

OFFQ - Résultats

Impact de l'ozone troposphérique sur la qualité nutritionnelle et fourragère de Brassicaceae

DUREE DU PROJET
15/12/2006 – 31/01/2011

BUDGET
706.259€

MOTS-CLES

Ozone troposphérique, analyse de risque, *Brassica napus*, *Brassica oleracea*, colza, brocoli, récolte, qualité, dose/réponse, antioxydants, glucosinolates, vitamines, sécurité alimentaire, approvisionnement alimentaire

CONTEXTE

Les activités humaines ont généré, à l'échelon planétaire, un impact jamais atteint jusqu'ici sur l'environnement, en provoquant simultanément d'importants changements sur le plan climatique. L'ozone (O₃) est un gaz apparaissant naturellement que l'on retrouve tant dans la stratosphère (de 10 à 40 km au-dessus de la surface terrestre) que dans la troposphère (de 0 à 10 km au-dessus du niveau de la terre). Si l'ozone stratosphérique protège la surface de la terre contre les rayons UV nocifs, l'ozone présent dans la troposphère est le troisième gaz à effet de serre (après le CO₂ et le CH₄ – Denman *et al*, 2007 ; Solomon *et al*, 2007). Outre le fait qu'il contribue à l'effet de serre, l'ozone est également la principale composante des polluants de l'air dans les régions agraires et les zones naturelles, étant à l'origine d'impacts nocifs pour la santé humaine, les matériaux et la végétation (WGE 2004).

Une augmentation des émissions consécutive à la combustion de carburants et biomasses fossiles (Gauss *et al*, 2006 ; Denman *et al*, 2007) ainsi que le transport à longue distance (voire intercontinental) d'ozone et de ses précurseurs sont à l'origine d'une augmentation des concentrations d'ozone dans les régions rurales, à des centaines et des milliers de kilomètres de la source de pollution (Prather *et al*, 2003). Non loin d'un quart de la surface terrestre court actuellement le risque d'être exposé à des concentrations en ozone supérieures à 60 ppb lors des journées chaudes en été ; localement, il est même possible que ces concentrations atteignent des niveaux bien plus élevés encore (Fowler *et al*, 1999 a, b). Ces niveaux sont nettement supérieurs à la concentration moyenne de 40 ppb, dont on a observé qu'elle était toxique pour les espèces végétales sensibles (Fuhrer *et al*, 1997 ; Mills *et al*, 2000 ; LRTAP Convention, 2007).

Divers scénarios prédisent que l'augmentation des concentrations en O₃ troposphérique va se poursuivre au cours du 21^{ème} siècle (Gauss *et al*, 2003). Des simulations portant sur la période 2015-2050 indiquent une augmentation de 25 % (Meehl *et al*, 2007). En outre, le profil de l'exposition à l'ozone pour la végétation est en train de changer. C'est en recourant à des modèles que Dentener *et al* (2005) ont décrit l'évolution au niveau mondial des concentrations annuelles moyennes en ozone de 1990 à 2020. Leurs travaux ont mis en évidence une augmentation des concentrations en ozone dans la totalité des régions agricoles de l'hémisphère Nord. Si l'on peut escompter en Amérique du Nord et en Europe occidentale une diminution des pics de concentration (Gardner & Dorling, 2000), celle-ci est anéantie par une augmentation généralisée des concentrations sous-jacentes.

Dans certaines parties de l'Asie, de l'Amérique latine et de l'Afrique, cette augmentation est encore accentuée par des émissions toujours croissantes de précurseurs de l'ozone (NEG-TAP, 2001), avec pour effet que les répercussions toxiques sur la végétation augmenteront, elles aussi, de manière sensible dans ces régions (Emberson *et al*, 2001). Par ailleurs, la production agricole peut également subir des conséquences néfastes complémentaires liées à un changement des interactions entre les plantes et les insectes nuisibles et les pathogènes. Ces organismes peuvent, de surcroît, être à leur tour influencés par des évolutions sur le plan climatologique, consécutivement à des hivers plus doux, par exemple.

Les études relatives à l'influence de l'ozone sur les plantes abordent des aspects allant des effets au niveau cellulaire aux prédictions aux niveaux régional et international (EPA, 1996). Les effets dommageables de l'ozone sur le tissu végétal peuvent aller d'un endommagement visible des feuilles à une diminution de la capacité de photosynthèse, voire une accélération de la sénescence, assortie de répercussions sur le rendement et la qualité d'espèces végétales agricoles importantes, de la biodiversité ainsi que de la vitalité des forêts. Ces effets sont induits au niveau des plantes par une augmentation des radicaux réactifs de l'oxygène (ROS), tant en intra- qu'en extracellulaire. Ce facteur est un facteur commun aux différentes formes de stress, consécutives à des facteurs tant biotiques qu'abiotiques. Ces conditions de stress peuvent activer plusieurs canaux transducteurs des signaux impliqués dans les mécanismes de défense antioxydants. Il en résulte que l'ozone peut également interférer avec la réponse des plantes à d'autres facteurs de stress naturels tels que la sécheresse (Bell, 1987). L'O₃ est également un moyen de tout premier choix pour étudier ces mécanismes où la formation de ROS apoplastiques est impliquée dans l'induction de l'expression des gènes. L'étude du stress lié à l'ozone permet ainsi de contribuer à une meilleure compréhension du réseau complexe des canaux de transduction des signaux appartenant aux mécanismes de défense antioxydants des plantes (Rao *et al*, 2000).

La réponse de défense antioxydante influe sur la production de métabolites secondaires tels que les vitamines et les glucosinolates (GSLs). La production de glucosinolates constitue un système immunitaire inductible unique pour les espèces *Brassica* grâce au fait que leurs produits de dégradation présentent des propriétés fongicides, bactéricides et insecticides (Fenwich *et al*, 1989). La capacité anticarcinogène de ces substances est assurément tout aussi importante, comme en témoigne l'intense activité de recherche concernant leur mécanisme d'action et la manipulation des canaux métaboliques pour leur production dans la plante.



OFFQ – Résultats

Impact de l'ozone troposphérique sur la qualité nutritionnelle et fouragère de Brassicaceae

Par contre, des concentrations excessives dans l'alimentation animale (par adjonction de compléments de colza) peuvent déboucher sur une diminution de la digestibilité, un trouble fonctionnel de la thyroïde et une anémie. En tant qu'antioxydants, la vitamine C (ascorbate, ASC) et la vitamine E (α -tocophérol, α -TOC) interviennent bien évidemment aussi dans la réponse antioxydante végétale. D'un point de vue nutritionnel, ces composantes sont connues pour leurs effets positifs sur la santé : il est clairement établi depuis longtemps qu'une alimentation riche en antioxydants peut être associée à une diminution du risque de maladies cardiovasculaires et de cancer. Un autre argument en faveur du choix des espèces *Brassica* pour ce projet spécifique réside dans leur analogie étroite avec la plante modèle *Arabidopsis thaliana*, dont nous connaissons intégralement le génome. Pour l'implémentation de cette connaissance génétique fondamentale en vue d'améliorer des cultures importantes, il est dès lors logique d'expérimenter en premier lieu avec les espèces *Brassica*.

Il est clair que l'augmentation prévue des concentrations d'ozone troposphérique va avoir une influence sur les écosystèmes agricoles futurs et leur gestion. L'objectif de ce projet consiste à s'enquérir de la mesure dans laquelle cela peut influencer sur le rendement, la qualité et la sécurité des produits *Brassica*, tant d'un point de vue quantitatif que d'un point de vue qualitatif. Par ailleurs, l'étude plus fondamentale des modifications biochimiques et des effets en termes d'expression génétique contribuera à améliorer la connaissance des mécanismes de défense impliqués dans la réponse au stress des plantes. Une meilleure connaissance de ces interactions entre les plantes et leur environnement peut contribuer à la mise sur pied de nouvelles stratégies destinées à la préservation de la productivité et de la qualité des espèces végétales agricoles dans des conditions climatiques changeantes.

Ce genre d'informations est nécessaire pour pouvoir évaluer et comprendre l'impact complet des futurs changements climatiques en vue d'identifier à temps les risques possibles et d'adopter les mesures adéquates de manière proactive (EPSO, 2005).

OBJECTIFS

- Contribuer à l'évaluation des risques liés à l'accroissement de la pollution due à l'ozone troposphérique par l'établissement de relations dose/réponse O_3 fiables pour le colza et le brocoli – la qualité du produit commercialisé étant également étudiée, et non uniquement le rapport sur le plan économique. À cette fin, les plants de colza et de brocoli sont exposés durant la totalité de leur période de croissance à des concentrations d'ozone accrues dans des conditions aussi proches que possible des conditions du champ. Puis prend place une analyse quantitative et qualitative des produits finaux.
- Développement d'un modèle de flux destiné au calcul de l'absorption de l'ozone dans le colza et le brocoli en fonction de facteurs environnementaux tels que l'hygrométrie, l'intensité lumineuse, la température et la phénologie végétale. Ce développement sera rendu possible par le couplage des mesures sur le terrain de la conductivité stomatique des feuilles avec les moyennes horaires correspondantes de ces paramètres climatiques, l'évolution du développement de la plante ainsi que les concentrations en ozone.
- Détection des modifications dans les métabolites secondaires des espèces *Brassica* consécutives à une augmentation de l'exposition à l'ozone durant la croissance de la plante. Sur ce plan, l'accent est essentiellement mis sur les antioxydants (vitamine C et E, glutathion (GSH)) et les teneurs en GSL en raison de leur importance pour la santé humaine et animale ainsi que pour la sécurité de la chaîne alimentaire.

- On évalue également si la modification de la qualité du produit final (teneurs en GSL, en protéines, en huile, etc.) a des conséquences potentielles sur la chaîne alimentaire. Une estimation basée sur les données issues de la littérature sera également réalisée pour voir si les évolutions du métabolisme secondaire au niveau de la feuille peuvent avoir une influence sur les interactions plante/pathogène-insecte.
- Identification des biomarqueurs physiologiques et biochimiques pour le stress lié à l'ozone. Pour ce faire, des mesures de la physiologie de la plante (comme la photosynthèse et la fluorescence de chlorophylle A) seront combinées avec des analyses biochimiques des vitamines et des GSL au niveau de la feuille.
- Évaluation de l'impact d'une exposition prolongée à une augmentation modérée (mais non aiguë) des concentrations d'ozone troposphérique sur le métabolisme de la feuille/plante ainsi que les voies de défense, par le biais d'analyses du transcriptome.

CONCLUSIONS

Les conséquences de concentrations d'ozone troposphérique croissantes sur la production et la sécurité des produits *Brassica* sont tributaires de la nature du produit commercial final. Cet état de choses est clairement illustré par les deux espèces concernées dans cette étude. Le colza (*Brassica napus*) a une grande importance économique en raison de la production de graines oléagineuses. Le brocoli (*Brassica oleracea cv italica*), par contre, est cultivé en vue de la production de légumes frais récoltés avant qu'il n'y ait formation de graines.

Notre objectif primaire résidait dans l'établissement de relations dose/réponse O_3 quantitatives pour l'évaluation du risque des conséquences économiques actuelles et futures de dommages liés à l'ozone occasionnés à ces végétaux. Ces fonctions dose/réponse n'étaient pas seulement déterminées sur la base des concentrations d'ozone mesurées dans l'air ambiant mais également sur la base de l'absorption biologiquement pertinente d'ozone par la plante. Pour ces calculs de flux, la conductivité stomatique des plantes a été modélisée en fonction des conditions climatiques (hygrométrie, température, intensité lumineuse) et de la phénologie, le tout suivant différents modèles. Le premier modèle (qui fut également le plus employé) pour le calcul de flux d'ozone est un modèle multiplicatif empirique. Le second est un modèle plus mécanique reposant sur un modèle de photosynthèse couplé. Comme aucun écart notable en termes de puissance prédictive n'existait entre les deux modèles, c'est au final le modèle empirique qui fut choisi pour la poursuite des calculs en matière d'absorption d'ozone cumulée.

Dans le cadre d'une augmentation des concentrations horaires moyennes à 7 et 12 heures d'ozone jusqu'à 51 à 75 ppb, telle qu'elle est prévue pour les 100 prochaines années (*Assessment Report Four* de l'IPCC (Meehl *et al*, 2007)), il faut s'attendre à une baisse du rendement en graines de colza d'été de 30 %. De son côté, la production d'huile va être influencée de manière plus néfaste encore par une diminution supplémentaire du pourcentage d'huile. Étant donné que l'huile de colza est la troisième plus grande source d'huile végétale, une telle chute représente une perte économique importante pour le secteur.



OFFQ - Résultats

Impact de l'ozone troposphérique sur la qualité nutritionnelle et fourragère de Brassicaceae

Cet effet a bien évidemment aussi des conséquences sur l'estimation de la production de biodiesel dans le cadre d'un climat futur. Il est en outre apparu que la composition des acides gras est en train de se modifier, ce qui peut influencer sur la valeur nutritionnelle de l'huile de colza. L'acide oléique (18:1), qui représente environ 60 % de la teneur en acides gras totale, diminuait significativement sous l'effet de l'ozone, et ce au profit de l'acide linoléique, un acide gras essentiel polyinsaturé (18:3).

Le pourcentage d'acides gras saturés augmentait, tandis qu'une diminution du pourcentage des acides gras mono-insaturés était constatée. Après l'extraction de l'huile, la farine de colza, riche en protéines, forme un résidu destiné à être employé comme complément dans l'alimentation animale. Généralement, la teneur en huile et la teneur en protéines sont inversement proportionnelles, ce qui s'est également confirmé dans cette étude : une augmentation de l'absorption d'ozone durant la période de croissance était associée à une augmentation significative de la teneur en protéines dans les graines.

Des concentrations plus élevées en O₃ provoquaient également une augmentation de la concentration en vitamine E dans les graines. L'évolution était imputable à une augmentation de γ -TOC mais non de α -TOC, qui est la forme la plus active de vitamine E concernant la santé humaine. L'augmentation de γ -TOC pourrait toutefois avoir un impact sur la qualité de l'huile de colza, entre autres en termes de durée de conservation.

Aucune modification n'a été constatée sur le plan de la teneur ou de la composition des GSL des graines et l'on ne s'attend donc à aucune répercussion sur la sécurité du fourrage pour animaux. Il convient toutefois de relever que les teneurs en GSL du cultivar utilisé (Ability) sont très basses et que par conséquent, des écarts significatifs sont plus difficiles à observer. C'est pourquoi il serait également intéressant d'étudier plus précisément ce phénomène sur certains cultivars de colza d'hiver, lesquels renferment naturellement une teneur en GSL plus élevée.

En dépit du fait qu'une exposition accrue à l'ozone était sans conséquence sur le poids frais du brocoli, on constatait un effet clair sur la qualité de ce légume. On relevait une tendance marquée à l'augmentation de la concentration en GSLs aliphatiques (glucoibérine et glucoraphanine), ce qui était toutefois dépourvu de conséquences sur la teneur en GSL totale, car ce phénomène était associé à une diminution des indol-GSLs (essentiellement la glucobrassicine et la néoglucobrassicine).

Dans le cadre d'une augmentation moyenne de 40 ppb d'O₃ pendant 8 heures par jour au cours de la presque totalité de la saison de croissance, le rapport GSLs aliphatiques versus GSLs indol dans le brocoli augmentait significativement pour passer de 0,97 à 1,72, ce qui pourrait avoir un effet positif sur les propriétés anticarcinogène de ce légume. Parmi les autres conséquences positives pour la qualité du brocoli, l'on observait également une augmentation de l'antioxydant GSH et de la teneur en protéines.

Les effets sur le rendement en colza et en brocoli ont été reliés à l'influence de l'exposition accrue à l'ozone sur le développement du végétal et sur l'évolution des caractéristiques physiologiques de la couverture des feuilles tout au long de la saison de croissance. La diminution en termes de récolte de graines peut être mise en relation avec la diminution accélérée de la capacité de photosynthèse consécutive à une sénescence précoce. L'absence d'effets sur le rendement du brocoli peut s'expliquer par le fait que l'assimilation de CO₂ de la plupart des feuilles de brocoli ne subissait encore aucune entrave de l'exposition accrue à l'ozone au moment de la récolte. Cet élément peut être le résultat d'une exposition limitée à l'ozone (en termes de temps et de concentration) mais il se peut que les effets sur la production de biomasse étaient encore insuffisamment significatifs en raison du moment de la récolte plus précoce, avant la maturité réelle du végétal.

La plupart des effets d'une exposition prolongée à l'ozone ne s'observent qu'à un stade de développement tardif et tel était également le cas pour les antioxydants de la feuille. Toutefois, ici aussi, les deux espèces régissaient de manière différente. Pour le colza, on constatait, de manière générale, une augmentation, essentiellement des antioxydants solubles dans l'eau. Dans les brocolis, par contre, l'ozone avait pour effet de faire diminuer la teneur en TOC à l'intérieur des feuilles.

À l'instar des légumes, on constatait également dans les feuilles une augmentation du ratio GSLs aliphatiques/GSLs indol mais il était impossible de confirmer cette tendance statistiquement. Les résultats Microarray se caractérisent par une variabilité importante des niveaux d'expression génétique entre les divers échantillons de plantes provenant des expériences de terrain. Associé à la faible exposition à l'ozone, il se peut que cet élément soit à la base du fait que peu de modifications seulement furent constatées au niveau des pathways. La RT-PCR n'a donc pas permis de confirmer la sur-régulation des gènes issus du photosystème I.

Toutefois, des effets indiscutables ont été constatés au niveau de l'activité enzymatique et des niveaux des métabolites reliés au système antioxydant. Ces effets sont le plus prononcés au cours de la phase de développement génératif du colza. De manière générale, on a constaté une augmentation des activités enzymatiques des enzymes qui sont directement en contact avec les ROS (l'APX essentiellement), où l'activité est régulée de manière post-transductionnelle. Durant la phase générative, les feuilles de colza disposent d'importantes quantités d'ASC et de GSH. L'augmentation du statut d'oxydoréduction est maintenue par sur-régulation génétique de l'activité MDHAR.

Ces résultats indiquent clairement qu'une augmentation des concentrations d'ozone troposphérique va, en plus d'exercer une influence sur le métabolisme primaire de la plante (ex. : production de protéines et d'acides gras) aussi potentiellement modifier le métabolisme secondaire et les mécanismes de défense antioxydants (antioxydants et GSLs). La diminution de la production de graines de *Brassica napus* a une importance économique mais il convient de faire la distinction entre la perte de production d'huile et l'augmentation en termes de concentration protéique. Les modifications de la composition des acides gras peuvent avoir des répercussions sur la valeur nutritionnelle de l'huile de colza, étant donné que la baisse des γ -TOC peut avoir une influence sur la stabilité oxydante et la durée de conservation.



OFFQ - Résultats

Impact de l'ozone troposphérique sur la qualité nutritionnelle et fourragère de Brassicaceae

Il en va tout autrement pour *Brassica oleracea* cv *Italica*. La production de brocolis frais ne va apparemment connaître que peu ou pas de problèmes liés à une pollution liée à l'ozone accrue. Au contraire, même : ce changement pourrait même avoir des conséquences favorables sur la qualité de ces produits. C'est surtout l'augmentation du ratio GSLs aliphatiques/GSLs indol qui peut s'avérer importante pour les propriétés anticarcinogène en vertu desquelles on recommande fortement la consommation de brocoli.

CONTRIBUTION DU PROJET A UNE POLITIQUE DE DEVELOPPEMENT DURABLE

Il est depuis longtemps un fait reconnu qu'une augmentation des concentrations d'ozone troposphérique est dommageable pour la production agricole et horticole, et qu'elle peut instiguer des modifications en termes de qualité des produits commercialisés. Au vu de la politique mise en place, il existe une forte demande en faveur d'une évaluation quantitative de ce dommage pour le calcul des analyses coûts/bénéfice en vue de la réduction des émissions de composés polluants l'air (Holland *et al*, 2006). Grâce à ce projet, ces données sont désormais disponibles pour deux espèces végétales importantes du genre *Brassica* : *Brassica napus* (colza d'été) et *Brassica oleracea* cv *Italica* (brocoli).

Dans le cadre d'une augmentation des concentrations horaires moyennes à 7 et 12 heures d'ozone jusqu'à 51 à 75 ppb, telle qu'elle est prévue pour les 100 prochaines années (*Assessment Report Four* de l'IPCC (Meehl *et al*, 2007)), il faut s'attendre à une baisse de la production de colza d'été de 30 %. La production d'huile va même être encore plus défavorablement influencée par une diminution supplémentaire du pourcentage d'huile. Cet effet a bien évidemment aussi des conséquences sur l'estimation de la production de biodiesel dans le cadre d'un climat futur. Au vu de cette étude, l'AOT40 critique (concentrations en O₃ accumulées au-dessus de 40 ppb) est calculée pour la prévention d'une réduction de 5 % des graines ou de l'huile pour le colza à, respectivement, 3,7 et 3,2 ppm/h pour la période allant de la croissance à la récolte du végétal. Cela signifie que l'actuelle valeur limite de 3 ppm/h pour les végétaux agricoles suffit pour protéger la production de colza.

Pour ce qui est de la quantification des effets de l'ozone sur le rendement et sur la qualité, il convient de préférer un indice basé sur l'absorption d'ozone réelle plutôt que les concentrations environnantes. Jusqu'ici, cette modélisation de flux n'était disponible que pour le blé et la pomme de terre, et ce projet a fait en sorte qu'un modèle de ce type soit désormais également disponible pour le colza et le brocoli en vue de l'évaluation du risque de dommages liés à l'ozone pour les végétaux agricoles. Le niveau critique d'absorption d'ozone au-delà duquel il faut s'attendre à 5 % de perte de production de graines ou d'huile a été calculé sur une POD₆ (dose d'O₃ phototoxique accumulée dépassant une valeur limite de 6 nmol s⁻¹ m⁻² de surface de feuille projetée (PLA)) de respectivement 4,4 et 3,9 mmol m⁻² PLA.

Ces valeurs critiques, tant basées sur les concentrations d'ozone que sur l'absorption réelle par la plante, peuvent être mises à l'épreuve au regard des concentrations d'ozone et calculs de flux modélisés disponibles par l'entremise de l'EMEP (*European Monitoring and Evaluation Programme*) pour 50 km x 50 km en Europe. Il est ainsi possible d'identifier les zones où il existe un risque de dommage lié à l'ozone pour les plants de colza, tant actuellement que pour le futur.

Ce projet permet également d'établir clairement qu'il convient de ne pas tenir compte uniquement des réductions de récoltes quantitatives mais que la valeur qualitative des produits commercialisés doit également être étudiée si l'on veut parvenir à une évaluation correcte des risques et à des extrapolations économiques fiables. Suivant la nature de ces aspects qualitatifs liés au traitement industriel et à la santé du consommateur, une augmentation des concentrations d'ozone troposphérique peut avoir des conséquences tant positives que négatives pour les produits agricoles et horticoles.

CONTACT INFORMATION

Coordinateur

Karine Vandermeiren

Centre d'Etudes et de recherches vétérinaires et agrochimiques (CERVA/CODA)
Département d'Ecochimie agricole
Leuvensesteenweg 17
B-3080 Tervuren
Tel: +32 (0)2 769.22.33
Fax: +32 (0)2 769.23.05
kavan@var.fgov.be
<http://www.var.fgov.be>

Partenaires

Yves Guisez

Universiteit Antwerpen (UA)
Department Biologie
Research Group of Plant Physiology (PPG)
Campus Groenenborger
Groenenborgerlaan 171
B-2020 Antwerpen
Tel: +32 (0)3 265.35.91
Fax: +32 (0)3 264.34.17
yves.guisez@ua.ac.be

Reinhart Ceulemans

Universiteit Antwerp
Department Biologie
Research Group of Plant and Vegetation Ecology (PVE)
Campus Drie Eiken
Universiteitsplein 1
B-2160 Wilrijk
Tel: +32 (0)3 820.22.89
Fax: +32 (0)3 820.22.71
reinhart.ceulemans@ua.ac.be

