bioindication methods used by selected european countries*.
<http://www.flechten-im-ruhrgebiet.de/Bioindikation/bioindication.htm>
- Kricke, R. et Loppi, S. (2002). Bioindication : the I.A.P. approach. In : Nimis, P.L., Scheidegger, C. et Wolseley, P.A. (eds.), *Monitoring with lichens - Monitoring lichens*, Kluwer Academic Publishers, NATO Science Series, p. 21-37.
- Lane, D.M. (1993-2001). *HyperStat Online TextBook*. An online statistics book with links to other statistics resources on the web, <http://davidmlane.com/hyperstat/B95118.html>
- Larousse (1994). *Le petit Larousse*, dictionnaire encyclopédique, 1872 p.
- LeBlanc, F. et De Sloover J. (1970). Relation between industrialization and the distribution and growth of epiphytic lichens and mosses in Montreal. *Canadian Journal of Botany* **48**: 1485-1496.
- Lefèvre, G., Beljean-Leymarie, M., Beyerle, F., Bonnefont-Rousselot, D., Cristol, J.-P., Théron, P. et Torreilles, J. (1998). Evaluation de la peroxydation lipidique par le dosage des substances réagissant avec l'acide thiobarbiturique. *Annales de Biologie Clinique* **56**: 305-319.
- Legendre, P. et Legendre, L. (1998). *Numerical ecology*, Elsevier Science BV, Amsterdam, 853 p.
- Lesaca, R.M. (1977). Monitoring of heavy metals in Philippine rivers, bay waters and lakes. *Symposium Proceedings of the International Conference on Heavy Metals in the Environment*, Toronto, 27-31 October 1975, **2**: 285-307.
- Letrouit-Galinou, M.A. (1992). Remarques sur les lichens corticoles de Paris en 1991. *Bulletin d'Information de l'Association Française de Lichénologie*, Mémoire **1**: 35-48.
- Letrouit-Galinou, M.A., Seaward, M.R.D., Déruelle, S. (1992). A propos du retour des lichens épiphytes dans le Jardin du Luxembourg (Paris). *Bulletin de la Société Botanique de France, Lettres Botaniques* **139**: 115-126.

- LichenVision © 1.0 beta (2001-2002). *User's manual*. Développeur : Fueten, F., programmeur : Mason, J. <http://www.brocku.ca/earthsciences/people/dmccarthy/lv/lv.html>
- Liebendörfer, L., Herzig, R., Urech, M. et Ammann, K. (1988). Evaluation und Kalibrierung der Schweizer Flechten-Indikationsmethode mit wichtigen Luftschadstoffen. *Staub - Reinhaltung der Luft* **48**: 233-238.
- Loppi, S., Giordani, P., Brunialti, G., Isocrono, D., Piervittori, R. (2001). *A new scale for the interpretation of lichen biodiversity values in the Thyrranian side of Italy*. Proceedings Lichen Monitoring Workshop, 16-22 August 2000, Pembroke, 41 p.
- Loppi, S., Putorti, E., Signorini, C., Fommei, S., Pirintsos, S.A. et De Dominicis, V. (1998). A retrospective study using epiphytic lichens as biomonitors of air quality : 1980 and 1996 (Tuscany, central Italy). *Acta Oecologica* **19**: 405-408.
- Mappy © (2001). Edition Wanadoo Portails, <http://www2.mappy.com/>
- Maurice, J.-P. (1974). *Pollution et lichens dans la basse vallée de l'Orne*. Mémoire de DEA, Université de Metz, 48 p.
- McCarthy, D.P. et Zaniewski, K. (2001). Digital analysis of lichen cover : a technique for use in lichenometry and lichenology. *Arctic, Antarctic, and Alpine Research* **33**: 107-113.
- Mikhailova, I.N. et Scheidegger, C. (2001). Early development of *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. in response to emissions from a copper smelter. *The Lichenologist* **33**: 527-538.
- Mikhailova, I.N. et Vorobeichik, E.L. (1999). Dimensional and age structure of populations of epiphytic lichen *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. under conditions of atmospheric pollution. *Russian Journal of Ecology* **30**: 111-118.
- Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement (2001). *Bilan de la qualité de l'air dans les grandes agglomérations 1991-2000*, 1 p., <http://www.environnement.gouv.fr/dossiers/air/bilans/010117-bilan-air-synthese-91-2000.htm>
- Mulgrew, A. et Williams, P. (2000). *Biomonitoring of air quality using plants*. Air Hygiene Report No. 10. WHO Collaborating Centre for Air Quality Management and Air Pollution Control, Federal Environmental Agency, Berlin, 165 p., <http://www.umweltbundesamt.de/whocc/AHR10/content2.htm>
- Nash III, T.H. (1996). *Lichen biology*, Cambridge University Press, 303 p.
- Nieboer, E., Richardson, D.H.S. et Tomassini, F.D. (1978). Mineral uptake and release by lichens : an overview. *The Bryologist* **81**: 226-246.
- Niewiadomska, E., Jarowiecka, D. et Czarnota, P. (1998). Effect of different levels of air pollution on photosynthetic activity of some lichens. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* **67**: 259-262.
- Nimis, P.L. (1991). Developments in lichen community studies. *The Lichenologist* **23**: 215-225.
- Nimis, P.L. (1999). Linee-guida per la bioindicazione degli effetti dell'inquinamento tramite la biodiversità dei licheni epifiti. In : Piccini, C. et Salvati, S. (eds.), *Atti del Workshop biomonitoraggio della qualità dell'aria sul territorio nazionale*, Roma, 26-27 novembre 1998, ANPA, Roma, 267-277 p., <http://www.sinanet.anpa.it/>

- Nimis, P.L., Castello, M. et Perotti, M. (1990). Lichens as biomonitors of sulphur dioxide pollution in La Spezia (Northern Italy). *The Lichenologist* **22**: 333-344.
- Nimis, P.L., Scheidegger, C. et Wolseley, P.A. (2002). *Monitoring with lichens - Monitoring lichens*, Kluwer Academic Publishers, NATO Science Series, 408 p.
- Nylander, W. (1866). Les lichens du Jardin du Luxembourg. *Bulletin de la Société botanique de France* **13**: 364-372.
- Palmqvist, K. (2000). Carbon economy in lichens. *New Phytologist* **148**: 11-36.
- Pearson, L.C. et Henriksson, E. (1981). Air pollution damage to cell membranes in lichens. II. Laboratory experiments. *The Bryologist* **84**: 515-520.
- Pfeifhofer, H.W., Willfurth, R., Zorn, M. et Kranner, I. (2002). Analysis of chlorophylls, carotenoids, and tocopherols in lichens. In : Kranner, I., Beckett, R., Varma, A., (eds.), *Protocols in Lichenology. Culturing, Biochemistry, Ecophysiology and Use in Biomonitoring*, p. 363-378.
- Pignata, M.L., Wannaz, E.D., Martínez, M.S. et Caminotti, G. (2002). Evaluation of *Tillandsia capillaris* Ruiz & Pav. f. *capillaris* as biomonitor of atmospheric pollution in Argentina. In : Klumpp, A., Fomin, A., Klumpp, G. et Ansel, W. (eds.), *Bioindication and air quality in European cities*, Third Hohenheim Workshop on Bioindication at the Power Plant Altbach/Deizisau 2001, Günter Heimbach, Stuttgart, 209-214.
- Pilegaard, K. (1979). Heavy metals in bulk precipitation and transplanted *Hypogymnia physodes* and *Dicranoweisia cirrata* in the vicinity of a Danish steelworks. *Water, Air, and Soil Pollution* **11**: 77-91.
- Préfecture de la région Lorraine (2001). *Plan régional pour la qualité de l'air*, Annexe à l'arrêté préfectoral S.G.A.R. n°2001-258 du 21 août 2001, 109 p.
- Purvis, O.W. (1996). Interactions of lichens with metals. *Science Progress* **79**: 283-309.
- Purvis, O.W. (2000). *Lichens*, The Natural History Museum, Life Series, London, 112 p.
- Purvis, O.W. et Wedin, M. (1999). Le succès tout-terrain des lichens. *La recherche* **317**: 96-99.
- Purvis, O.W., Coppins, B.J., Hawksworth, D.L., James, P.W. et Moore, D.M. (1992). *The Lichen Flora of Great Britain and Ireland*, Natural History Museum Publications et British Lichen Society, London, 710 p.
- Purvis, O.W., Erotokritou, L., Wolseley, P.A., Williamson, B. et Read, H. (2002). A photographic quadrat recording method employing image analysis of lichens as an indicator of environmental change. In : Nimis, P.L., Scheidegger, C. et Wolseley, P.A. (eds.), *Monitoring with lichens - Monitoring lichens*, Kluwer Academic Publishers, NATO Science Series, p. 337-341.
- Rameau, J.-C., Mansion, D. et Dumé, G. (1989). *Flore forestière française - guide écologique illustré. I Plaine et collines*, Institut pour le développement forestier, 1785 p.
- Reimann, C. et de Caritat, P. (1998). *Chemical elements in the environment. Factsheets for the geochemist and environmental scientist*, Springer, Berlin, 397 p.
- Reis, M.A., Alves L.C., Freitas, M.C., Van Os, B. et Wolterbeek, H.Th. (1999). Lichens (*Parmelia sulcata*) time response model to environmental elemental availability. *The Science of the Total Environment* **232**: 105-115.

- Reis, M.A., Alves L.C., Freitas, M.C., Van Os, B., de Goeij, J. et Wolterbeek, H.Th. (2002). Calibration of lichen transplants considering faint memory effects. *Environmental Pollution* **120**: 87-95.
- Rhoades, F.M. (1999). *A review of lichen and bryophyte elemental content literature with reference to Pacific Northwest species*. USDA, Forest Service, Pacific Northwest Region, Mountlake Terrace, Washington, 128 p.
- Richardson, D.H.S. (1992). *Pollution Monitoring with Lichens*. Naturalists' Handbooks, 19, Richmond Publishing Co. Ltd., Slough, 76 p.
- Richardson, D.H.S. et Nieboer, E. (1981). Lichens and pollution monitoring. *Endeavour* **5**: 127-133.
- Riga-Karandinos, A.N. et Karandinos, M.G. (1998). Assessment of air pollution from a lignite power plant in the plain of Megalopolis (Greece) using as biomonitors three species of lichens; impacts on some biochemical parameters of lichens. *The Science of the Total Environment* **215**: 167-183.
- Ronen, R. et Galun, M. (1984). Pigment extraction from lichens with dimethyl sulfoxide (DMSO) and estimation of chlorophyll degradation. *Environmental and Experimental Botany* **24**: 239-245.
- Sarret, G., Manceau, A., Cuny, D., Van Haluwyn, C., Déruelle, S., Hazemann, J.-L., Soldo, Y., Eybert-Bérard, L. et Menthonnex, J.-J. (1998). Mechanisms of lichen resistance to metallic pollution. *Environmental Science et Technology* **32**: 3325-3330.
- Scheidegger, C. et Schroeter, B. (1995). Effects of ozone fumigation on epiphytic macrolichens : ultrastructure, CO₂ gas exchange and chlorophyll fluorescence. *Environmental Pollution* **88**: 345-354.
- Schlee, D., Kandzia, R., Tintemann, H. et Türk, R. (1995). Activity of superoxide dismutase and malondialdehyde content in lichens along an altitude profile. *Phyton* **35**: 233-242.
- Seaward, M. R. D. (1993). Lichens and sulphur dioxide air pollution : field studies. *Environmental Reviews* **1**: 73-91.
- Seaward, M.R.D. et Letrouit-Galinou, M.A. (1991). Lichen recolonization of trees in the Jardin du Luxembourg, Paris. *The Lichenologist* **23**: 181-186.
- Signoret, J. (1998). *Première esquisse de cartographie de la qualité de l'air dans l'agglomération messine à partir de l'observation des lichens épiphytes*, Mémoire de maîtrise, Université de Metz, 28 p.
- Signoret, J. (1999). *Contribution des bioindicateurs et des biomarqueurs lichéniques à l'élaboration d'un diagnostic de la qualité de l'air en Lorraine Nord*, Mémoire de DEA, Université de Metz, 47 p.
- Silberstein, L., Siegel, B.Z., Siegel, S.M., Mukhtar, A. et Galun, M. (1996). Comparative studies on *Xanthoria parietina*, a pollution-resistant lichen, and *Ramalina duriae*, a sensitive species. I. Effects of air pollution on physiological processes. *The Lichenologist* **28**: 355-365.
- Skácel, F. et Pekárek, J. (1992). Monitoring of lead, cadmium and mercury in environmental samples at the regional station of the integrated background monitoring network of GEMS in Czechoslovakia. *The Science of the Total Environment* **115**: 261-276.
- Sloof, J.E. (1995). Lichens as quantitative biomonitors for atmospheric trace-element deposition, using transplants. *Atmospheric Environment* **29**: 11-20.

- Smith, S.M., Schreier, H.E. et Brown, S. (1991). Spatial analysis of forage parameters using geographic information system and image-analysis techniques. *Grass and Forage Science* **46**: 183-189.
- Søchting, U. (1995). Lichens as monitors of nitrogen deposition. *Cryptogamic Botany* **5**: 264-269.
- Sokal, R.R. et Rohlf, F.J. (1995). *Biometry : The principles and practice of statistics in biological research*. W.H. Freeman and Company, New York, third edition, 880 p.
- StatSoft, Inc. (1997). *STATISTICA pour Windows® - Guide de l'utilisateur*, Statsoft Inc., Tulsa, 542 p., <http://www.statsoft.com>
- Tarhanen, S., Holopainen, T. et Oksanen, J. (1997). Ultrastructural changes and electrolyte leakage from ozone fumigated epiphytic lichens. *Annals of Botany* **80**: 611-621.
- Tarhanen, S., Metssarinne, S., Holopainen, T. et Oksanen, J. (1999). Membrane permeability response of lichen *Bryoria fuscescens* to wet deposited heavy metals and acid rain. *Environmental Pollution* **104**: 121-129.
- Ter Braak, C. J. F. et Smilauer, P. (1998). *CANOCO Reference manual and user's guide to Canoco for Windows : Software for canonical community ordination (version 4)*, Centre for Biometry Wageningen (Wageningen, NL) and Microcomputer Power (Ithaca NY, USA), 352 p.
- Trass, H. (1973). Lichen sensitivity to air pollution and index of poleotolerance (I.P.). *Folia Cryptogamica Estonica* **3**: 19-22.
- Trembley, M.L., Fahselt, D. et Madzia, S. (1997). Localization of uranium in *Cladina rangiferina* and *Cladina mitis* and removal by aqueous washing. *The Bryologist* **100**: 368-378.
- UN ECE (1998). *Manual for integrated monitoring*, International Cooperative Programme on integrated monitoring of air pollution effects on ecosystems, United Nations' Economic Commission for Europe convention on long-range transboundary air pollution, http://www.vyh.fi/eng/intcoop/projects/icp_im/manual/index.htm
- Van Dobben, H.F. et De Bakker, A.J. (1996). Re-mapping epiphytic lichen biodiversity in The Netherlands : effects of decreasing SO₂ and increasing NH₃. *Acta Botanica Neerlandica* **45**: 55-71.
- Van Haluwyn, C. (1978). *Application de la bryo-lichénosociologie à l'évaluation des pollutions atmosphériques acides dans la région Nord - Pas de Calais*. Thèse, Faculté de Pharmacie, Lille.
- Van Haluwyn, C. (1997). Bilan des connaissances sur la bioindication lichénique. *Journal de Botanique de la Société botanique de France* **1**: 7-13.
- Van Haluwyn, C. et Lerond, M. (1986). *Les lichens et la qualité de l'air - évaluation méthodologique et limites*, Ministère de l'Environnement, Paris.
- Van Haluwyn, C. et Lerond, M. (1987). La lichénologie dans l'évaluation de la qualité du milieu. In : *Colloques phytosociologiques XV - Phytosociologie et Conservation de la Nature*, Strasbourg, p. 233-250.
- Van Haluwyn, C. et Lerond, M. (1988). Lichénosociologie et qualité de l'air : Protocole opératoire et limites. *Cryptogamie, Bryologie et Lichenologie* **9**: 313-336.
- Van Haluwyn, C. et Lerond, M. (1993). *Le guide des lichens*, Lechevalier, Paris, 344 p.

- Van Haluwyn, C., Asta, J., Beguinot, J., Botineau, M., Déruelle, S., Lerond, M. et Roux, C. (1986). Lichens et environnement - Quelques travaux français depuis 1970. *Bulletin de la Société botanique de France* **133**, 81-112.
- Van Haluwyn, C. et van Herk, C.M. (2002). Bioindication : the community approach. In : Nimis, P.L., Scheidegger, C. et Wolseley, P.A. (eds.), *Monitoring with lichens - Monitoring lichens*, Kluwer Academic Publishers, NATO Science Series, p. 39-64.
- van Herk, C.M., Aptroot, A. et van Dobben, H.F. (2002). Long-term monitoring in the Netherlands suggests that lichens respond to global warming. *The Lichenologist* **34**: 141-154.
- Vanha-Majamaa, I., Salemaa, M., Tuominen, S. et Mikkola, K. (2000). Digitized photographs in vegetation analysis - a comparison of cover estimates. *Applied Vegetation Science* **3**: 89-94.
- VDI (1991). Messen von Immissions-Wirkungen. Ermittlung und Beurteilung phytotoxischer Wirkungen von Immissionen mit Flechten. Verfahren der standardisierten Flechtenexposition. *VDI-Richtlinie 3799, VDI-Handbuch Reinhaltung der Luft 2*: 1-14.
- VDI (1995). Messen von Immissions-Wirkungen. Ermittlung und Beurteilung phytotoxischer Wirkungen von Immissionen mit Flechten. Flechtenkartierung zur Ermittlung des Luftgütwertes (LGW). *VDI-Richtlinie 3799, VDI-Handbuch Reinhaltung der Luft 1*: 1-23.
- Wiens, J.A. (1989). Spatial scaling in ecology. *Functional Ecology* **3**: 385-397.
- Weisstein, E.W. (2002). *Eric Weisstein's World of Mathematics (MathWorld™)*. A Wolfram Research, Inc. web resource, <http://mathworld.wolfram.com/>
- Werner, W. et Just, J. (2001). *Accumulation of heavy metals in epiphytic lichens of Trier region - Spatial distribution*. Third Hohenheim workshop on bioindication at the power plant altbach-Deizisau, Bioindication and air quality in European cities, poster, www.uni-trier.de/uni/fb6/geobotanik/werner/pdf/tervurenpos.pdf
- Wetmore, C.M. (1988). Lichen floristics and air quality. In : Nash III, T.H. et Wirth, V. (eds.), *Lichens, bryophytes and air quality*, Bibliotheca Lichenologica No. 30. J. Cramer, Berlin-Stuttgart, p. 55-65.
- Winter, M.J. (2002). *WebElements*. University of Sheffield, Department of Chemistry. <http://www.webelements.com>
- Wolterbeek, B. (2002). Biomonitoring of trace element air pollution : principles, possibilities and perspectives. *Environmental Pollution* **120**: 11-21.
- Yarranton, G.A. et Green, W.G.E. (1966). The distributional pattern of crustose lichens on limestone cliffs at Rattlesnake Point, Ontario. *The Bryologist* **69**: 450-461.
- Yuneck, S. (1999). The significance of lichens and their metabolites. *Naturwissenschaften* **86**: 559-570.
- Zambrano, A. et Nash III, T.H. (2000). Lichen responses to short-term transplantation in Desierto de los Leones, Mexico City. *Environmental Pollution* **107**: 407-412.

RESUME

L'objectif de cette thèse a été de contribuer à une meilleure compréhension de l'impact des pollutions atmosphériques sur les lichens dans des conditions expérimentales de terrain (région Lorraine, France).

Les techniques d'analyses des aires d'échantillonnage des lichens épiphytes en bioindication étaient peu développées. Sans une méthode précise et une validation solide des choix de la surface d'échantillonnage, l'analyse des relevés reste subjective et les études comparatives et les hypothèses testées approximatives. Pour examiner ce problème, nous avons testé une technique opérationnelle d'échantillonnage et d'analyse spatiale, basée sur des données numérisées et géoréférencées, qui rend plus objective l'estimation du recouvrement et de la fréquence lichénique. Nous présentons un exemple simple pour démontrer que nos investigations permettront de faire le lien entre le relevé et le diagnostic de la qualité de l'air, avec des perspectives sur i) les techniques d'échantillonnage stratifié aléatoire des communautés lichéniques épiphytes basées sur l'interprétation de photographies, ii) les techniques d'échantillonnages multi-échelles pour évaluer l'efficacité des grilles d'échantillonnage classiquement utilisées en bioindication et iii) les techniques de systèmes d'informations géographiques (SIG) et les géostatistiques pour étudier les variations floristiques et écologiques à chaque point d'échantillonnage.

La transplantation est une technique de terrain utilisée pour l'étude des effets de la pollution de l'air et de l'accumulation d'éléments chimiques sur la symbiose lichénique. Les précipitations sont connues pour jouer un rôle important dans la capture et le relargage d'éléments chimiques par les thalles, mais peu d'informations est disponible sur leurs rôles dans la résistance des lichens aux polluants photo-oxydants. Nous avons utilisé cette technique pour étudier les effets des polluants gazeux et des éléments chimiques de l'air sur la physiologie de lichens exposés ou non à des précipitations. Pour analyser ces interactions, le lichen *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. a été transplanté pendant 14, 34 et 68 jours (été 2001) dans 5 sites de la vallée de la Moselle présentant des niveaux différents de pollution atmosphérique. Dans chacun de ces sites, 6 dispositifs de transplantation, couverts ou non de plaques transparentes, permettaient la fixation des lichens, respectivement à l'abri ou non des précipitations. Des échantillons de lichens ont été récoltés à la fin de chaque période d'exposition pour déterminer les concentrations en éléments chimiques (As, Cd, Ce, Cr, Cu, Fe, La, Pb, Rb, Sr, Ti et V), les concentrations de chlorophylles et de malondialdéhyde, ainsi que le rapport de phéophytinisation (DO_{435}/DO_{415}). Des analyses de variances (ANOVA) et des analyses en composantes principales (ACP) entre les paramètres biologiques, les bioconcentrations chimiques du lichen et des paramètres statistiques (moyenne et percentiles) de polluants gazeux (NO , NO_2 , O_3) ont été réalisées pour tester les relations significatives. Plusieurs relations statistiquement significatives ont été observées, particulièrement avec l'accumulation de Cd et de Pb et avec la perte d'éléments chimiques tels que As, Ce, Cr, Cu, Fe, La, Rb, Ti et V. Les résultats montrent l'influence des polluants gazeux photo-oxydants sur l'intégrité et les teneurs en chlorophylles du photobionte et sur la lipoperoxydation membranaire, facteurs qui expliqueraient des changements de capacité de biosorption du lichen. Le rôle du stress hydrique et du stress oxydant dans la perte d'éléments chimiques chez le lichen est discuté.

Cette thèse ouvre ainsi des perspectives nouvelles dans l'informatisation et l'amélioration du diagnostic de la qualité de l'air par les lichens, ainsi que dans une meilleure compréhension des mécanismes de réponse des champignons lichénisés aux pollutions atmosphériques.

ABSTRACT

The objective of this thesis was to contribute to a better understanding of the impact of the atmospheric pollutions on lichens in experimental conditions of field (Lorraine region, France).

Techniques of sampling areas analysis for epiphytic lichens were little developed in bioindication. Without a precise method and a solid validation of the choices of the surface of sampling, relevé analysis continue to be subjective and comparative studies and hypotheses testing are rough. To examine this problem, we tested an operational technique of sampling and spatial analysis, based on digitized and georeferenced data, which makes more objective the lichen covering and frequency assessment. We present a simple example to demonstrate how our investigations will allow to do the link between relevé and air quality diagnosis, with perspectives on i) stratified random sampling techniques of lichen communities based on the image interpretation, ii) multi-scale sampling techniques to estimate the efficiency of the sampling grid classically used in biomonitoring and iii) GIS (Geographical Information Systems) and geostatistical techniques to study floristic and ecological variations at every sampling point.

The transplantation is a field technique used for the study air pollution effects and chemical elements accumulation on the lichen symbiosis. Precipitation is known to play an important role in the uptake and release of chemical elements by lichen thalli, but few information was available on their roles in the lichen resistance exposed to photo-oxidizing pollutants. We used this technique to study the effects of gas pollutants and airborne chemical elements on the lichen physiology exposed or not at precipitation. To analyze these interactions, the lichen *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. was transplanted to 5 locations of the Moselle valley with different levels of air pollution for 14, 34 and 68 days (summer 2001). In each of these sites, 6 transplantation designs, covered or not with transparent screens, allowed the fixation of lichens respectively exposed or not to bulk precipitation. Samples of the lichen were retrieved at the end of each period to determine elemental content (As, Cd, Ce, Cr, Cu, Fe, La, Pb, Rb, Sr, Ti and V), chlorophyll and malondialdehyde contents as well as the ratio $OD_{435\text{ nm}}/OD_{415\text{ nm}}$. Analysis of variance (ANOVA) and Principal Component Analysis (PCA) between physiological parameters, lichen element bioconcentration and air pollutants (NO, NO₂, O₃) statistical parameters (mean and percentiles) were performed to test for significant relations. Several statistically significant relationships were observed, in particular with Cd and Pb accumulation and with chemical element release as As, Ce, Cr, Cu, Fe, La, Rb, Ti and V. The results showed the influence of photo-oxidizing atmospheric pollutants on the contents and integrity of the photobiont chlorophyll and on the peroxidation of membrane lipids, the factors which would explain changes of lichen biosorption capacity. The role of desiccation-induced and oxidative stresses in the chemical element release in lichens were discussed.

This thesis opens new perspectives in the computerization and the improvement of the air quality diagnosis using lichens, as well as in a better understanding of the response mechanisms of lichenized fungi to the atmospheric pollutions.