

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC

**MÉMOIRE PRÉSENTÉ À
UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIERES
(DÉPARTEMENT DE CHIMIE-BIOLOGIE)**

**COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAITRISE EN SCIENCES DE L'ENVIRONNEMENT**

**PAR
LEILA DZIRI
Ing.(Agro.)**

**APPLICATION DE LA SPECTROSCOPIE PHOTOACOUSTIQUE ET
DE FLUORESCENCE À L'ÉTUDE DES EFFETS DE L'OZONE SUR LA
PHOTOSYNTHESE DE L'ÉRABLE À SUCRE**

FÉVRIER 1993

Université du Québec à Trois-Rivières

Service de la bibliothèque

Avertissement

L'auteur de ce mémoire ou de cette thèse a autorisé l'Université du Québec à Trois-Rivières à diffuser, à des fins non lucratives, une copie de son mémoire ou de sa thèse.

Cette diffusion n'entraîne pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits de propriété intellectuelle, incluant le droit d'auteur, sur ce mémoire ou cette thèse. Notamment, la reproduction ou la publication de la totalité ou d'une partie importante de ce mémoire ou de cette thèse requiert son autorisation.

DÉDICACE

À mes très chers parents
En témoignage du grand respect et amour que je leur porte.

À mes frères
À toute ma famille
En signe de mon respect et dévouement

À Mustapha
En reconnaissance des liens de solidarité et de
sympathie qui nous ont toujours réunis

À tous (tes) mes amis (es)

Je dédie ce travail

RÉSUMÉ

Nous avons étudié l'effet du polluant gazeux, l'ozone, sur l'activité photosynthétique de l'érable à sucre (*Acer saccharum* Marsh.) à l'aide de deux méthodes complémentaires: la spectroscopie photoacoustique et la spectroscopie de fluorescence.

Pour atteindre notre objectif, nous avons utilisé deux groupes de plantes d'érable d'âges différents: des sauvageons de cinq (5) à sept (7) ans et des semis de quatre (4) mois. Les lots de sauvageons ont subi des fumigations répétées aux concentrations de 0,1, 0,3 et 0,5 ppm pendant dix semaines à raison de deux fumigations de sept heures chacune par semaine. Dans le cas des semis, nous avons utilisé les concentrations 0,1 et 0,5 ppm d'ozone et la période totale de leur exposition au polluant était de 70 heures toujours à raison de deux fumigations de 7 heures chacune par semaine. L'activité photosynthétique des plantes a été exprimée en terme d'emmagasinage d'énergie photosynthétique, d'amplitude d'oxygène normalisée, d'indice de vitalité qui représente le taux de décroissance relative de la fluorescence dans le temps ainsi que le rapport de la fluorescence chlorophyllienne qui nous a permis de suivre les variations de la densité chlorophyllienne au cours des traitements.

Les deux premiers paramètres ont été mesurés avec la spectroscopie photoacoustique tandis que la technique de fluorescence nous a servi pour mesurer les autres paramètres.

Dans le cas des sauvageons, les résultats obtenus ont révélé que l'emmagasinage d'énergie photochimique est demeuré semblable aussi bien pour les lots traités que pour le lot contrôle. Par contre, le signal d'oxygène normalisé par rapport au signal thermique accuse une diminution dans le temps pour tous les groupes de plantes. Cette baisse est attribuée à une hausse plus importante dans le paramètre thermique. L'indice de vitalité de la plante montre également une diminution graduelle au cours des expériences pour tous les lots et la densité chlorophyllienne n'a pas beaucoup changé dans le temps. Conséquemment, la photosynthèse des sauvageons d'érable à sucre n'a pas été affectée par les effets de l'ozone.

Concernant les semis, les paramètres mesurés ont montré une baisse pour les plantes traitées par rapport au contrôle. L'emmagasinage d'énergie photochimique a été réduit de 30% chez les lots qui ont subi des fumigations en les comparant au contrôle. L'amplitude d'oxygène normalisée a également été réduite mais sans montrer un effet significatif par rapport aux plantes de contrôle. Les valeurs des paramètres mesurés avec la spectroscopie de fluorescence ont diminué graduellement dans le temps chez les lots traités. Les résultats de cette étude nous permettent d'affirmer que les

sauvageons d'érable à sucre sont résistants à l'action de l'ozone alors que les semis sont plus sensibles.

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail qui a été effectué au laboratoire de photoacoustique du Centre de recherche en photobiophysique, c'est un agréable devoir pour moi d'exprimer ma plus profonde gratitude à mon directeur de mémoire, le docteur Roger M. Leblanc, professeur au département de chimie-biologie et directeur fondateur du Centre de recherche en photobiophysique. Je le remercie sincèrement d'avoir voulu assumer la supervision de ce mémoire et de son aide nécessaire. Je le remercie également pour ses conseils grandement appréciés, pour avoir aidé à développer en moi une démarche scientifique rigoureuse et pour sa confiance. Sa gentillesse, sa modestie n'ont d'égale que sa compétence qu'il me soit permis de lui exprimer ici ma sincère reconnaissance.

Je voudrais aussi exprimer mes remerciements respectueux au docteur C.N. N'Soukpoé-kossi pour ses discussions au long de ce travail.

J'adresse mes chaleureux remerciements à l'ensemble des professeurs du département de chimie-biologie (Sciences de l'environnement) pour leur devoir qu'ils n'ont pas manqué et la formation qu'ils m'ont prodiguée.

Mes sincères remerciements vont à mes collègues de l'équipe de photoacoustique, soit M. Charland, D. Charlebois, F. Lahjomri et K. Veeranjaneyulu pour leur collaboration, leurs discussions et suggestions intéressantes au cours de cette recherche. Mes vifs remerciements vont également au personnel scientifique et administratif du Centre de recherche en photobiophysique.

Je voudrais surtout adresser mes remerciements les plus respectueux à mes parents pour les efforts et les sacrifices qu'ils ont fait pour me faciliter la poursuite de mes études sans difficultés. Des remerciements vont aussi à toute ma famille pour leurs encouragements et judicieux conseils.

Et pour terminer, je désire remercier tout spécialement une personne dont la gentillesse et la disponibilité n'ont jamais fait défaut, soit Mustapha Cherradi. Je le remercie sincèrement pour son constant support et son aide, pour ses précieux conseils qu'il n'a cessé de me prodiguer et pour ses encouragements tout au long de cette étude.

À tous (tes) et à chacun (e), ma considération et ma gratitude.

TABLE DES MATIERES

	Page
RÉSUMÉ	ii
REMERCIEMENTS	v
TABLE DES MATIERES.....	vii
LISTE DES TABLEAUX	xii
LISTE DES FIGURES.....	xiii
CHAPITRES	
1. INTRODUCTION.....	1
1.1 Phénomène du dépérissement.....	1
1.1.1 État de la situation.....	2
1.1.2 Dépérissement des érablières au Québec	4
1.1.3 Causes du dépérissement.....	5
1.1.3.1 Modèle conceptuel de Manion.....	6
1.1.3.2 Cas-type des érablières.....	8
1.1.3.3 Hypothèses	9
1.1.4 Symptômes du dépérissement.....	11
1.1.5 Méthodes utilisées pour diagnostiquer le dépérissement.....	12
1.2 Objectif du travail.....	13
2. REVUE DE LITTÉRATURE.....	15
2.1 Spectroscopie photoacoustique.....	15

	Page
2.1.1 Principe de base de la spectroscopie photoacoustique.....	17
2.1.2 Modèle de Rosencwaig et Gersho	18
2.1.3 Application à la photosynthèse.....	27
2.1.3.1 Rappel sur la photosynthèse.....	27
2.1.3.2 Mesures de l'activité photosynthétique.....	31
2.1.3.3 Analyse vectorielle du signal.....	37
2.2 Spectroscopie de fluorescence.....	40
2.2.1 Fluorescence et spectre d'émission.....	41
2.2.1.1 Fluorescence.....	41
2.2.1.2 Spectre d'émission et rapport F_{685}/F_{735}	42
2.2.2 Cinétique d'induction de la fluorescence.....	45
2.2.2.1 Description de la cinétique d'induction.....	45
2.2.2.2 Indice de vitalité (R_{fd}).....	52
2.2.2.3 Indice d'adaptation (A_p).....	53
2.2.3 Effets de quelques facteurs de stress sur la fluorescence.....	54
2.3 Polluant atmosphérique: ozone.....	56
2.3.1 Sources et concentrations atteintes.....	57
2.3.2 Effets de l'ozone sur la végétation.....	59
2.3.2.1 Effets biochimiques et physiologiques.....	59
2.3.2.2 Symptômes induits par l'ozone.....	62
3. MATÉRIEL ET MÉTHODOLOGIE.....	64
3.1 Matériel.....	64

	Page
3.1.1 Matériel photosynthétique	64
3.1.2 Chambre de fumigation.....	65
3.1.3 Appareillage de mesures.....	66
3.1.3.1 Spectromètre photoacoustique	66
3.1.3.2 Spectromètre de fluorescence.....	70
3.2 Méthodologie.....	73
3.2.1 Sauvageons de l'érable à sucre	73
3.2.1.1 Nombre de sauvageons	74
3.2.1.2 Séances de fumigation.....	75
3.2.2 Semis de l'érable à sucre	75
3.2.2.1 Technique de stratification des semis.....	75
3.2.2.2 Expérimentation sur les semis.....	78
3.2.2.2.1 Nombre de semis	78
3.2.2.2.2 Séances de fumigation.....	83
3.2.3 Prise des mesures.....	83
3.2.3.1 Mesures photoacoustiques.....	83
3.2.3.1.1 Échantillon	83
3.2.3.1.2 Paramètres à mesurer.....	84
3.2.3.1.3 Mesures.....	84
A. Emmagasinage d'énergie photochimique.....	85
B. Dégagement d'oxygène et de chaleur.....	86

	Page
3.2.3.2 Mesures de fluorescence	90
3.2.3.2.1 Échantillon	90
3.2.3.2.2 Paramètres à mesurer.....	90
A. Indice de vitalité.....	90
B. Indice d'adaptation	91
3.2.3.2.3 Mesures.....	91
 4. RÉSULTATS ET DISCUSSION.....	 93
4.1 Résultats sur les sauvageons.....	93
4.1.1 Paramètres photoacoustiques.....	93
4.1.1.1 Emmagasinage d'énergie photosynthétique.....	94
4.1.1.2 Amplitude thermique maximale.....	96
4.1.1.3 Amplitude d'oxygène.....	100
4.1.1.4 Amplitude d'oxygène normalisée.....	104
4.1.2 Paramètres de fluorescence.....	106
4.1.2.1 Indice de vitalité.....	107
4.1.2.2 Indice d'adaptation au stress.....	111
4.1.2.3 Rapport de la fluorescence chlorophyllienne.....	111
4.2 Résultats sur les plantes de semis.....	114
4.2.1 Paramètres photoacoustiques.....	114
4.2.1.1 Emmagasinage d'énergie photosynthétique.....	115
4.2.1.2 Amplitude thermique maximale.....	117
4.2.1.3 Amplitude d'oxygène.....	119
4.2.1.4 Amplitude d'oxygène normalisée.....	121

	Page
4.2.2 Paramètres de fluorescence	123
4.2.2.1 Indice de vitalité.....	123
4.2.2.2 Indice d'adaptation.....	126
4.2.2.3 Rapport de la fluorescence chlorophyllienne.....	128
CONCLUSION	137
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	140
ANNEXES	161

LISTE DES TABLEAUX

	Page
Tableaux	
1. Modèle de Rosencwaig et Gersho: cas spéciaux.....	26
2. Renseignements sur la démarche méthodologique pour les sauvageons.....	74
3. Technique de stratification.....	76
4. Solution d'arrosage pour l'érable à sucre.....	79
5. Précautions à prendre pour l'obtention des semis.....	81
6. Sommaire de la démarche méthodologique pour les semis.....	82
7. Effet de l'ozone sur la photosynthèse chez d'autres espèces d'arbres.....	135
8. Effet de l'ozone sur la biomasse et la hauteur.....	136

LISTE DES FIGURES

	Page
 Figures	
1. Les catégories de facteurs impliqués dans le dépérissement des forêts (Manion, 1981).....	7
2. Schéma de l'intérieur d'une cellule photoacoustique cylindrique (Adams, 1982).....	19
3. Schéma d'un chloroplaste (Charland, 1992).....	28
4. Représentation schématique du transfert d'électron photosynthétique.....	30
5. États de désexcitation de la chlorophylle <i>in vivo</i> (Buschmann et <u>al.</u> , 1984).....	30
6. Effet du faisceau saturant à haute (a) et à basse (b) fréquence de modulation. Les flèches ondulées pointants vers le haut et vers le bas représentent respectivement l'illumination et l'extinction du faisceau modulé. Les flèches épaisses pointants vers le haut et vers le bas représentent respectivement l'illumination et l'extinction du faisceau saturant blanc.....	34

7.	Représentation schématique des composantes vectorielles du signal photoacoustique dans les feuilles à faible fréquence de modulation ($f < 200$ Hz):	
	a) sans ajustement des phases	
	b) avec ajustement des phases (Charland, 1992).....	3 8
8.	Spectre d'émission de la fluorescence d'une feuille saine excitée (470 ± 30 nm). 1 = Radis, 2 = Haricot, 3 = Maïs (Lichtenthaler et Rinderle, 1988).....	4 4
9.	Cinétique d'induction de la fluorescence, effet Kautsky (Lichtenthaler et Rinderle, 1988).....	4 7
10.	Cinétique d'induction de la fluorescence à différentes échelles de temps (Lichtenthaler et Rinderle, 1988, Gernott et Schreiber, 1986).....	4 8
11.	Schéma de la cinétique d'induction de la fluorescence en parallèle avec l'évolution d'oxygène photosynthétique (Lichtenthaler et Rinderle, 1988).....	5 1
12.	Cinétique d'induction de la fluorescence et l'évolution d'oxygène avant (a) et après (b) l'application du DCMU (Lichtenthaler et Rinderle, 1988).....	5 5
13.	Schéma d'un spectromètre photoacoustique (Charland, 1992).....	6 8
14.	Schéma d'un spectromètre de fluorescence.....	7 1
15.	Représentation schématique des paramètres mesurés en photoacoustique.....	8 7

16. Représentation vectorielle des composantes du signal photoacoustique dans les feuilles à faible fréquence de modulation ($f= 25$ Hz) avec ajustement des phases.....	88
17. Effet de l'ozone sur l'emmagasinage d'énergie photosynthétique.....	95
18. Effet de l'ozone sur l'amplitude thermique maximale.....	97
19. Effet de l'ozone sur l'amplitude d'oxygène.....	101
20. Effet de l'ozone sur l'amplitude d'oxygène normalisée.....	105
21. Effet de l'ozone sur l'indice de vitalité mesuré à 685 nm.....	108
22. Effet de l'ozone sur l'indice de vitalité mesuré à 735 nm.....	109
23. Effet de l'ozone sur l'indice d'adaptation.....	112
24. Effet de l'ozone sur le rapport de la fluorescence chlorophyllienne.....	113
25. Effet de l'ozone sur l'emmagasinage d'énergie photosynthétique chez les semis.....	116
26. Effet de l'ozone sur l'amplitude thermique maximale chez les semis.....	118
27. Effet de l'ozone sur l'amplitude d'oxygène chez les semis.....	120
28. Effet de l'ozone sur l'amplitude d'oxygène normalisée chez les semis.....	122
29. Effet de l'ozone sur l'indice de vitalité mesuré à 685 nm chez les semis.....	124

	Page
30. Effet de l'ozone sur l'indice de vitalité mesuré à 735 nm chez les semis	125
31. Effet de l'ozone sur l'indice d'adaptation chez les semis.....	127
32. Effet de l'ozone sur le rapport de la fluorescence chlorophyllienne chez les semis.....	129

CHAPITRE I

INTRODUCTION

1.1 Phénomène du dépérissement

Tout d'abord, il nous faut signaler que le dépérissement des forêts est un sérieux problème qui préoccupe vivement de nombreux chercheurs et différents paliers gouvernementaux, que ce soit en Europe occidentale ou en Amérique du nord.

Le phénomène du dépérissement des forêts, précisons-le, ne doit pas être confondu avec la mort des arbres qui découlerait d'une cause connue et bien identifiée (maladie ou tout autre facteur adverse naturel). C'est un concept qui a été développé par les pathologistes forestiers pour caractériser et expliquer la perte progressive de vigueur et la détérioration de la santé des arbres dans les cas où aucune cause normalement associée aux maladies biotiques ou abiotiques ne peut seule expliquer les effets observés (Dessureault,1986).

Dans certains cas, le dépérissement serait un phénomène périodique qui amène un réajustement normal dans un écosystème essentiellement

stable à long terme (Dessureault, 1985). Alors que dans d'autres cas, il s'agit d'un déséquilibre précurseur d'une dégradation progressive de l'écosystème.

1.1.1 État de la situation

Le phénomène du dépérissement des forêts se retrouve un peu partout à travers le monde tant au Québec qu'à l'échelle internationale. Ce n'est pas un phénomène nouveau puisque des cas de dépérissements sont rapportés depuis au moins 200 ans en Europe (Carrier, 1986, Dessureault, 1986) et un peu moins de 100 ans en Amérique du nord (Dessureault, op.cit).

Cependant les cas récents sont peu comparables avec ceux de jadis. En effet, dans le cas du dépérissement actuel, plusieurs faits demeurent préoccupants tels que l'ampleur du phénomène, le nombre d'espèces touchées et l'intensité du dépérissement (Carrier, 1986, Gagnon et al., 1990). À titre d'exemple, la superficie affectée, qui au début des années 80 semblait limitée à la région des Appalaches, couvre maintenant la quasi-totalité de la région feuillue du Québec (Gagnon et Roy, 1989).

Carrier (1986) et Dessureault (1986) ont cité quelques cas de dépérissement en Europe; il y a le dépérissement du sapin en Allemagne depuis les années 1700, le dépérissement du pin sylvestre en Allemagne de l'est et à l'ouest de la Russie au début des années 1970. Concernant l'Allemagne de l'ouest, Gagnon (1987) a souligné que la superficie touchée en 1984 était de l'ordre de 3,7 millions d'hectare, soit la moitié de la

superficie forestière du pays. Quant à Dessureault (1986), il a rapporté l'existence des épisodes de dépérissement en France qui touchent le pin maritime depuis le début des années 1980 et il a signalé qu'en Suisse, on estime que 40% de la forêt dépérit. En Amérique du nord, depuis le début du siècle, plusieurs essences ont été affectées par ce phénomène. À titre d'exemple, mentionnons le dépérissement du chêne dans plusieurs régions des États-Unis depuis le début du siècle, de l'érable à sucre surtout en milieu urbain vers les années 1910 et à nouveau vers les années 30, de l'épinette rouge et du sapin baumier dans le nord-est des États-Unis depuis le début des années 1980.

Au Canada, le dépérissement des érablières a été observé en Ontario vers la fin des années 1950 (Griffin, 1965). Ce phénomène a ensuite pris de l'ampleur dans les érablières du nord-est de l'Ontario depuis quelques années (McLaughlin et al., 1985).

Le Québec n'a pas échappé à ce phénomène. Ainsi, il a connu le dépérissement du bouleau à papier, du bouleau jaune de 1930 à 1955, du frêne noir à partir de 1927, de même que de l'érable à sucre dans la région de la Beauce de 1933 à 1943, le dépérissement de plusieurs espèces de chêne et du hêtre à grandes feuilles depuis 1983 dans l'outaouais (Dessureault, 1986).

1.1.2 Dépérissement des érablières au Québec

Pormeveau (1944) a signalé un seul cas de dépérissement des érablières à sucre au Québec. En effet, il avait observé un dépérissement important dans certaines érablières du comté de la Beauce en 1934. Cependant, ce n'est que vers la fin des années 1970 que ce phénomène a pris de l'ampleur au Québec et plus particulièrement dans les régions des Appalaches (Bordeleau, 1986, Des Granges et al., 1987, Gagnon, 1987).

Gagnon (1987) a souligné que la superficie atteinte des érablières du Québec était de 24 000 km² en 1986. Il a en sus rapporté que l'incidence, c'est-à-dire le nombre d'arbres affectés, est passée de 71,2% en 1984 à 74,4% en 1985 et à 81,0% en 1986 dans la région de la Beauce et des Bois-Francis. Durant la même période, la sévérité, c'est-à-dire le pourcentage de feuillage manquant, est passée de 21,0% à 28,3% alors qu'en 1989, Gagnon et al. (1990) ont noté une stabilité.

Ce sont des producteurs acéricoles qui ont d'abord manifesté leur inquiétude après avoir observé que les érables séchaient sans raison apparente dans leurs érablières. Comme conséquence, il y a eu une baisse de la production acéricole exprimée sous forme de sirop. D'une production de 13 460 kl, qu'elle était en 1981, on est passé à 9 275 kl en 1986 (Renaud et Allard, 1987).

Devant ce phénomène du dépérissement de l'érable à sucre qui a mis en péril une industrie de 40 millions de dollars ainsi qu'un mode de

vie de plus de 10 000 producteurs de sirop d'érable (Hendershot et Jones, 1989), les intervenants québécois qui, préoccupés par ce problème depuis 1980, ont réagi en faisant des enquêtes et en subventionnant des centres de recherche pour étudier ce phénomène.

1.1.3 Causes du dépérissement

De nombreux chercheurs (Dessureault, 1985, Lachance, 1985, Manion, 1981, 1985 a et b, McIlveen et al., 1986, McLaughlin, 1985, Smith, 1991) associent plusieurs causes abiotiques et biotiques au phénomène du dépérissement sans qu'aucune, prise individuellement, ne soit suffisante pour expliquer les effets observés. D'après Dessureault (1985), ces causes agissent de façon consécutive ou concomitante et leurs effets cumulatifs provoquent un affaiblissement graduel et même la mort de l'arbre. Ceci peut expliquer pourquoi l'approche traditionnelle de la phytopathologie, qui consiste à chercher une relation de cause à effet entre une maladie et un agent causal, est demeuré infructueuse face au dépérissement. Quant à Roy et al. (1985), ils ont appuyé l'opinion qui veut que le dépérissement implique plusieurs facteurs après avoir constaté que l'étude d'un seul facteur révèle des effets très variés à l'intérieur de chaque érablière.

Pour nous renseigner sur les facteurs impliqués dans le dépérissement, nous avons jugé utile de présenter le modèle conceptuel de Manion, de donner un exemple de cas-type des érablières et citer par la suite quelques hypothèses qui ont été avancées dans le milieu scientifique.

1.1.3.1 Modèle conceptuel de Manion

Selon le modèle de Manion (1985 a et b, 1981), le dépérissement est considéré comme une nouvelle maladie qui résulte de l'interaction d'un ensemble de causes physiques et biotiques. Notons que ce modèle a été proposé par Sinclair (1964), par Houston (1981) et repris par Manion (1981). Trois étapes sont distinguées dans ce modèle (fig. 1):

- Étape des facteurs prédisposants: parmi ces principaux facteurs, on retrouve les variations climatiques à long terme, le type génétique de l'hôte, les polluants atmosphériques, la qualité nutritive du sol, l'âge de l'arbre, le régime hydrique, la compétition et les infections virales. Mentionnons que ces facteurs provoquent un affaiblissement chronique de l'arbre et les effets se manifestent à long terme.

- Étape des facteurs incitants: les facteurs dans cette étape sont les insectes défoliateurs, la sécheresse, le gel, les sels de déglacage, les polluants atmosphériques et les blessures mécaniques. Dans ce cas, il s'agit de causes temporaires et accidentelles qui imposent un stress de courte durée mais relativement intense, dont les effets sur l'arbre sont plus marqués qu'à l'étape précédente.

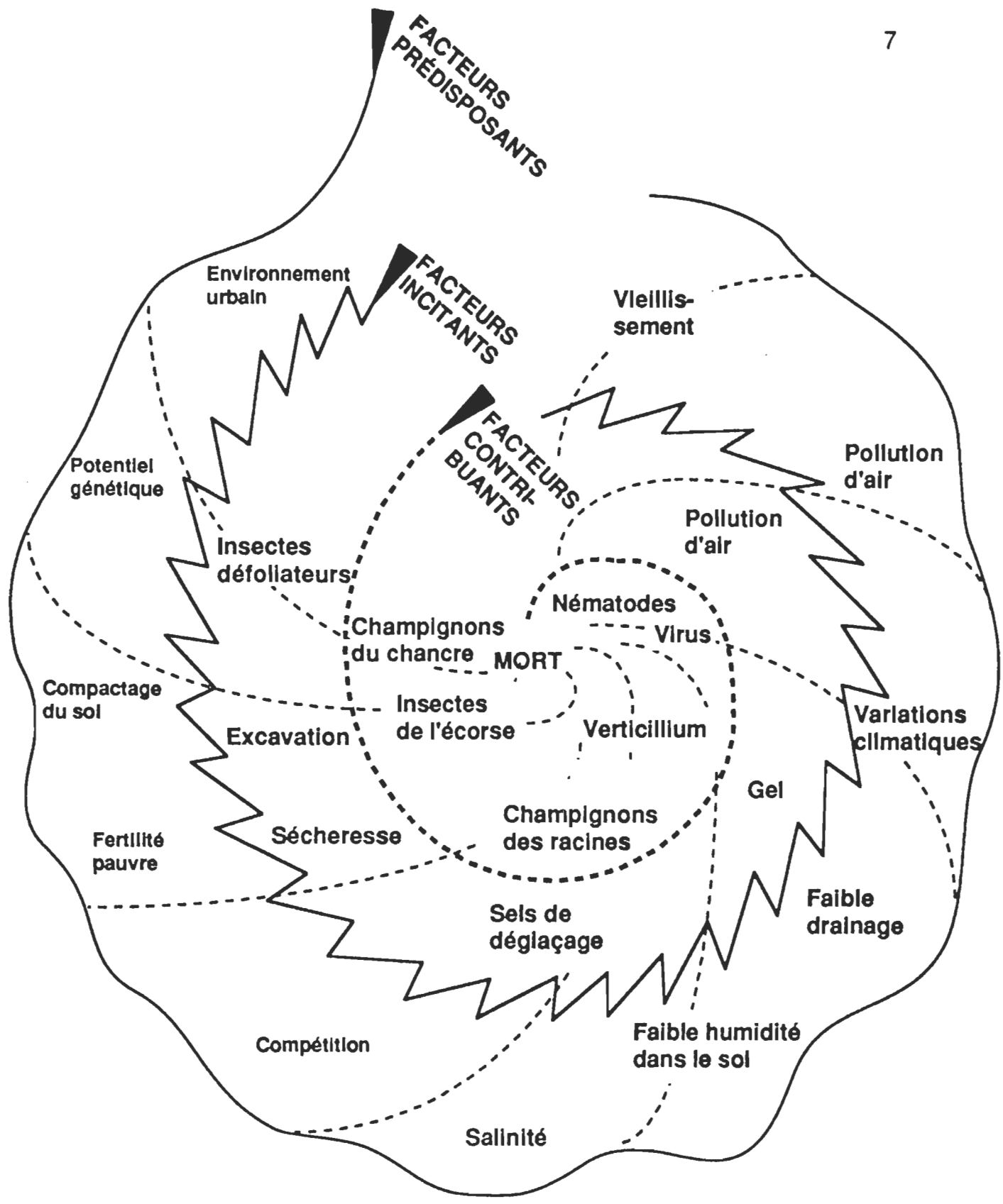


Figure 1 : Les catégories de facteurs impliqués dans le dépérissement des forêts (Manion, 1981).

- Étape des facteurs contributants: il s'agit surtout d'organismes secondaires tels les champignons du chancre, champignons des racines, virus et les insectes de l'écorce. Ces organismes profitent de l'état de faiblesse de l'arbre pour l'envahir et le faire mourir si les autres causes de stress persistent longtemps.

D'après Dessureault (1985), ces trois étapes se succéderaient dans le temps en relation avec trois niveaux de stress dont les effets seraient cumulatifs. Une ou plusieurs causes spécifiques et interchangeableables sont associées à chaque étape. Une fois le processus enclenché, l'arbre devient plus vulnérable aux stress de l'étape suivante et le dépérissement se manifeste de plus en plus jusqu'à entraîner la mort de l'arbre.

1.1.3.2 Cas-type des érablières

Plusieurs études (Bernier et Brazeau, 1986, Carrier, 1986, Gagnon, 1988, Gagnon et al., 1986, Hendershot et Jones, 1989) au Canada ont permis de conclure que la pollution atmosphérique, seule ou de concert avec d'autres stress, joue un rôle important dans le dépérissement des érablières. Selon Gagnon (1988) et Gagnon et al. (1986), les précipitations acides sont considérées comme un élément principal qui cause des perturbations du cycle nutritif à cause des baisses de pH dans le sol et la diminution de la qualité d'éléments nutritifs disponibles. Gagnon (1988) considère aussi que l'interaction entre les divers polluants humides, secs et gazeux tels que le SO₂, O₃ ou les métaux lourds, peut être envisagée comme principal facteur incitant responsable du déclenchement du dépérissement.

Notons qu'il existe d'autres facteurs qui ont été soupçonnés d'avoir joué un rôle dans le dépérissement des érablières. Parmi ces facteurs, nous pouvons citer les effets climatiques défavorables tels que le peu de neige au sol au cours des hivers 1980-81 et 82 (Roy et al., 1985, Lachance, 1985), la période de dégel survenue en février 1981 (Gagnon et al., 1986, Roy et al., 1985) qui a pu endommager le système racinaire (Lachance, 1985) et la période de sécheresse de l'été 1982 et 1983 (Roy et al., 1985, Gagnon et al., 1986). De plus, les épidémies sévères d'insectes (Des-Granges et al., 1987, Gagnon et al., 1986, Hendershot et Jones, 1989) et les déficits nutritifs (Hendershot et Jones, 1989, Ouimet, 1990, Carrier, 1986) sont considérés parmi les facteurs qui ont pu causer des stress dans les érablières.

Toutefois, les facteurs mentionnés ci-dessus n'expliquent pas à eux seuls l'ampleur du dépérissement. Comme en témoigne le modèle de Manion, ils peuvent contribuer à accélérer ce phénomène en causant des effets successifs et synergiques.

1.1.3.3 Hypothèses

Plusieurs scénarios-hypothèses ont été avancés sur les différentes causes du dépérissement, parmi lesquelles nous pouvons citer:

L'hypothèse des précipitations acides: les précipitations acides sont soupçonnées de provoquer une augmentation de l'acidité du sol qui découle du dépôt des polluants atmosphériques comme le SO_2 et NO_2 sous forme sèche ou humide (H_2SO_4 et H_2NO_3) et une toxicité liée à la présence de quantités importantes d'aluminium dans les solutions du sol (Ulrich, 1981, McLaughlin, 1985).

L'hypothèse de la déficience en magnésium: cette déficience est causée par le lessivage des feuilles par les pluies acides (McLaughlin, 1985). Notons que le magnésium est essentiel à la synthèse des pigments chlorophylliens.

L'hypothèse des polluants gazeux: parmi ces polluants, on a l'ozone qui a été avancé par Prinz et al. (1982) pour expliquer l'apparition brusque de la chlorose foliaire dans plusieurs régions en 1981. Dans la section 2.3 nous donnerons plus d'informations sur ses sources et ses effets sur la végétation.

L'hypothèse du stress général: cette hypothèse considère que la réduction de la capacité photosynthétique induite par les polluants gazeux au niveau foliaire est la cause principale de ce stress général (McLaughlin, 1985).

1.1.4 Symptômes du dépérissement

Le mécanisme du dépérissement amène des symptômes qui lui sont propres et qui le différencient des autres maladies abiotiques et biotiques. D'après les écrits de Carrier (1986), Fortier (1988), Gagnon (1987), Gagnon et al. (1986), Griffin (1965), Renaud et Allard (1987), nous avons pu identifier des symptômes du dépérissement des arbres (plus particulièrement pour l'ensemble des feuillus, tel l'érable à sucre, touchés par ce phénomène) qui sont:

- la mortalité des ramilles du pourtour de la cime puis des rameaux et des branches principales. Ce symptôme évolue toujours de l'extérieur vers l'intérieur de la cime. À un stade très avancé, la pénétration du soleil sur le tronc de l'arbre provoque le débourrement de bourgeons adventifs et donne à l'arbre dépérissant une forme en "nid de corbeau".
- l'apparition de la chlorose et de nécrose des feuilles.
- le ralentissement de la croissance des branches tertiaires qui se visualise par le regroupement des feuilles sous forme de paquets plus ou moins isolés. Ce ralentissement de croissance se traduit également par une diminution de la vitesse de cicatrisation des entailles et du taux de croissance en diamètre.
- la coloration automnale de l'écorce, initialement sur les rameaux, puis sur les grosses branches et, finalement, sur le tronc des arbres mourants.

De plus, l'ouverture du couvert forestier provoquée par la perte du feuillage et la mort des arbres favorise le développement et la croissance des espèces herbacées, arbustives et arborescentes qui forment le sous-bois.

1.1.5 Méthodes utilisées pour diagnostiquer le dépérissement

Plusieurs méthodes sont utilisées pour estimer et faire l'inventaire des dégâts entraînés par ce phénomène. À titre d'exemple, nous pouvons citer celle basée presque exclusivement sur l'appréciation visuelle de la perte d'aiguilles des arbres. D'après Garrec et al. (1988), c'est une méthode subjective, souvent peu précise et donne des résultats non homogènes. Il existe aussi des test physiologiques, mais il ne permettent pratiquement pas un diagnostic précoce du dépérissement (Garrec et al., 1988).

On peut citer d'autres exemples de méthodes comme la photographie aérienne (Ciesla, 1989), la télédétection spatiale (Carignan, 1989), l'utilisation de lasers (Chappelle et al., 1989), l'utilisation de plantes bioindicatrices (Garrec et Rose, 1988), etc., mais chacune d'elles peut présenter des avantages autant que des inconvénients. Quant à la spectroscopie photoacoustique, elle permet de mettre en évidence des dommages causés à la photosynthèse dans des conditions où aucun dégât n'est visible à l'oeil nu et s'avère utile en tant qu'outil de quantification et de diagnostic précoce du dépérissement.

Soulignons que la spectroscopie de fluorescence est aussi utilisée pour étudier les effets de stress sur la végétation (Lichtenthaler et Rinderle, 1988).

Dans le chapitre II, nous donnerons plus d'informations sur ces deux méthodes spectroscopiques.

1.2 Objectif du travail

Dans le présent projet qui s'inscrit dans le cadre des recherches sur le dépérissement des forêts, nous avons examiné le rôle individuel que peut jouer un des polluants gazeux dans ce phénomène bien que ce dernier semble être causé par l'action synergique de plusieurs facteurs de stress incluant l'ozone. Plus précisément, nous avons étudié l'effet à long terme du photooxydant: ozone, sur l'activité photosynthétique de l'érable à sucre (*Acer saccharum* Marsh.).

Pour atteindre cet objectif, deux méthodes complémentaires sont utilisées: la spectroscopie photoacoustique et la spectroscopie de fluorescence. Ce sont deux méthodes sensibles, rapides et capables de mesurer de façon quantitative et objective l'impact toxicologique que pourrait avoir ce polluant gazeux. La spectroscopie photoacoustique permet de déceler lesdits dommages, si dommages il y a, causés à la photosynthèse dans des conditions où aucun dégât n'est visible à l'oeil nu, autrement dit, elle permet de faire un diagnostic précoce du dépérissement. Cette méthode nous permet de mesurer directement sur la feuille, le degré de son activité photosynthétique exprimée en

emmagasinage d'énergie photochimique, c'est-à-dire la quantité d'énergie que la feuille utilise pour sa photosynthèse et en dégagement d'oxygène.

La spectroscopie de fluorescence est considérée aussi comme un outil de diagnostic précoce de dépérissement. Elle permet de mesurer également la photosynthèse de la feuille exprimée en terme de R_{fd} , rapport de décroissance de fluorescence, F_d , et de l'intensité de la fluorescence à l'état stationnaire, F_s , ($R_{fd}=F_d/F_s$) correspondant à la fluorescence du photosystème II impliqué directement dans la production de l'oxygène. Cette méthode spectroscopique nous a permis également de suivre l'évolution de la densité chlorophyllienne dans le temps sous l'effet de l'ozone.

CHAPITRE II

REVUE DE LITTÉRATURE

2.1 Spectroscopie photoacoustique

L'effet photoacoustique a été observé pour la première fois en 1880 par Alexander Graham Bell (1880) au cours de ses expériences de télécommunication. Il a découvert qu'un faisceau de lumière modulée, d'une fréquence f , crée, dans un solide absorbant, un échauffement périodique de même fréquence. Cet échauffement produit des vibrations sonores par dilatation du gaz. Bell démontra que la nature des rayons produisant cet effet sonore dans diverses substances dépendait de la nature des substances exposées au faisceau lumineux et que, pour chaque substance, les sons détectés étaient dus à l'absorption de l'énergie électromagnétique. Il constata que les signaux les plus intenses provenaient de substances poreuses, sombres et spongieuses. Motivés par les découvertes de Bell, Tyndall (1881) et Röentgen (1881) ont démontré l'existence du même phénomène directement dans les fluides alors que Mercadier (1881) mena ses manipulations sur les solides, les liquides et les gaz.

Ces travaux préliminaires furent oubliés pendant plusieurs dizaines d'années jusqu'à ce que vint la découverte du microphone qui permit de

détecter le signal photoacoustique. Vers le début des années 30, des observations de la détection photoacoustique d'un gaz ont été faites par Pfund (1939) et Viengerov (1938). En 1938, Viengerov a utilisé l'effet photoacoustique pour étudier l'absorption de la lumière infrarouge dans les gaz pour pouvoir ainsi évaluer les concentrations d'espèces gazeuses d'un mélange. En 1946, Gorelik fut le premier à proposer que la mesure de la phase du signal photoacoustique pouvait être utilisée pour examiner la vitesse du transfert d'énergie entre les niveaux vibrationnels et translationnels des molécules gazeuses.

Concernant l'effet photoacoustique dans les solides, ce n'est que vers le début des années 70 qu'il a été redécouvert. Parker (1973) fut le premier qui a développé un modèle théorique de l'effet photoacoustique. Ce modèle traitait le transfert de chaleur dans l'échantillon comme un processus de diffusion simple tandis que les phénomènes apparaissant dans le gaz coupleur étaient décrits par les équations de l'hydrodynamique et de la diffusion. Cependant, la théorie la plus utilisée jusqu'à nos jours est celle élaborée par Rosencwaig et Gersho (1976). Leur théorie est basée sur l'hypothèse que la source primaire du signal photoacoustique provient du débit périodique de chaleur du solide au gaz environnant. Les théories plus récentes s'y rapportent continuellement.

La technique de spectroscopie photoacoustique a permis d'obtenir des spectres d'échantillons opaques (solides et liquides) dans un large

domaine de longueurs d'ondes (ultra-violet, visible et proche infrarouge). Le premier spectre photoacoustique obtenu avec du matériel biologique a été décrit en 1973 par Harshbarger et Robin. L'étude des paramètres photosynthétiques a été débutée par Cahen et ses collaborateurs en 1978.

Au cours des prochaines lignes, nous allons rappeler le principe de base de la spectroscopie photoacoustique, ensuite présenter le modèle théorique de Rosencwaig et Gersho (1976). Nous nous limiterons à expliquer l'application de cette technique dans l'étude des paramètres photosynthétiques.

2.1.1 Principe de base de la spectroscopie photoacoustique

L'effet photoacoustique découvert par Bell peut être décrit phénoménologiquement de manière assez simple: quand une substance absorbe de l'énergie lumineuse, toute cette énergie est convertie en chaleur en l'absence de réactions photochimiques et de luminescence. Autrement dit, la spectroscopie photoacoustique consiste à exciter un échantillon contenu dans une cellule hermétique fermée, avec un faisceau de lumière monochromatique modulée. L'échantillon est ensuite soumis à l'absorption de la lumière et à la désactivation thermique. Ce cycle induit le réchauffement et le refroidissement du gaz en contact avec la surface de l'échantillon. L'échauffement produit une variation périodique de la pression dont la fréquence est égale à la fréquence de modulation du rayonnement incident. Cette variation de pression donne naissance à un

signal acoustique mesuré par un microphone très sensible qui génère les signaux électriques correspondants à des longueurs d'onde données. Selon Poulet et al. (1980), les caractéristiques de ce signal, amplitude et déphasage par rapport à la lumière incidente, sont dépendantes en particulier des propriétés optiques et thermiques du corps considéré et de la fréquence de modulation de la lumière.

2.1.2 Modèle de Rosencwaig et Gersho

Toute radiation absorbée par un solide est convertie, partiellement ou totalement, en chaleur par le processus de désexcitation non radiative. Rosencwaig et Gersho formulèrent un modèle unidimensionnel du flux de chaleur dans la cellule résultant de l'énergie lumineuse absorbée. Les auteurs considèrent une cellule photoacoustique cylindrique (fig. 2) de diamètre D et de longueur L . L'échantillon, ayant la forme d'un disque ou cylindre de diamètre D et d'épaisseur l , repose sur un matériel de support d'épaisseur (l_b). Signalons que ce dernier constitue un conducteur thermique pauvre. Enfin, l'épaisseur de la colonne de gaz (l_g) est donnée par l'expression:

$$l_g = L - l - l_b \quad (1)$$

Nous supposons une source lumineuse monochromatique modulée avec une longueur d'onde incidente λ sur le solide, l'intensité I est donnée par la relation:

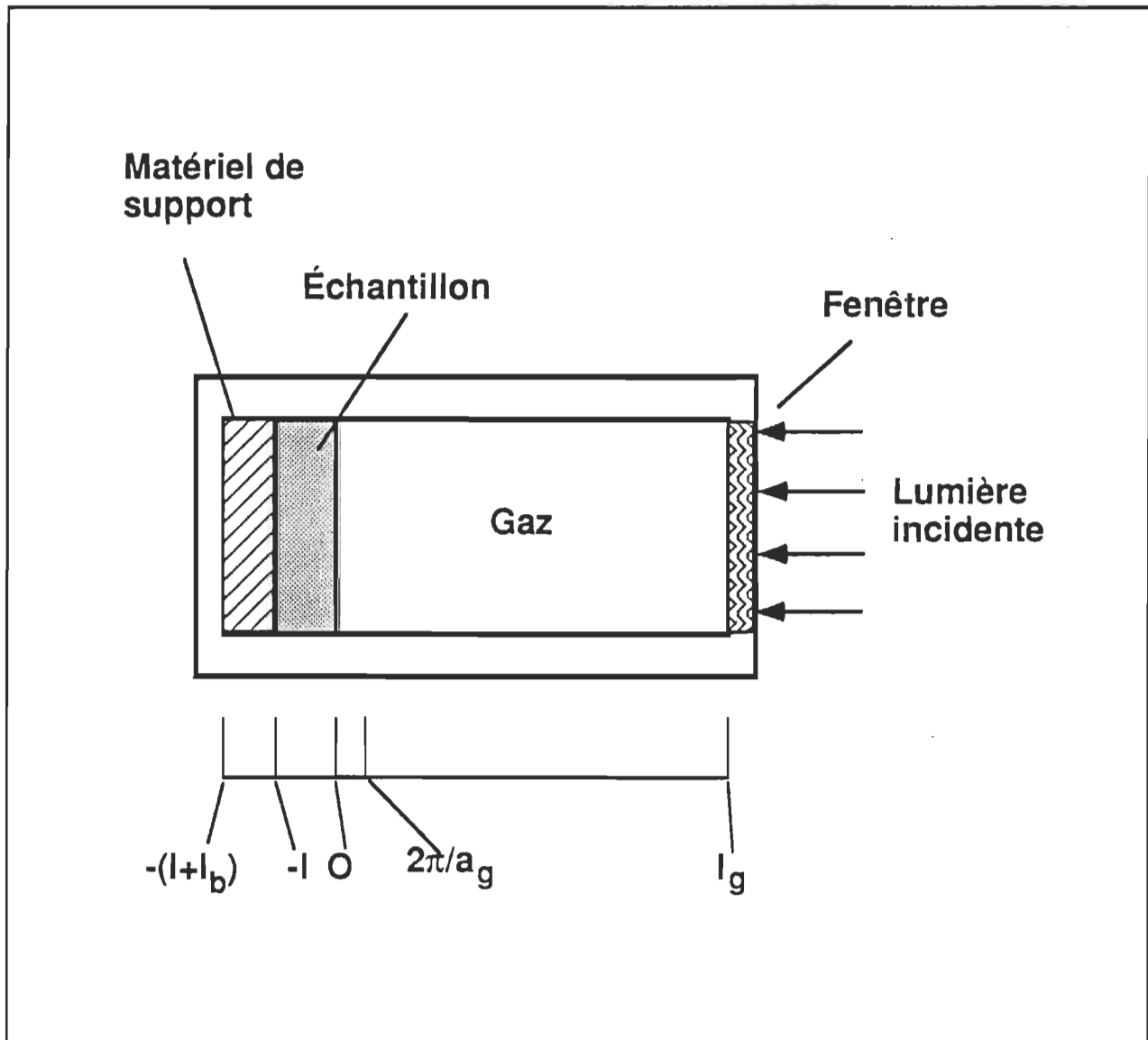


Figure 2 : Schéma de l'intérieur d'une cellule photoacoustique cylindrique (Adams, 1982).

$$I = \frac{1}{2} I_0 (1 + \cos \omega t) \quad (2)$$

I_0 : flux lumineux incident ($W m^{-2}$)

ω : fréquence angulaire ($r s^{-1}$)

t : temps (s)

Soit β , le coefficient d'absorption optique (cm^{-1}) de l'échantillon pour la longueur d'onde λ ; la densité de chaleur produite à n'importe quel point x due à la lumière absorbée en ce point est donnée par la relation qui suit:

$$\frac{1}{2} \beta I_0 e^{\beta x} (1 + \cos \omega t) \quad (3)$$

Par la suite en tenant compte de la distribution de la source de chaleur, les équations de diffusion thermique pour le solide, le matériel de support et le gaz sont respectivement établies comme suit:

$$\frac{\partial^2 T}{\partial x^2} = \frac{1}{\alpha_s} \frac{\partial T}{\partial t} - A e^{\beta x} [1 + e^{i\omega t}] , \text{ pour } -l \leq x \leq 0 \quad (4)$$

$$\frac{\partial^2 T}{\partial x^2} = \frac{1}{\alpha_b} \frac{\partial T}{\partial t} , \text{ pour } -(l + l_b) \leq x \leq -l \quad (5)$$

$$\frac{\partial^2 T}{\partial x^2} = \frac{1}{\alpha_g} \frac{\partial T}{\partial t} , \text{ pour } 0 \leq x \leq l_g \quad (6)$$

où :

T : correspond à la température.

i : correspond à $\sqrt{-1}$

A : correspond à $\beta I_0 \eta / 2k_j$

η : facteur d'efficacité de la conversion thermique de la lumière absorbée à une longueur donnée.

β : coefficient d'absorption optique (cm^{-1}) .

$\alpha_j = \kappa_j / \rho_j c_j$: diffusivité thermique du matériel j ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$).

κ_j : conductivité thermique du matériel j ($\text{cal cm}^{-1} \text{s}^{-1} \text{°C}^{-1}$).

ρ_j : densité du matériel j (g cm^{-3})

C_j : chaleur spécifique du matériel j ($\text{cal g}^{-1} \text{°C}^{-1}$).

Notons que j peut être remplacé par les lettres s , b et g respectivement pour le solide , le matériel et le gaz.

La résolution du système d'équations de transfert thermique en appliquant les conditions limites appropriées permet de déterminer la variation de la température périodique dans toute la cellule photoacoustique. On obtient ainsi l'expression suivante:

$$T_g (x,t) = \theta \exp (-\sigma_g x + i \omega t) \quad (7)$$

où θ correspond à l'amplitude complexe de la température périodique à la frontière gaz-échantillon ($x=0$) et est donnée par la formule ci-après:

$$\theta = \frac{\beta I_0}{2K_s(\beta^2 - \sigma_s^2)} \left[\frac{(r-1)(b+1)e^{(\sigma_s l)} - (r+1)(b-1)e^{(-\sigma_s l)} + 2(b-r)e^{-\beta l}}{(g+1)(b+1)e^{(\sigma_s l)} - (g-1)(b-1)e^{(-\sigma_s l)}} \right]$$

Où:

$$b = k_{ba}b/k_s a_s$$

$$g = k_{ga}g/k_s a_s$$

$$r = (1-i)\beta/2 a_s$$

$$\sigma_g = (1+i) a_g$$

En prenant la partie réelle de l'équation (8), on obtient la variation de la température physique actuelle dans le gaz qui est donnée par l'expression:

$$T_g(x,t) = \exp(-a_g x) [\theta_1 \cos(\omega t - a_g x) - \theta_2 \sin(\omega t - a_g x)] \quad (9)$$

Où:

$$a_g = \sqrt{\omega/2\alpha_g} \text{ est le coefficient de diffusion thermique du gaz (cm}^{-1}\text{).}$$

θ_1 et θ_2 sont les parties réelles et imaginaires de θ donné par l'équation 8.

Ensuite, en utilisant l'équation des gaz parfaits, on peut alors déterminer le déplacement $\delta x(t)$ du piston de gaz dû à la variation périodique de la température $T_g(x,t)$. Ce déplacement est donné par l'expression :

$$\delta x(t) = \frac{\theta \mu_g}{\sqrt{2} T_0} \exp \left[i \left(\omega t - \frac{1}{4} \pi \right) \right] \quad (10)$$

Où T_0 est la somme de la température ambiante et de la composante de la température à la surface solide.

$$\mu_g = \frac{1}{a_g}$$

où μ_g est la longueur de diffusion thermique du gaz (cm).

Par la suite, Rosencwaig et Gersho considèrent que le reste du gaz répond de façon adiabatique à l'action du piston d'air exercée par une mince pellicule de gaz d'épaisseur dx . Ainsi l'équation des gaz adiabatiques est la suivante:

$$PV^\gamma = \text{cte} \quad (11)$$

Où

P : pression

V : volume du gaz dans la cellule

γ : rapport des chaleurs spécifiques ($\gamma = C_p/C_v$).

De l'équation 11, on peut déduire la variation de pression qui est donnée par la formule suivante:

$$\delta P(t) = \frac{\gamma P_0}{V_0} \cdot \delta V = \frac{\gamma P_0}{l_g} \cdot \delta x(t) \quad (12)$$

En remplaçant $\delta(x)$ par son expression, on obtient:

$$\delta P(t) = Q \exp \left[i \left(\omega t - \frac{1}{4} \pi \right) \right] \quad (13)$$

Avec

$$Q = \frac{\gamma P_0 \theta}{\sqrt{2} l_g a_g T_0} \quad (14)$$

La variation de pression physique actuelle, $\Delta P(t)$, est donnée par la partie réelle de $\delta P(t)$, d'où:

$$\Delta P(t) = Q_1 \cos \left(\omega t - \frac{1}{4} \pi \right) - Q_2 \sin \left(\omega t - \frac{1}{4} \pi \right) \quad (15)$$

Où Q_1 et Q_2 sont les parties réelles et imaginaires de Q . En combinant les équations 8 et 14, on obtient la formule explicite correspondant à la variation de pression sinusoïdale:

$$Q = \frac{\beta I_0 g P_0}{2 k_s l_g a_g T_0 (\beta^2 - \sigma_s^2) \sqrt{2}} \left[\frac{(r-1)(b+1)e^{(\sigma_s l)} - (r+1)(b-1)e^{(-\sigma_s l)} + 2(b-r)e^{-\beta l}}{(g+1)(b+1)e^{(\sigma_s l)} - (g-1)(b-1)e^{(-\sigma_s l)}} \right] \quad (16)$$

Pour rendre la formule de Q plus simple, Rosencwaig et Gersho ont proposés six cas spéciaux selon l'opacité optique des solides. Les cas considérés sont des matériaux optiquement opaques ($\mu_\beta \ll l_s$) et des matériaux optiquement transparents ($\mu_s \gg l_s$). Dans ce dernier cas, la lumière est absorbée sur toute la longueur de l'échantillon et une autre partie est transmise à travers le solide. Alors que dans le premier cas, la plupart de la lumière est absorbée sur une faible distance comparativement à la longueur de l'échantillon et essentiellement aucune n'est transmise.

Dans chacun de ces matériaux, trois cas ont été considérés en fonction de l'amplitude relative de la longueur de diffusion thermique (μ_s), de l'épaisseur de l'échantillon (l) et de la longueur d'absorption optique (μ_β). Notons que pour les six cas signalés, on définit Y , comme étant une constante apparaissant dans la formule de Q et elle est donnée par l'expression suivante:

$$Y = \frac{\gamma P_0 I_0}{2l_g T_0 \sqrt{2}} \quad (17)$$

Le tableau (1) résume les six cas considérés. Dans le cas des matériaux opaques, le signal photoacoustique est indépendant du coefficient d'absorption optique si $\mu_\beta \ll \mu_s$ et l'amplitude du signal varie proportionnellement à ω^{-1} . Ce cas correspond à une saturation du signal photoacoustique. Par contre, si $\mu_\beta \gg \mu_s$, l'amplitude du signal photoacoustique est proportionnelle à β et le signal est dépendant des

Tableau 1

Modèle de Roscenwaig et Gersho: cas spéciaux

Solides optiquement transparents ($\mu_g > 1$)		Solides optiquement opaques ($\mu_g < 1$)	
Cas	Expression de Q après simplification	Cas \cong	Expression de Q après simplification
<u>Solides thermiquement minces</u> ($\mu_s \gg 1; \mu_s > \mu\beta$)	$Q \cong \frac{(1-i)\beta l}{2a_g} \cdot \frac{\mu_b}{k_b} Y$	<u>Solides thermiquement minces</u> ($\mu_s \gg 1; \mu_s \gg \mu\beta$)	$Q \cong \frac{(1-i)\mu_b}{2a_g} \frac{Y}{k_b}$
<u>Solides thermiquement minces</u> ($\mu_s > 1; \mu_s \ll \mu\beta$)	$Q = \frac{\beta l Y}{4k_s a_g a_s^3 b} [(\beta^2 + 2a_s^2) + i(\beta^2 - 2a_s^2)]$ $Q \cong \frac{(1-i)\beta l}{2a_g} \frac{\mu_b}{k_b} Y$	<u>Solides thermiquement épais</u> ($\mu_s < 1; \mu_s > \mu\beta$)	$Q \cong \frac{Y}{2a_g a_s k_s \beta} (\beta - 2a_s - i\beta)$ $Q \cong \frac{(1-i)}{2a_g} \cdot \frac{\mu_s}{k_s} Y$
<u>Solides thermiquement épais</u> ($\mu_s < 1; \mu_s \ll \mu\beta$)	$Q \cong \frac{-i\beta\mu_s}{2a_g} \frac{\mu_s}{k_s} Y$	<u>Solides thermiquement épais</u> ($\mu_s \ll 1; \mu_s < \mu\beta$)	$Q = \frac{-i\beta Y}{4a_g a_s^3 k_s} (2a_s - \beta + i\beta)$ $Q = \frac{-i\beta\mu_s}{2a_g} \cdot \frac{\mu_s}{k_s} Y$

propriétés thermiques de l'échantillon et varie selon $\omega^{-3/2}$. Alors que dans le cas des matériaux transparents, le signal acoustique est proportionnel à β si l'échantillon est thermiquement épais, le signal est indépendant de son épaisseur s'il est thermiquement mince, le signal sera aussi proportionnel à l'épaisseur du solide et varie selon ω^{-1} .

Rosencwaig et Gescho ont conclu dans leur modèle que l'effet photoacoustique dans les solides dépend de trois principaux facteurs soient: l'épaisseur de l'échantillon (l), la longueur de diffusion thermique (μ_s) et de la longueur d'absorption optique (μ_β). Enfin, il est important de signaler que l'épaisseur de l'échantillon est ajustable physiquement et la longueur de diffusion thermique est ajustable en faisant varier la fréquence du modulateur.

2.1.3 Application à la photosynthèse

2.1.3.1 Rappel sur la photosynthèse

La photosynthèse est le processus par lequel les plantes supérieures et les algues vertes utilisent l'énergie lumineuse absorbée pour synthétiser les produits riches en énergie à partir de l'eau et du bioxyde de carbone. Cette transformation a lieu dans un organe de la cellule végétale nommé le chloroplaste (Portis, 1982). Le chloroplaste est entouré par une membrane externe, qui joue le rôle de structure et à l'intérieur, on retrouve un réseau complexe de membranes qu'on appelle les membranes de thylacoïde. Celles-ci, lorsqu'elles sont empilées, forment un granum qui baigne dans le stroma (fig. 3).

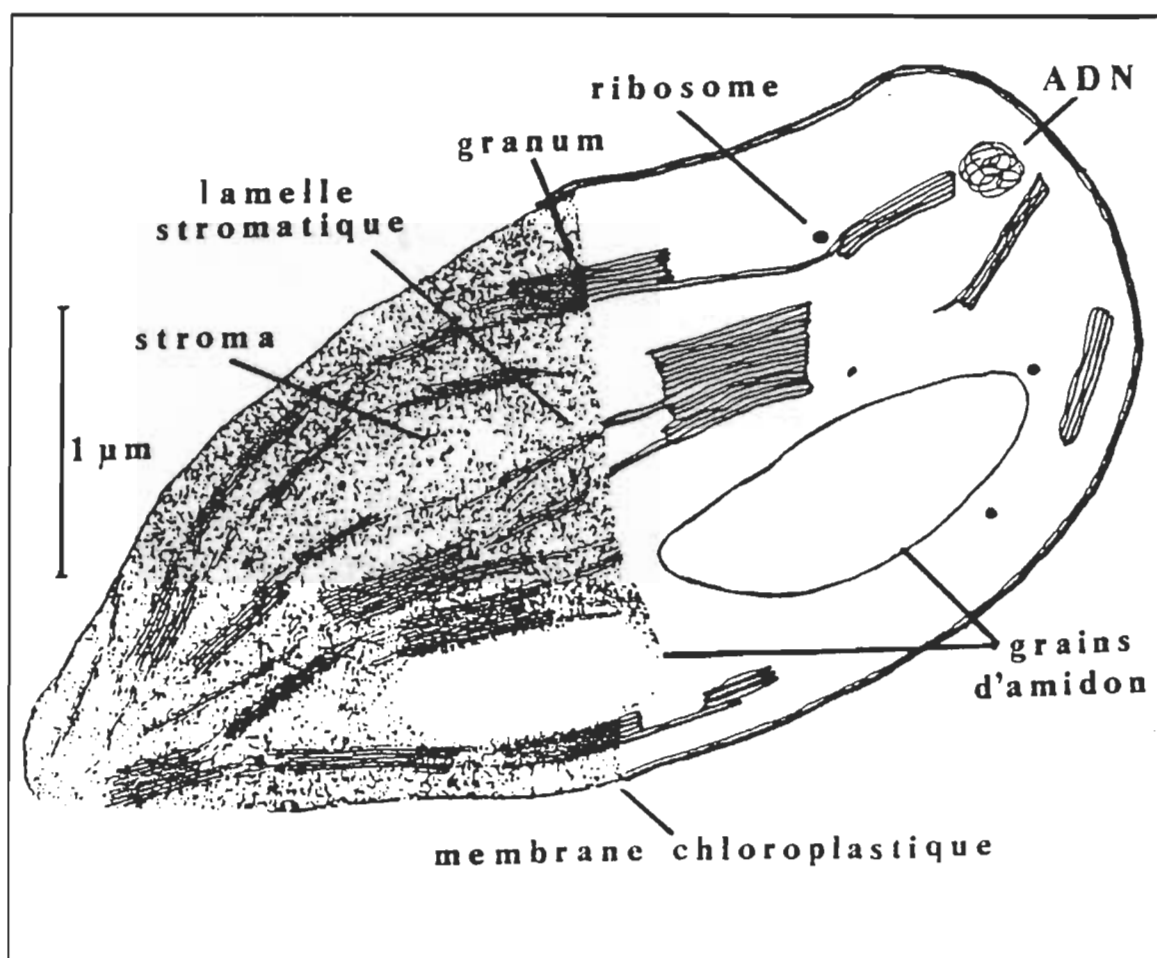


Figure 3: Schéma d'un chloroplaste (Charland, 1992).

C'est dans ces membranes thylacoïdiennes qu'on retrouve la majeure partie des pigments photosynthétiques et des protéines nécessaires aux réactions primaires de la photosynthèse. Les photons sont absorbés par les complexes antennes qui drainent cet énergie électromagnétique jusqu'aux centres réactionnels des photosystèmes I et II (PSI et PSII). À cet endroit, la chlorophylle perd un électron qui est entraînée au travers de la chaîne transporteur d'électron jusqu'à l'accepteur final, le NADP⁺ (fig. 4).

L'énergie lumineuse est absorbée dans les plantes vertes par différents pigments, en particulier la chlorophylle qui constitue le pigment de première importance dans les mécanismes primaires de la photosynthèse. Après absorption de l'énergie (excitation), un électron de la molécule de chlorophylle passe de son niveau fondamental (S₀) aux états singulets supérieurs (S₁, S₂,...). La désexcitation in vivo des molécules de chlorophylle se fait par différents processus tels que présentés à la figure 5 (Buschmann et al., 1984, Buschmann et Prehn, 1986):

- a) Désexcitation par des voies non radiatives libérant de la chaleur,
 (S₂ → S₁; S₁ → S₀; S₁ → T, T → S₀)
- b) Émission de la fluorescence (S₁ → S₀).

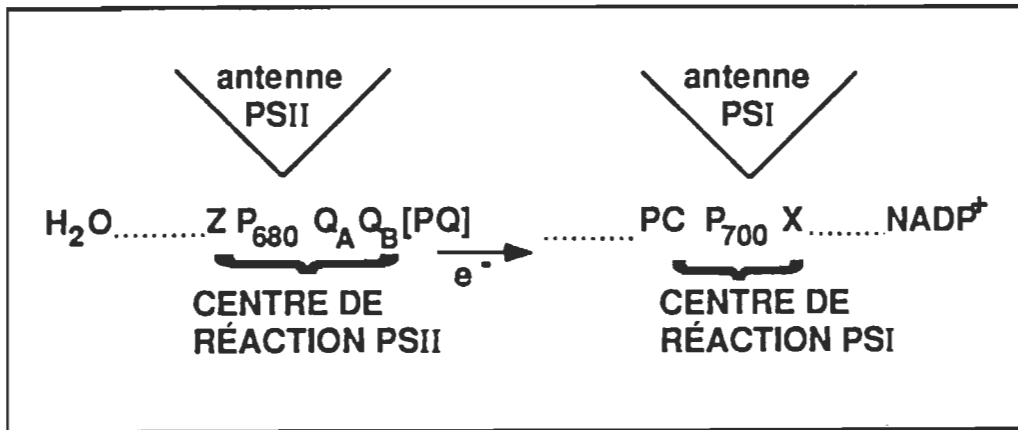


Figure 4 : Représentation schématique du transfert d'électron photosynthétique.

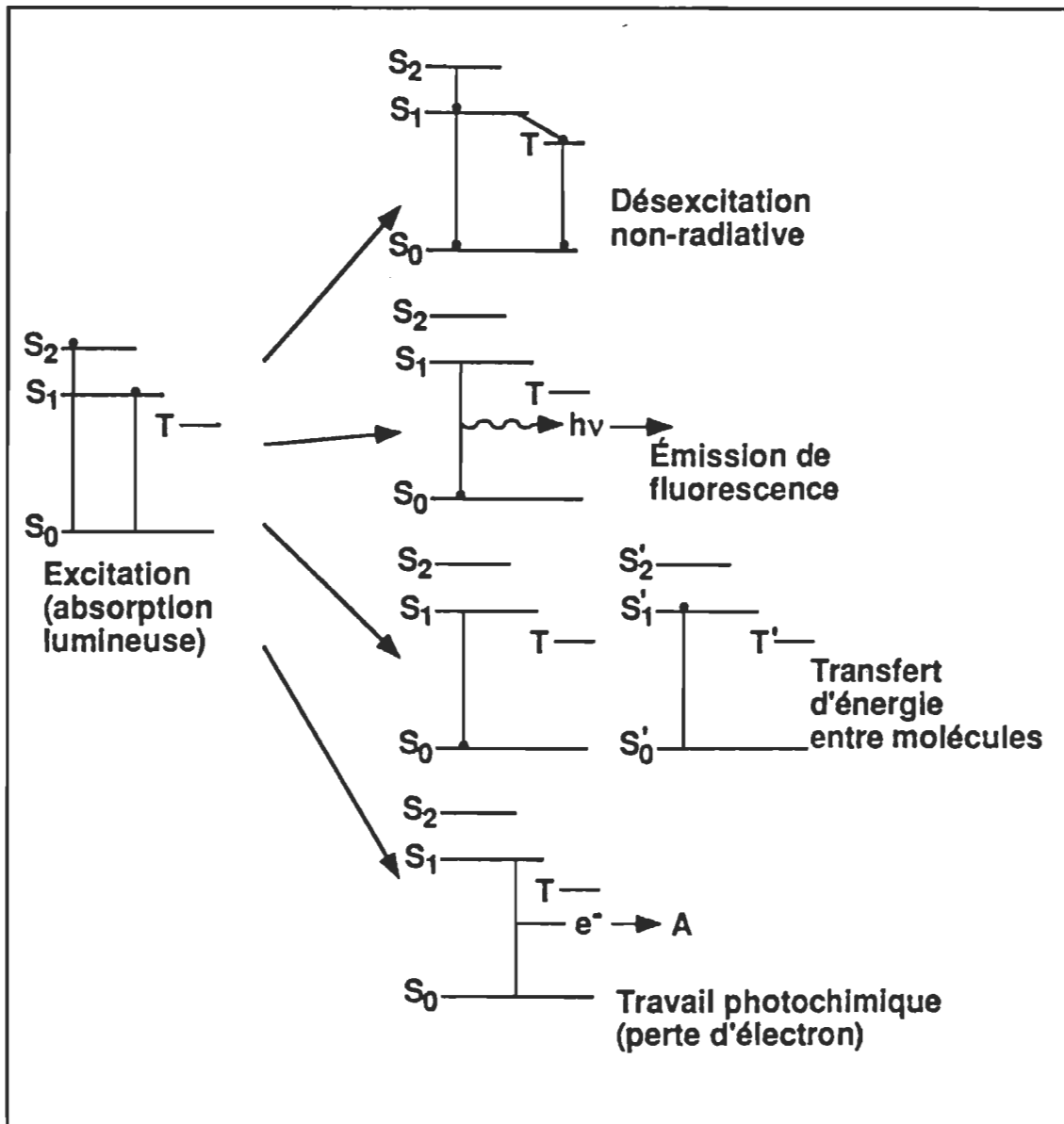


Figure 5 : États de désexcitation de la chlorophylle in vivo (Buschmann et al., 1984).

- c) Transfert d'énergie entre molécules de chlorophylles voisines se produisant principalement dans les antennes collectrices de lumière.
- d) Travail photochimique constituant la conséquence la plus importante de l'absorption de la lumière par un organisme photosynthétique.

Il est important de signaler que tous ces processus de désexcitation sont reliés entre eux et se produisent en même temps dans une feuille. Donc une variation de la photosynthèse (travail photochimique) va se répercuter sur la quantité de chaleur dissipée ainsi que celle de la fluorescence émise. La dissipation thermique peut être détectée par la spectroscopie photoacoustique, nous permettant ainsi d'évaluer l'activité photosynthétique d'une feuille. De plus, l'émission de fluorescence nous aide à diagnostiquer l'état de santé d'une plante, mesurée par l'effet Kautsky (voir section 2.2).

2.1.3.2 Mesures de l'activité photosynthétique

Les méthodes photoacoustiques ont été utilisées avec succès pour mesurer l'activité photosynthétique des centres réactionnels. Des études ont été menées soit sur des chloroplastes isolés (Cahen et al., 1978, Lasser-Ross et al., 1980) ou sur des feuilles entières (Bults et al., 1981, 1982, Inoue et al., 1979, Malkin, 1986) .

Selon Malkin (1986), Malkin (1987) et Ronen et al. (1985), il est à signaler que chez une feuille saine, il existe deux paramètres qui permettent d'étudier la photosynthèse, soient l'amplitude du signal d'oxygène normalisée par rapport au signal thermique (A_{O_2}/A_{Pt}) obtenu à basse fréquence de modulation et l'emmagasinage d'énergie photosynthétique (EEP) mesuré à haute fréquence de modulation.

Pour distinguer entre ces deux paramètres, un faisceau de lumière continue et saturant est utilisé, dans ce cas le signal thermique augmente alors que celui d'oxygène disparaît. Ces deux effets sont observés séparément à hautes et à basses fréquences de modulation. Bults et al. (1981, 1982) ont présenté une analyse du signal photoacoustique en considérant les deux contributions (thermique et photobarique de l'oxygène) comme des quantités scalaires. Alors que Poulet et al. (1983) ont développé une approche qui repose sur une analyse vectorielle du signal, correspondant au déphasage existant entre les deux contributions. Ce déphasage peut être expliqué par le fait que la diffusivité de l'oxygène est inférieure à la diffusivité thermique.

Au cours des prochaines lignes, nous discuterons de l'analyse scalaire, des effets du faisceau actinique et des fréquences de modulation ainsi que de l'analyse vectorielle du signal. Pour provoquer une saturation de la photosynthèse, un faisceau de lumière blanche continue et de forte intensité est appliqué. Ce faisceau saturant provoque une fermeture des centres réactionnels et dans ce cas la lumière modulée absorbée par l'échantillon est complètement convertie en chaleur ("saturation photochimique"). Ronen et al. (1985) ont montré que la saturation peut être provoquée par des intensités élevées de l'ordre de

de 250 W m^{-2} . Quant à Charland (1989), il a trouvé que l'activité photosynthétique des plantes en C_3 telle l'érable à sucre peut être saturée par des intensités avoisinantes de 150 W m^{-2} alors que dans le cas des plantes en C_4 telle le maïs, la saturation est produite aux alentours de 250 W m^{-2} . Ces intensités ont été considérées suffisantes pour saturer la photosynthèse sans toutefois causer des dommages irréversibles à l'appareil photosynthétique.

Le faisceau actinique permet, en saturant la photosynthèse, d'éliminer les composantes de l'emmagasinage photochimique et du dégagement d'oxygène, seul le signal thermique maximal est détecté par le microphone. Rappelons que la lumière saturante ne contribue pas au signal photoacoustique puisqu'elle n'est pas modulée.

Des études faites sur des feuilles de tabac (Bults et al., 1981, 1982, Malkin et al., 1981, Ronen et al., 1985) ont montré que le signal photoacoustique de la feuille peut augmenter ou diminuer sous l'effet du faisceau saturant, et ceci est dépendant de la fréquence de modulation utilisée. La figure 6 illustre un exemple de ces résultats à hautes et à basses fréquences de modulation. À des fréquences élevées ($> 200 \text{ Hz}$), l'application du faisceau saturant provoque une augmentation dans le signal photoacoustique ("effet positif") et ceci d'une manière réversible, dans ce cas, seule la contribution importante de EEP qui

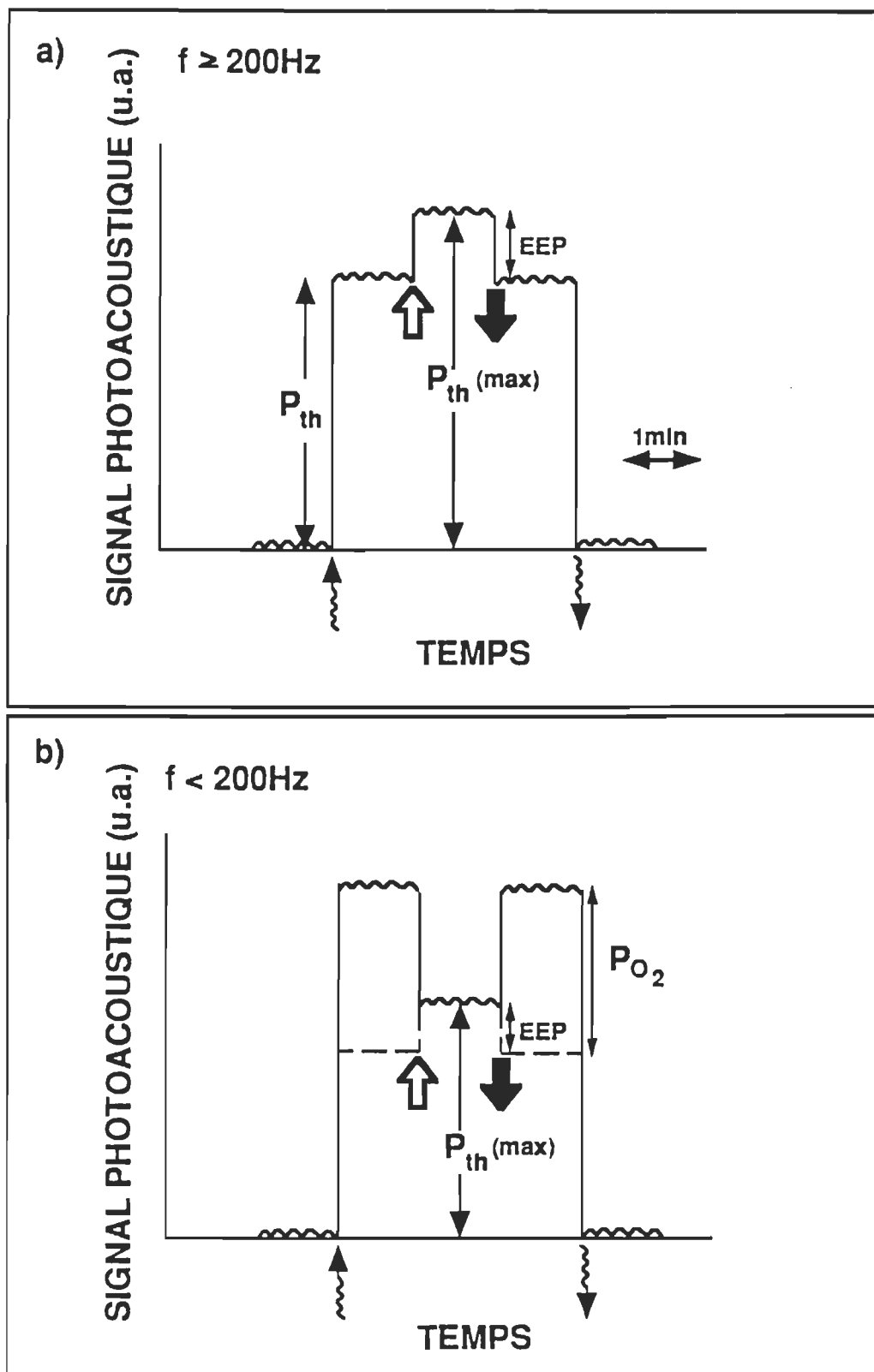


Figure 6 : Effet du faisceau saturant à haute (a) et à basse (b) fréquence de modulation. Les flèches ondulées pointants vers le haut et vers le bas représentent respectivement l'illumination et l'extinction du faisceau modulé. Les flèches épaisses pointants vers le haut et vers le bas représentent respectivement l'illumination et l'extinction du faisceau saturant blanc.

persiste. La composante du dégagement d'oxygène disparaît complètement à hautes fréquences de modulation puisque l'oxygène diffuse à une vitesse plus faible que celle de la chaleur. Cependant à basses fréquences (< 200 Hz), le cas inverse est observé, c'est-à-dire que l'application du faisceau saturant engendre une diminution dans le signal photoacoustique ("effet négatif") car il existe une contribution importante de la composante d'oxygène.

Bults et al. (1981, 1982) ont conclu que le signal photoacoustique d'une feuille intacte est composé généralement de deux principales contributions originant du chloroplaste, soient:

- La composante photothermique (P_{th}) qui résulte de la conversion totale ou partielle de l'énergie lumineuse absorbée en chaleur. Cette contribution est obtenue par la formule suivante:

$$P_{th} = P_{th(max)} - EEP \quad (18)$$

$P_{th(max)}$ représente la composante thermique maximale et EEP celle de l'emmagasinage d'énergie photosynthétique. Ce dernier paramètre diminue la quantité de la composante thermique puisque les deux modes de dissipation énergétique constituent des modes compétitifs de désactivation énergétique.

- La composante photobarique (P_{O_2}) qui représente le dégagement d'oxygène provenant de l'activation de l'appareil photosynthétique.

Comme nous l'avons déjà dit, cette contribution est particulièrement importante à basse fréquence de modulation.

En général, le signal photoacoustique est caractérisé par l'équation suivante:

$$P = P_{th(max)} - EEP + P_{O_2} \quad (19)$$

Il y a lieu de mentionner que Malkin (1986), Malkin et al., (1981) et Ronen et al. (1985) ont défini l'emmagasinage d'énergie photosynthétique, en travaillant à hautes fréquences de modulation, comme étant le rapport de la différence des signaux photoacoustiques obtenus en présence (Q_{ms}) et en absence (Q_m) du faisceau saturant. Donc, EEP est donné par la relation suivante:

$$EEP = \left(\frac{Q_{ms} - Q_m}{Q_{ms}} \right) \times 100 \quad (20)$$

Notons que la valeur de EEP déterminée à haute fréquence de modulation est similaire à celle obtenue à faible fréquence (Kanstad et al., 1983).

Quant au calcul de l'amplitude du signal d'oxygène, une analyse quantitative de ce signal photobarique a été développée par Poulet et al. (1983).

2.1.3.3 Analyse vectorielle du signal

Poulet et al. (1983) ont développé une approche qui repose sur une analyse vectorielle du signal photoacoustique. Les deux contributions au signal sont considérées comme des vecteurs qui ont une même origine, le chloroplaste, mais qui présente une différence de phase puisque la vitesse de diffusion de l'oxygène est plus faible que celle de la chaleur. L'utilisation de l'amplitude et de la phase du signal a permis de séparer les deux contributions au signal photoacoustique et de quantifier le signal du dégagement d'oxygène.

Dans ce paragraphe, nous présenterons une description de cette analyse vectorielle. Une description plus détaillée de ce modèle est présentée dans la référence de Poulet et al. (1983).

À la figure 7, on trouve une représentation vectorielle des composantes du signal photoacoustique détectées à basses fréquences de modulation (< 200 Hz). L'utilisation d'un amplificateur à détection synchrone double phase permet la mesure de ces composantes en phase (cosinus) et en quadrature (sinus) (fig. 7a). Le signal photoacoustique résultant (\vec{R}) est considéré comme la somme vectorielle des contributions thermiques (\vec{T}) et oxygène (\vec{O}). Les projections R_C et R_S de ce vecteur résultant respectivement en phase et en quadrature permettent d'obtenir l'équation suivante:

$$|\vec{R}| = \sqrt{R_S^2 + R_C^2} \quad (21)$$

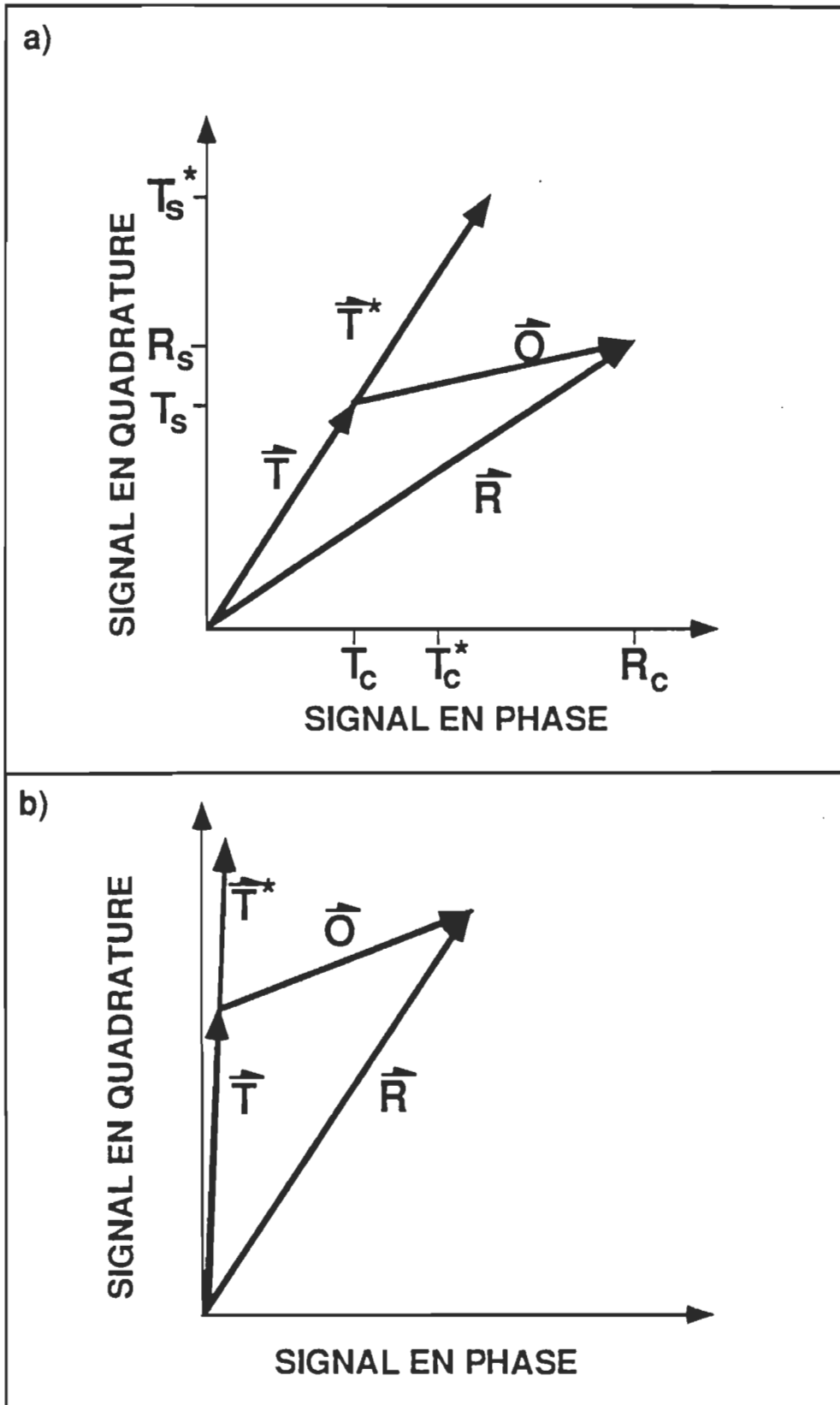


Figure 7 : Représentation schématique des composantes vectorielles du signal photoacoustique dans les feuilles à faible fréquence de modulation ($f < 200\text{Hz}$)
 a) sans ajustement des phases
 b) avec ajustement des phases
 (Charland, 1992).

Rappelons que lorsque le faisceau de lumière continue est appliqué pour saturer la photosynthèse, l'EEP et la production modulée de l'oxygène disparaissent et seul le signal thermique maximale qui est mesuré. Ainsi sur la reproduction vectorielle, le vecteur d'oxygène (\vec{O}) disparaît alors que le vecteur thermique augmente jusqu'à \vec{T}^* . Les constituantes de ce dernier vecteur (T_s^* et T_c^*) peuvent être détectées dans ces conditions, en phase et en quadrature de phase et permettent d'avoir la relation suivante:

$$|\vec{T}^*| = \sqrt{T_s^{*2} + T_c^{*2}} \quad (22)$$

Quand le faisceau saturant est éliminé, la composante d'oxygène réapparaît sur l'une des phases alors que la 2ième phase représente les deux contributions (thermique et oxygène). Les vecteurs thermique \vec{T} et thermique maximale \vec{T}^* sont liés par:

$$K = \frac{|\vec{T}|}{|\vec{T}^*|} \quad (23)$$

Ce rapport est déterminé à hautes fréquences de modulation pour éliminer la composante d'oxygène, mais il demeure semblable à basses fréquences.

Finalement, la valeur de l'amplitude du signal d'oxygène est déterminée par un calcul mathématique. On obtiendra ainsi une équation de la forme:

$$|\vec{O}| = A_{Ox} = \sqrt{(R_s - (T_s \cdot K))^2 + (R_c - (T_c \cdot K))^2} \quad (24)$$

K est une constante et elle est équivalente à:

$$K = \frac{1 - EEP}{100} \quad (25)$$

Par la suite, si on remplace K par sa formule, l'équation redevient:

$$A_{ox} = \sqrt{\left(R_s - T_s \left(\frac{1 - EEP}{100}\right)\right)^2 + \left(R_c - T_c' \left(\frac{1 - EEP}{100}\right)\right)^2} \quad (26)$$

Toutefois, nous notons que l'équation 26 est une équation générale sans qu'il y ait un ajustement des phases. Si l'ajustement est fait (fig. 7b), nous obtiendrons une équation de la forme:

$$A_{ox} = \sqrt{R_s^2 + \left(R_c - T_c' \left(\frac{1 - EEP}{100}\right)\right)^2} \quad (27)$$

2.2 Spectroscopie de fluorescence

Il y a lieu de préciser que chez les feuilles vertes, ayant un appareil photosynthétique sain, l'énergie lumineuse absorbée et utilisée pour la photosynthèse est d'environ 85% à 90% sous les conditions optimales (Papageorgious, 1975). Un minimum de cet énergie absorbée, 3% à 10% sera émis sous forme de fluorescence (Gernott et Schreiber, 1986, Lichtenthaler, 1986), et le reste, comme nous l'avons indiqué dans la section 2 1, sera perdu sous forme de chaleur mesuré en unité relative par la spectroscopie photoacoustique. Les trois processus de désexcitation sont indiqués par l'équation suivante:

$$E_{\text{absorbée}} = E_{\text{photosynthèse}} + E_{\text{fluorescence}} + E_{\text{chaleur}} \quad (28)$$

En cas de stress environnemental, l'activité photosynthétique est réduite et par conséquent, il se produit une intensification de l'émission de la chaleur et de la fluorescence.

L'étude de la fluorescence émise après absorption de la lumière permet de fournir des informations sur la performance de la photosynthèse. Grâce à la méthode de fluorescence, on peut ultérieurement étudier le potentiel de l'activité photosynthétique et par la suite les effets du stress sur les plantes.

Dans les prochaines lignes, nous présentons dans un premier temps des renseignements sur la fluorescence, le spectre d'émission et sur la cinétique d'induction. Par la suite, nous donnerons les effets de quelques facteurs de stress sur la fluorescence.

2.2.1 Fluorescence et spectre d'émission

2.2.1.1 Fluorescence

La fluorescence est définie comme étant un processus par lequel une molécule à l'état excité (S_1) dissipe l'énergie absorbée pour revenir à l'état fondamental (S_0) à la température de la pièce. La fluorescence émise provient majoritairement des pigments des molécules de la chlorophylle du photosystème II (PSII) (Bolhar et al., 1989; Gernot et Schreiber, 1986,

Krause et Weis, 1991, 1988, Papageorgious, 1975). Selon Krause et Weis (1991), le photosystème I (PSI) contribue à cette émission mais de façon mineure (environ 5% à 720 nm et de 1% à 2% à 685 nm). La fluorescence provenant du complexe collecteur de la lumière est due à la perte d'énergie lors de la migration de l'exciton vers le centre réactionnel PSII et elle est nommée fluorescence constante F_0 . Cette fluorescence n'est pas liée au transport d'électron dans la membrane (Papageorgious, 1975), donc aux réactions photochimiques. L'énergie arrivant au centre réactionnel du PSI ne sera utilisée que pour le travail photochimique si le transfert d'électron à l'accepteur primaire Q_a est fait après la séparation de charges. L'accepteur Q_a devient oxydé et le système est considéré à l'état "ouvert" (Krause et Weis, 1991, 1988). Dans ce cas, l'émission de la fluorescence sera minimale. Après un certain temps, quand l'accepteur primaire Q_a devient réduit, le système se retrouve à l'état "fermé". L'électron est bloqué au niveau de la phéophytine qui ne peut plus être oxydée par Q_a . Il se produit donc une dissipation de l'énergie par recombinaison des charges entre la phéophytine et le centre réactionnel avec émission de la fluorescence qui inclue la valeur de F_0 .

2.2.1.2 Spectre d'émission et rapport F_{685}/F_{735}

À la température ambiante, le spectre d'émission de fluorescence d'une feuille saine montre deux maxima (fig. 8); l'un autour de 685-690 nm et l'autre autour de 735-740 nm, correspondant respectivement au PSII et PSI (Briantais et al., 1986, Lichtenthaler et al., 1986, Schmuck et Lichtenthaler, 1986).

La forme du spectre et l'intensité relative des deux bandes de la fluorescence dépendent généralement de la quantité de chlorophylle dans la feuille (Lichtenthaler et Rinderle, 1988, Lichtenthaler, 1987, 1986). Ainsi, chez des feuilles ayant une faible quantité de chlorophylle, le spectre d'émission montre un maximum plus élevé aux alentours de 690 nm. Par conséquent, les valeurs du rapport de l'intensité de la fluorescence à 690 nm sur celle de 740 nm sont plus élevées (valeur variant de 4 à 8). Par contre, si la teneur en chlorophylle est élevée, la fluorescence à 690 nm diminue graduellement et la bande à 740 nm augmente par rapport à celle de 690 nm. Selon Lichtenthaler (1986), il se produit une réabsorption de la fluorescence par la chlorophylle, ce qui affecte l'émission de la fluorescence à 690 nm et entraîne une hausse de la bande à 740 nm. Dans ces conditions les valeurs du rapport F_{690}/F_{740} diminuent (valeurs variant de 1,5 à 0,9).

Le rapport de l'intensité de la fluorescence à 690 nm sur celle obtenue autour de 740 nm est considéré comme un bon indicateur de la teneur en chlorophylle par unité de surface de la feuille et d'un début de stress. En effet, plusieurs études (D'Ambrosio et al., 1992, Hak et al., 1990; Lichtenthaler et al., 1990, Lichtenthaler et Rinderle, 1988) ont montré que les valeurs de ce rapport varient suivant les quantités de chlorophylle dans la feuille.

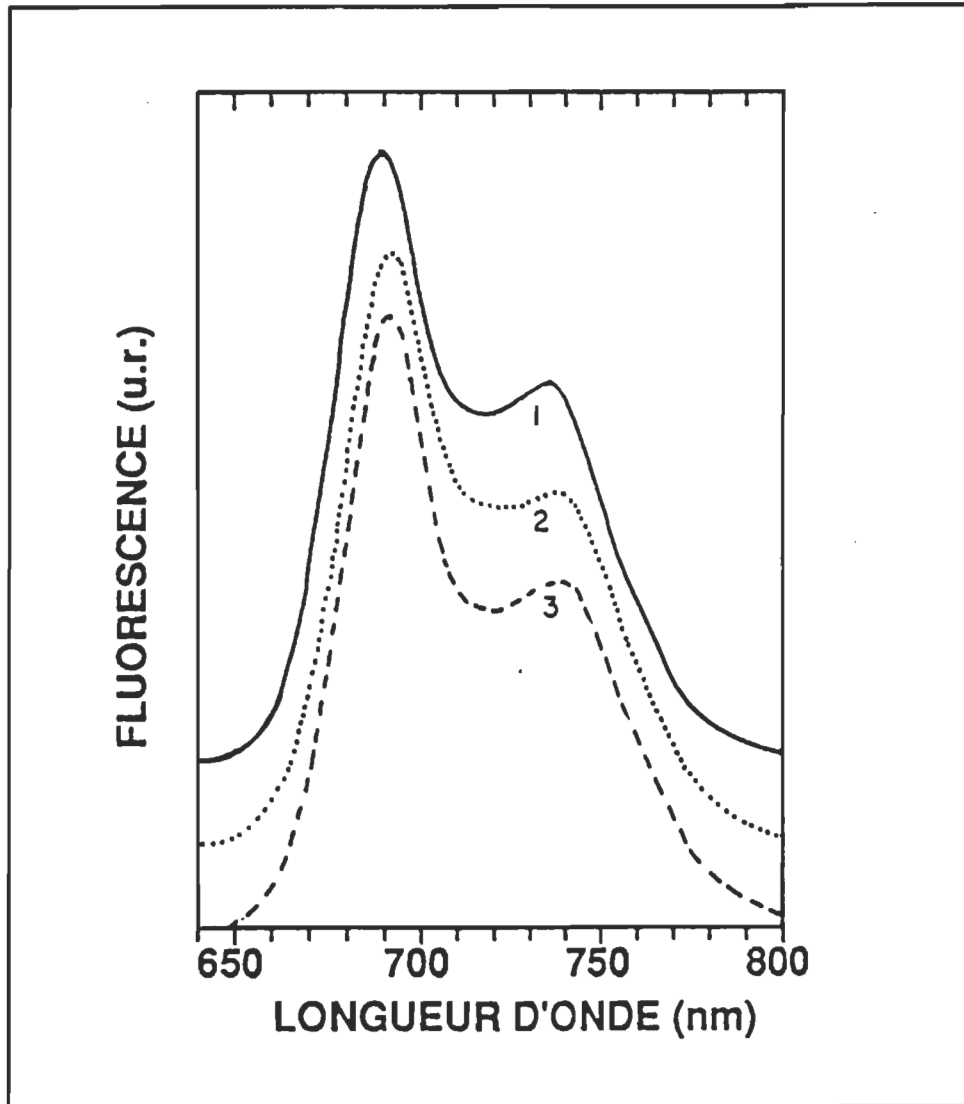


Figure 8 : Spectre d'émission de la fluorescence d'une feuille saine excitée 470 ± 30 nm. 1= Radis, 2= Haricot, 3= Mais. (Lichtenthaler et Rinderle, 1988).

Toutefois, on ne peut pas se baser seulement sur ce paramètre pour étudier les effets du stress sur la plante puisque ce rapport ne change pas si la teneur en chlorophylle et son intégrité ne sont pas affectées par un traitement causant un stress dans la feuille. Pour bien diagnostiquer l'état de santé de la plante, il est recommandé de mesurer la cinétique d'induction de la fluorescence connue sous le nom de l'effet Kautsky. Selon Lichtenthaler (1988), Lichtenthaler et al. (1986), Schmuck et Lichtenthaler (1986), la méthode de la cinétique d'induction a été largement utilisée dans les recherches sur l'écophysiologie et sur le déclin des forêts.

2.2.2 Cinétique d'induction de la fluorescence

2.2.2.1 Description de la cinétique d'induction

La cinétique d'induction de la fluorescence connue sous le nom d'effet Kautsky a été observée et décrite pour la première fois par Kautsky et Hirsh (1931) et Kautsky et Frank (1943). Cette méthode a été utilisée par la suite par plusieurs chercheurs scientifiques pour étudier l'activité photosynthétique d'une feuille.

Quand des feuilles vertes, ayant un appareil photosynthétique sain, sont placées dans l'obscurité pendant 15 à 20 minutes et en illuminant ces feuilles, la fluorescence émise par le PSII subit une cinétique d'induction (Effet Kautsky) (Lichtenthaler, 1990, 1986, Lichtenthaler et

Rinderle, 1988, Lichtenthaler et al., 1986 et Papageorgious, 1975). Deux parties de cette cinétique peuvent être distinguées (fig. 9).

- 1) La fluorescence atteint un maximum (F_{\max}) qui met environ 100 à 500 ms.
- 2) La fluorescence décroît lentement (F_d) vers un niveau stationnaire (F_s). Cette diminution lente se fait chez une feuille saine, à l'intérieur de 3 à 5 minutes.

L'examen de la figure 10 montre que cette cinétique d'induction de la fluorescence se caractérise par plusieurs niveaux notés O-I-D-P-S-M-T (Baker et Brandbury, 1981, Briantais et al., 1986, Krause et Weis, 1984 et Papageorgious, 1975). Ces niveaux sont regroupés en phase rapide (O-I-D-P) suivie d'une phase lente (S-M-T) (Schreiber et Vidaver, 1976).

Le niveau de la fluorescence 0 (F_0) est nommé fluorescence constante ou fluorescence "morte" qui provient de la perte d'énergie au niveau des antennes lors du processus de migration de l'exciton vers les centres réactionnels. L'augmentation de la fluorescence du niveau 0 au niveau P (F_{\max}) est notée fluorescence variable (F_v). Cette augmentation montre deux phases; l'une se fait jusqu'au point I qui représente le maximum de cette phase, suivie d'une inclinaison au niveau D. Du niveau P, la fluorescence diminue jusqu'à l'état stationnaire. Un deuxième maximum M est enregistré avant d'atteindre le niveau terminal T (niveau stationnaire).

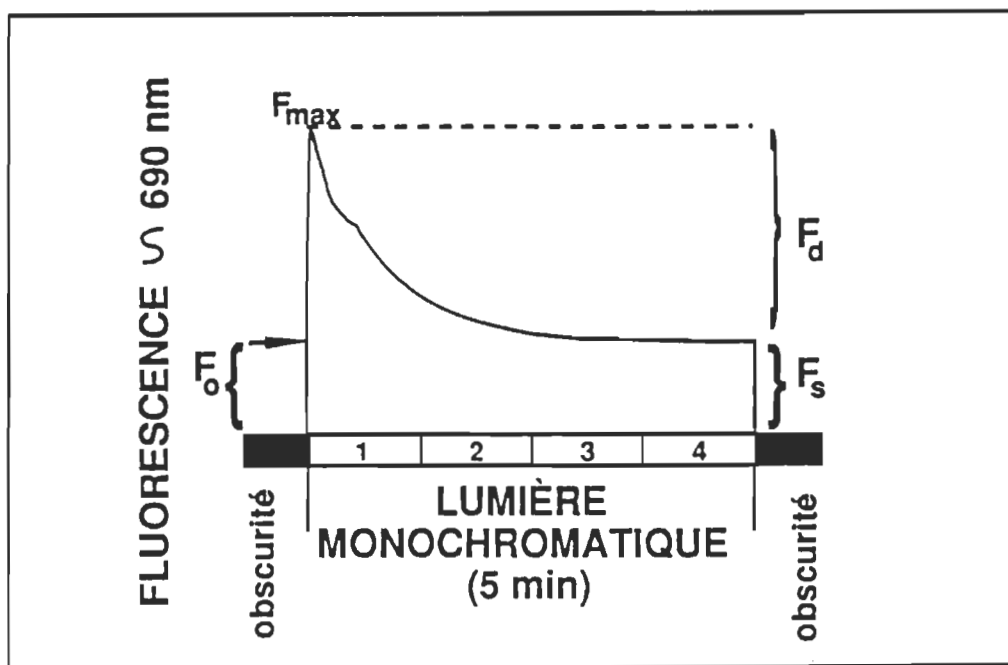


Figure 9 : Cinétique d'induction de la fluorescence, effet Kautsky. (Lichtenthaler et Rinderle, 1988).

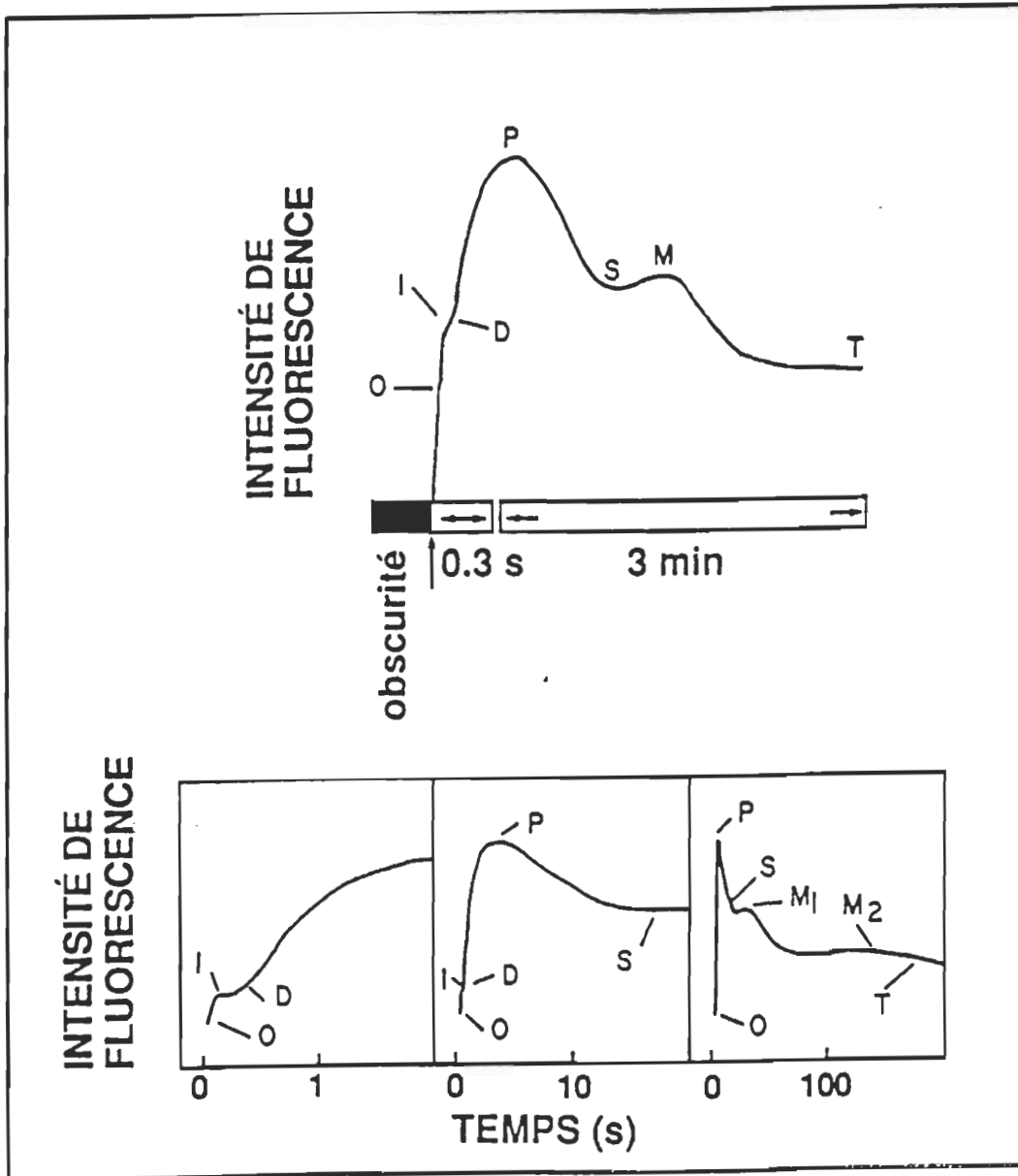


Figure 10 : Cinétique d'induction de la fluorescence à différentes échelles de temps (Lichtenthaler et Rinderle, 1988, Gernot et Schreiber, 1986).

Rappelons que la montée de la fluorescence de O à P puis la diminution à T est caractéristique seulement des plantes qui ont un appareil photosynthétique sain. Les points I, D et M ne sont pas toujours visibles chez les plantes saines. De plus, selon l'état physiologique de la feuille, il peut exister plus qu'un point M₁ (exemple: M₁, M₂, M₃,...) avant que la fluorescence atteigne le point stationnaire T.

Le cheminement dans le temps des différents niveaux constituant la courbe de la cinétique d'induction est dépendant de l'état d'oxydo-réduction de la membrane photosynthétique. Ce cheminement a été décrit plus en détail par Baker et Brandbury (1981), Gernot et Schreiber, (1986), Krause et Weis (1991,1984), Papageorgious, (1975). Au cours des prochaines lignes, nous présenterons un résumé de cette description en se basant sur l'explication donnée par les auteurs cités ci-dessus.

Il apparaît juste après l'illumination de l'échantillon de feuille, une augmentation immédiate de la fluorescence au niveau 0 (F₀) qui représente ainsi la fluorescence quand les centres réactionnels du PSII sont ouverts et les accepteurs primaires Q_a sont oxydés. La montée de O à I a été attribuée à des accepteurs primaires Q_a du PSII qui transfèrent les électrons à Q_b. Le niveau I reflète donc l'équilibre de $Q_a^-Q_b \rightleftharpoons Q_aQ_b^-$. Le passage de I à D résulte de l'oxydation des Q_a⁻ par le PSI. Durant la montée du niveau D au niveau P, les plastoquinones (PQ) sont réduites successivement, ce qui se traduit par une augmentation de la fluorescence au niveau P. À ce niveau (F_{max}), Q_a, Q_b et les groupements plastoquinones sont entièrement réduits par le PSII et les centres réactionnels de ce

dernier sont "fermés". L'augmentation de la fluorescence variable dans la phase D-P se trouve corrélée avec une diminution dans l'évolution de l'oxygène qui, apparemment, est causée par un blocage transitoire du transport d'électron entre PSII et PSI qui mène à une réduction des Q_a , Q_b et PQ.

Finalement, les oscillations S-M et la diminution lente au niveau stationnaire T sont attribuées à une réoxydation des accepteurs Q_a , Q_b et les plastoquinones qui est due à une augmentation dans l'activité du PSI. La diminution du niveau M à la phase terminale T a été aussi liée à une activation des enzymes du cycle de Calvin qui entraîne une augmentation dans le taux de fixation de CO_2 . De plus, il a été démontré par Strasser (1974) que cette diminution de la fluorescence à l'état stationnaire se fait parallèlement avec une augmentation dans le taux d'évolution d'oxygène photosynthétique (fig. 11). À la phase stationnaire S (niveau T), le rendement quantique de la fluorescence et le dégagement d'oxygène demeurent constants. À ce niveau, le taux de dégagement d'oxygène est à son maximum.

Donc, l'effet Kautsky est composé d'une fluorescence constante (F_0) et d'une fluorescence variable (F_v) qui correspond à l'état d'oxydo-réduction de la chaîne transporteur d'électron. La fluorescence totale $F(t)$ mesurée par effet Kautsky est la superposition de ces deux fluorescences (équation 29). Selon Lichtenthaler et Rinderle (1988), plus la fluorescence variable est élevée, plus l'activité photosynthétique est meilleure.

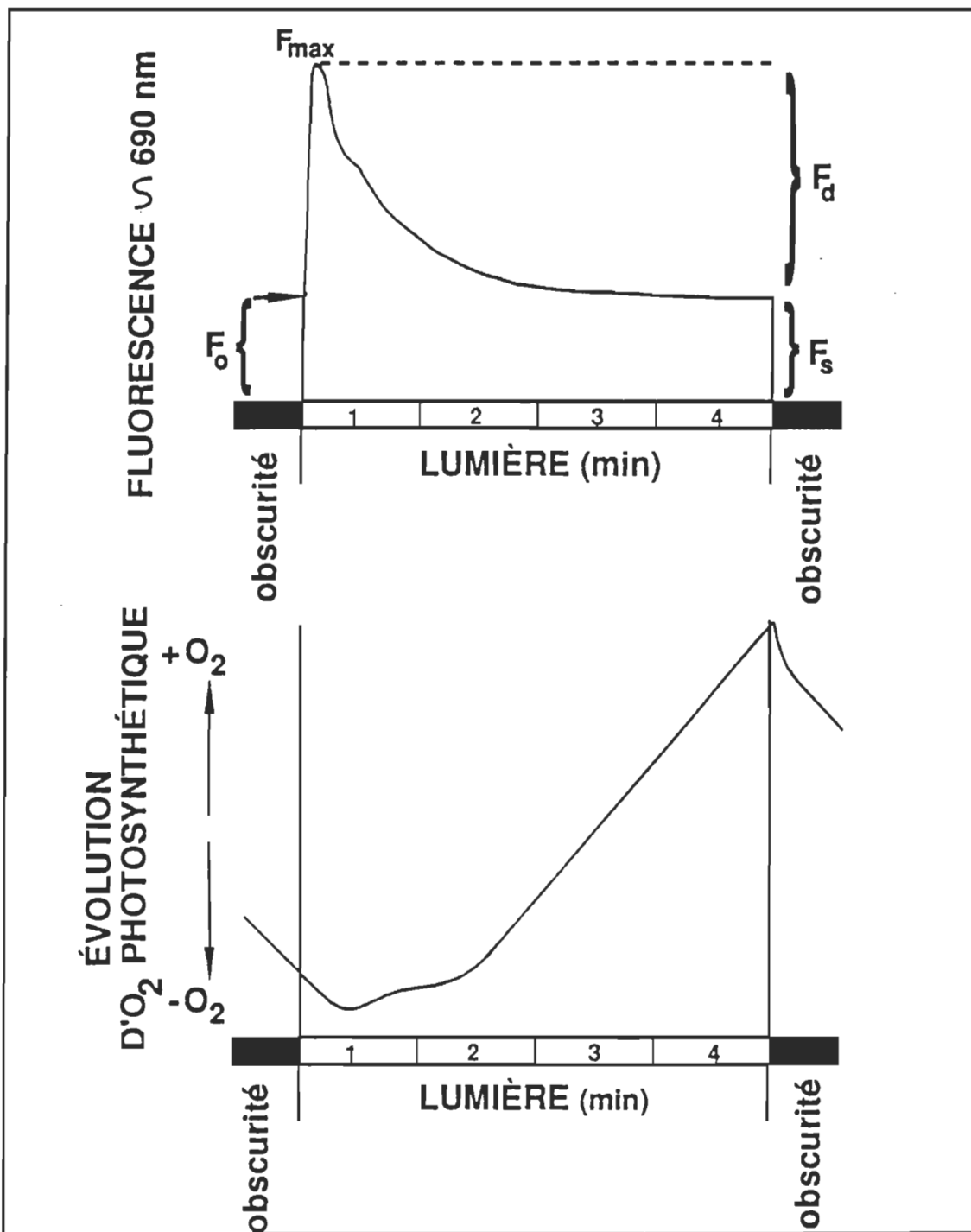


Figure 11 : Schéma de la cinétique d'induction de la fluorescence en parallèle avec l'évolution d'oxygène photosynthétique. (Lichtenthaler et Rinderle, 1988).

$$F(t) = F_v(t) + F_0 \quad (29)$$

2.2.2.2 Indice de vitalité (R_{fd})

Le rapport de la décroissance de la fluorescence (F_d) de la fluorescence maximale jusqu'à l'état stationnaire (F_s) est nommé indice de vitalité R_{fd} . Il est exprimé par la relation suivante:

$$R_{fd} = \frac{F_{max} - F_s}{F_s} = \frac{F_d}{F_s} \quad (30)$$

Selon de nombreux chercheurs (Lichtenthaler, 1990, 1987 et 1986, Lichtenthaler et Rinderle, 1988, Lichtenthaler et al., 1986 et Strasser, 1986), ce paramètre indique le potentiel de l'activité photosynthétique de la feuille. Les valeurs de R_{fd} peuvent être mesurées autour de 685-690 nm ou à 730-740 nm. Durant la période d'induction cinétique, l'intensité de la fluorescence mesurée à 690 nm diminue beaucoup plus que celle mesurée à 740 nm. Conséquemment les valeurs de R_{fd} à 690 nm seront plus élevées que celles mesurées à 740 nm. De plus, il a été démontré par Lichtenthaler et Rinderle, 1988 que les valeurs élevées de R_{fd} ont été directement corrélées avec une augmentation dans le taux de fixation du CO_2 .

Les valeurs de l'indice de vitalité varient suivant l'âge de la feuille et suivant les variations saisonnières. Ainsi des feuilles jeunes formées au printemps ou précocement en été ont des valeurs de R_{fd} plus élevées que celles des feuilles adultes d'août ou d'automne. De plus, les feuilles

d'ombres ont montrées des valeurs plus basses que celles des feuilles de soleil.

Selon Lichtenthaler et Rinderle (1988), la combinaison des deux valeurs de cet indice, mesurées autour de 690 nm et de 740 nm nous permettent d'établir un indice d'adaptation au stress.

2.2.2.3 Indice d'adaptation (A_p)

L'indice d'adaptation est un autre paramètre qui est, selon Lichtenthaler et Rinderle, (op.cit.) et Strasser et al. (1987), une mesure approximative de l'effet du stress qu'a subi l'appareil photosynthétique. Donc, il nous permet également de voir l'effet du stress sur la plante. Comme nous l'avons mentionné, cet indice est fonction des deux valeurs de R_{fd} mesurées à 690 nm (R'_{fd}) et à 740 nm (R''_{fd}), il est obtenu par la relation suivante:

$$A_p = 1 - \frac{1 + R'_{fd}}{1 + R''_{fd}} \quad (31)$$

En se basant sur les mesures disponibles pour cet indice, il apparaît que les plantes saines qui montrent des valeurs de A_p petites (entre 0.1 et 0.2) souffrent des effets du stress plus rapidement que les plantes ayant des valeurs élevées de cet indice d'adaptation.

Enfin, en mesurant la cinétique d'induction de fluorescence aux deux longueurs d'onde, soit à 690 nm et à 740 nm, nous pouvons utiliser le rapport entre l'intensité de la fluorescence à 690 nm à celle de 740 nm

comme une mesure non destructive de la quantité de chlorophylle des feuilles. Selon Hak et al. (1990), ce rapport est plus élevé quand on le mesure au niveau de la fluorescence maximale qu'au niveau de fluorescence stationnaire.

2.2.3 Effets de quelques facteurs de stress sur la fluorescence

Parmi les facteurs de stress qui agissent sur la fluorescence chlorophyllienne, citons à titre d'exemple, le DCMU qui est un herbicide. Il entraîne un blocage du transport d'électron entre le PSII et le PSI, la fluorescence atteint rapidement un niveau maximale F_{max} (fig. 12), causée par la réduction des accepteurs d'électrons du PSII. Par contre, la partie variable de la cinétique d'induction disparaît puisque la photosynthèse est inhibée et il n'y a plus de lien entre le PSII et le PSI qui sert à réoxyder les accepteurs d'électrons du PSII. Par conséquent les valeurs du R_{fd} ainsi que le dégagement d'oxygène s'annulent et le rapport F_{690}/F_{740} est également affecté. Ce dernier augmente considérablement puisque l'émission de la fluorescence est élevée (Lichtenthaler et Rinderle, 1988 et Lichtenthaler et al., 1986). On peut avancer un autre facteur de stress qui a des effets sur la fluorescence tel le dépérissement des forêts. En appliquant la cinétique d'induction de la fluorescence, il a été démontré que chez les feuilles d'arbres dépéris, la fluorescence maximale diminue

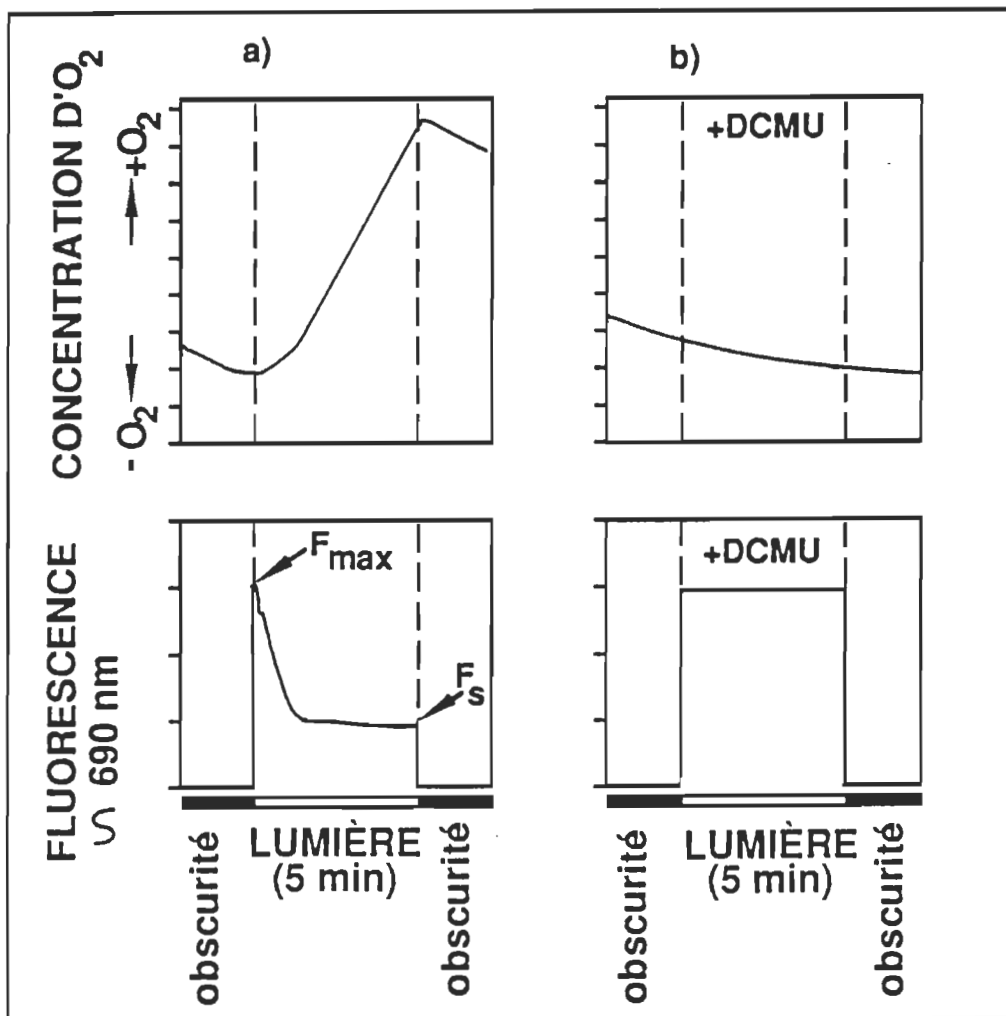


Figure 12 : Cinétique d'induction de la fluorescence et l'évolution d'oxygène avant (a) et après (b) l'application du DCMU (Lichtenthaler et Rinderle, 1988).

légèrement et la fluorescence stationnaire reste beaucoup plus élevée chez ces feuilles en comparaison avec les feuilles d'arbres sains.

Soulignons qu'il existe d'autres facteurs de stress qui peuvent agir sur les paramètres de la fluorescence. Parmi ces facteurs, nommons les effets de la température, de la lumière, les déficits en eau (Lichtenthaler, 1990, Lichtenthaler et Rinderle, 1988, Lichtenthaler et al., 1986) et les déficiences en éléments nutritifs (Sun et al., 1989).

2.3 Polluant atmosphérique: ozone

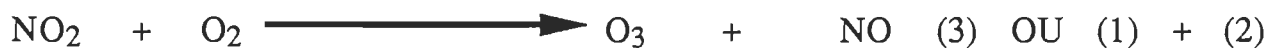
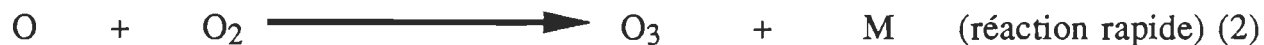
De nombreux chercheurs (Heggstad, 1969, Pell, 1987, Prinz, 1987) considèrent l'ozone comme étant l'oxydant phytotoxique le plus important parmi les autres polluants atmosphériques. Selon Tonneijck (1989), il a été estimé que les polluants atmosphériques ont réduit la production des cultures (particulièrement en horticulture) de 5% dont 70% de cette réduction a été due à l'ozone. De plus, d'après Smith (1991) ce polluant représente la plus grande menace pour la santé des forêts.

Dans cette section, nous donnerons les sources et les effets de l'ozone sur la végétation. Par la suite, nous présenterons les symptômes caractéristiques des dégâts dus à ce polluant photooxydant.

2.3.1 Sources et concentrations atteintes

L'ozone est un polluant secondaire puisqu'il n'est pas libéré directement par une source fixe ou mobile, mais il se forme plutôt dans l'atmosphère par une réaction photochimique faisant intervenir des polluants précurseurs, soient les oxydes d'azote et les hydrocarbures réactifs (Carrier, 1986, Houston et al., 1990, Treshow, 1970). Les oxydes d'azotes se forment par la réaction entre l'azote et l'oxygène de l'atmosphère, chauffés aux hautes températures, par exemple dans les moteurs à combustion interne ou dans les centrales électriques utilisant des combustibles fossiles et des usines de traitement chimique. Quant aux hydrocarbures, émis dans les régions urbaines, ils proviennent de la manutention, de l'entreposage et de diverses installations pétrolières. Selon Angele et Sandhu (1989), Colbeck (1988) et Smith (1991), le monoxyde d'azote (NO) est oxydé en bioxyde d'azote (NO₂) en utilisant l'oxygène de l'atmosphère. Le NO₂ est décomposé, par la suite, rapidement en NO et un atome d'oxygène sous l'effet des rayonnements solaires ultra-violet (U.V) (réaction 1). L'atome d'oxygène se combine avec une molécule d'oxygène pour former l'ozone (O₃) (réaction 2).

En additionnant les réactions (1) et (2), les bioxydes d'azote réagissent avec l'oxygène moléculaire de l'atmosphère en présence du rayonnement solaire U.V. pour produire le monoxyde d'azote et de l'ozone (réaction 3). Enfin l'O₃ réagit avec NO qui est rapidement converti en NO₂ (réaction 4).



M = molécule inerte qui accepte l'énergie cinétique de la collision.

La réaction nette est:



Il convient de noter que dans un air non pollué et clair, la concentration d'ozone varie entre 0,01 à 0,02 ppm. Cependant dans certaines atmosphères urbaines aux États-Unis, la concentration oscille entre 0,5 à 0,8 ppm. Rappelons que les concentrations d'ozone sont généralement plus élevées dans les journées chaudes d'été et plus particulièrement au milieu (entre 12 et 14 heures) de ces journées où il y a de forte intensité de rayonnements solaires (Hov, 1984). Dans le nord-est de l'Amérique, les concentrations mesurées atteignent 0,11 ppm pendant ces journées (Reich, 1987, Smith, 1991).

2.3.2 Effets de l'ozone sur la végétation

Les effets de l'ozone sur la végétation ont fait l'objet de plusieurs études. Elles ont examiné les relations dose-réponse (Ashmore et al., 1985, Krupa et Nosal, 1989, Krupa et Manning, 1988, Reich, 1987, Skärby et Sellden, 1984), la sensibilité des espèces végétales (Krause et Prinz, 1989, Treshow, 1970), la baisse de croissance et de rendement des cultures et des arbres (Heck et al., 1982, Tingey et al., 1989, Tonneijck, 1989) et les impacts économiques causés par l'ozone (Adams, 1989, Adams et al., 1985, Heck et al., 1983, 1984, Larsen et Heck, 1984.). De plus, il convient de noter que les effets physiologiques et biochimiques présentés ci-après, ont aussi été étudiés ainsi que les symptômes qui en résultent.

2.3.2.1 Effets biochimiques et physiologiques

Selon plusieurs chercheurs (Heath, 1987, Krause et Prinz, 1989, Krupa et Manning, 1988), l'ozone entre dans la plante par les stomates, quand elles sont ouvertes. Rappelons tout d'abord que ces dernières s'ouvrent sur le parenchyme palissadique et jouent le rôle des échanges gazeux de la plante avec l'air ambiant. Suite à la pénétration de l'ozone dans la feuille, les stomates se ferment soit complètement ou partiellement (Runckele et Chevone, 1992). La largeur des stomates a été rapidement réduite chez plusieurs espèces de plante en présence d'ozone (Hill et Littefield, 1969). À titre d'exemple, citons les cas de l'avoine et de l'haricot où la fermeture est induite après une exposition de quatre

heures à 0,05 ppm et 0,06 ppm respectivement. Les espèces les plus tolérantes répondent de façon semblable à des concentrations plus élevées d'ozone.

Sachant que l'ozone est très oxydant, une fois à l'intérieur de la plante, il réagit avec les premières substances qu'il rencontre. Ces substances sont celles de la membrane cellulaire et du plasmalemme. L'ozone oxyde les constituants organiques comme les enzymes spécifiques et les substances lipidiques des membranes cellulaires. Il produit une oxydation irréversible des groupes sulfhydriles et une peroxydation des lipides. Par conséquent, des changements dans la fluidité de la membrane se produisent ainsi que des variations dans sa structure et sa perméabilité. Une augmentation dans la perméabilité de la membrane a été observée chez les cellules d'algue isolées de *Chlorella sorokiniana* (Heath et al., 1982, Runckele et Chevone, 1992). Une augmentation dans la perméabilité à l'eau va provoquer une déshydratation des cellules du parenchyme palissadique qui se plasmolysent. Ainsi, les cellules meurent, provoquant une destruction de ce dernier. À ce moment là, des nécroses visibles peuvent apparaître (Krause et Prinz, 1989, Krupa et Manning, 1988, Pye, 1988, Taylor et Norby, 1984, Treshow, 1970). L'ozone agit aussi au niveau du mécanisme de pompes à potassium (K^+), entraînant une grande perte des ions, ce qui entraîne à leur tour une plasmolyse des cellules du parenchyme (Krupa et Nosal, 1989). Les variations dans la perméabilité de la membrane cellulaire causées par l'ozone provoquent aussi d'autres effets tels que la formation excessive des granules dans le chloroplaste. En effet les pertes d'eau engendrent une déshydratation du chloroplaste et

l'altération ionique qui en résulte dans le stroma causera l'apparition de granulations. Ainsi ces dommages causés aux chloroplastes entraîneront une diminution de la photosynthèse. Selon Chappelka et Chevone (1992), cette diminution de la photosynthèse peut être également causée indirectement par la fermeture des stomates qui réduira les échanges gazeux de la plante avec son environnement.

Parmi les autres effets de l'ozone, on peut citer l'augmentation de la concentration des carboxydrates dans les cellules des feuilles exposées à l'ozone. Cette augmentation provoque une diminution de la croissance de la plante et une diminution de la photosynthèse produite par inhibition par "Feed back" à cause de la forte concentration en carboxydrates. Enfin, l'ozone entraîne aussi une augmentation dans le niveau des phénols et de ses dérivés. Par conséquent, il en résulte une apparition des pigments bruns-rouges qui donnent la couleur aux taches nécrotiques dues à l'ozone.

Suite à ces changements biochimiques et physiologiques causés par l'ozone dans les cellules des feuilles, certaines variations apparaissent dans le comportement de la plante tels que l'apparition des symptômes visibles sur les feuilles, une diminution du rendement et de la qualité de la plante, etc. (Runckele et Chevone, 1992). Toutefois, l'apparition des dégâts visibles dépend de la concentration, de la durée d'exposition à l'ozone et de l'espèce de plante. Ainsi des faibles concentrations d'ozone produisent des réactions avec la paroi cellulaire sans atteindre la membrane cytoplasmique et les composés intracellulaires, à ce stade les blessures sont réversibles. Par contre, si la plante est exposée pour une longue durée à de fortes concentrations d'ozone, ce dernier pénètre en profondeur

dans la cellule provoquant ainsi divers changements dans ces dernières, à ce moment là des symptômes visibles peuvent apparaître.

2.3.2.2 Symptômes induits par l'ozone

Les symptômes caractéristiques de l'ozone peuvent-être de quatre types (Anonyme, 1986, Houston et al., 1990, Treshow, 1970) qui sont : la tacheture, le blanchiment, la chlorose foliaire et la nécrose bifaciale.

La tacheture est le symptôme le plus courant sur des feuilles vulnérables exposées à des niveaux aigus d'ozone. Cela est dû au développement d'un pigment foncé dans des cellules individuelles ou dans des groupes de cellules sur la face supérieure de la feuille. La pigmentation peut-être rouge, brune, violette ou noire. Elle est normalement répandue sur toute la feuille mais ne touche pas les nervures.

Le blanchiment ou les lésions sans pigmentation apparaissent habituellement sur le dessus des surfaces de la feuille dû à l'affaissement des cellules de palissade et quelques fois des cellules épidermales.

Pour la chlorose foliaire, les surfaces chlorotiques peuvent aussi apparaître sur le dessus des feuilles, souvent en s'unissant, elles présentent une apparence tâchetée. Les aiguilles des pins et d'herbe qui ne possèdent pas du tissu mésophylle différentiel peuvent développer le tachement chlorotique sur une surface.

Enfin, on note la présence de la nécrose bifaciale; quand le tissu de la feuille est mort à travers les deux surfaces de la feuille, cela réfère à une nécrose bifaciale et les lésions peuvent passer d'une couleur ivoire à rouge-orange.

Ces symptômes sont plus intenses sur les feuilles directement exposées à la lumière solaire et peuvent ne pas apparaître sur les feuilles orangées de la même plante. Soulignons que les feuilles sont plus sensibles à l'ozone au moment où elles atteignent leur pleine dimension (Houston et al., 1990).

CHAPITRE III

MATÉRIEL ET MÉTHODOLOGIE

Dans la présente section, nous donnons l'information sur le matériel utilisé dans le cadre de notre étude. Plus particulièrement nous identifions le matériel photosynthétique, décrivons la chambre de fumigation ainsi que l'appareillage des mesures. Ensuite, nous expliquerons la démarche méthodologique retenue pour atteindre notre but qui, rappelons-le, est d'étudier l'effet à long terme des doses répétées d'ozone sur la photosynthèse de l'érable à sucre (*Acer saccharum* Marsh.).

3.1 Matériel

3.1.1 Matériel photosynthétique

Nous avons choisi, comme matériel photosynthétique, l'érable à sucre (*Acer saccharum* Marsh.) pour son importance économique au Québec. Deux groupes de plantes d'âges différents ont été utilisés: des sauvageons de cinq (5) à sept (7) ans et des semis de quatre (4) mois. Les sauvageons provenant de la pépinière forestière de Berthierville ont été mis dans des pots de 30 cm de diamètre contenant, il faut le préciser, le même sol que celui de ladite pépinière, par la suite, nous les avons mis à l'ombre, sous les grands arbres du terrain de l'Université puisque ces

sauvageons sont adaptés à de faibles rayonnements solaires. Ces plantes ont été arrosées régulièrement à chaque deux jours, avec de l'eau potable de la municipalité de Trois-Rivières et lorsque des cas d'épisodes de pluie survenaient, nous les arrosions deux jours après l'arrêt de la pluie.

Concernant les semis de 4 mois, il nous faut souligner que pour les obtenir, nous avons utilisé des semences d'érable à sucre fournies de l'Institut Forestier de Petawawa en Ontario. La technique de stratification ainsi que la solution d'arrosage sont décrites dans la partie de la méthodologie.

3.1.2 Chambre de fumigation

La chambre de fumigation a permis de soumettre les plantes à des séances de fumigation à l'ozone (O_3); elle a été conçue au Centre de recherche en photobiophysique de l'UQTR. C'est une boîte de 75 X 75 cm de base sur 157 cm de haut, fabriquée en Mélamine sur trois faces, le devant en verre, le dessus en Plexiglass, munie d'une entrée et d'une sortie de gaz. Le gaz, produit par un ozoneur, arrive par le tuyau d'entrée et se mélange à l'air à l'intérieur de la boîte à l'aide d'un petit ventilateur. À la sortie, le mélange passe à travers un filtre de charbon activé avant d'être évacué. La concentration d'ozone est mesurée grâce à un analyseur d'ozone (modèle 8810, Monitor Laboratories Inc., San-Diego, CA) qui permet de mesurer la concentration inférieure jusqu'à 5 ppb. On trouve aussi un enregistreur (Fisher Recordall Series 5 000) qui enregistre sur papier le déroulement de la fumigation.

3.1.3 Appareillage de mesures

Deux méthodes complémentaires ont été choisies pour effectuer les mesures sur la photosynthèse, soit la spectroscopie photoacoustique et la spectroscopie de fluorescence. Le choix de ces méthodes est justifié par:

- a) La disponibilité de l'appareillage (spectromètres photoacoustique et de fluorescence) au Centre de recherche en photobiophysique de l'UQTR.
- b) La qualité des mesures obtenues dans des recherches antérieures.

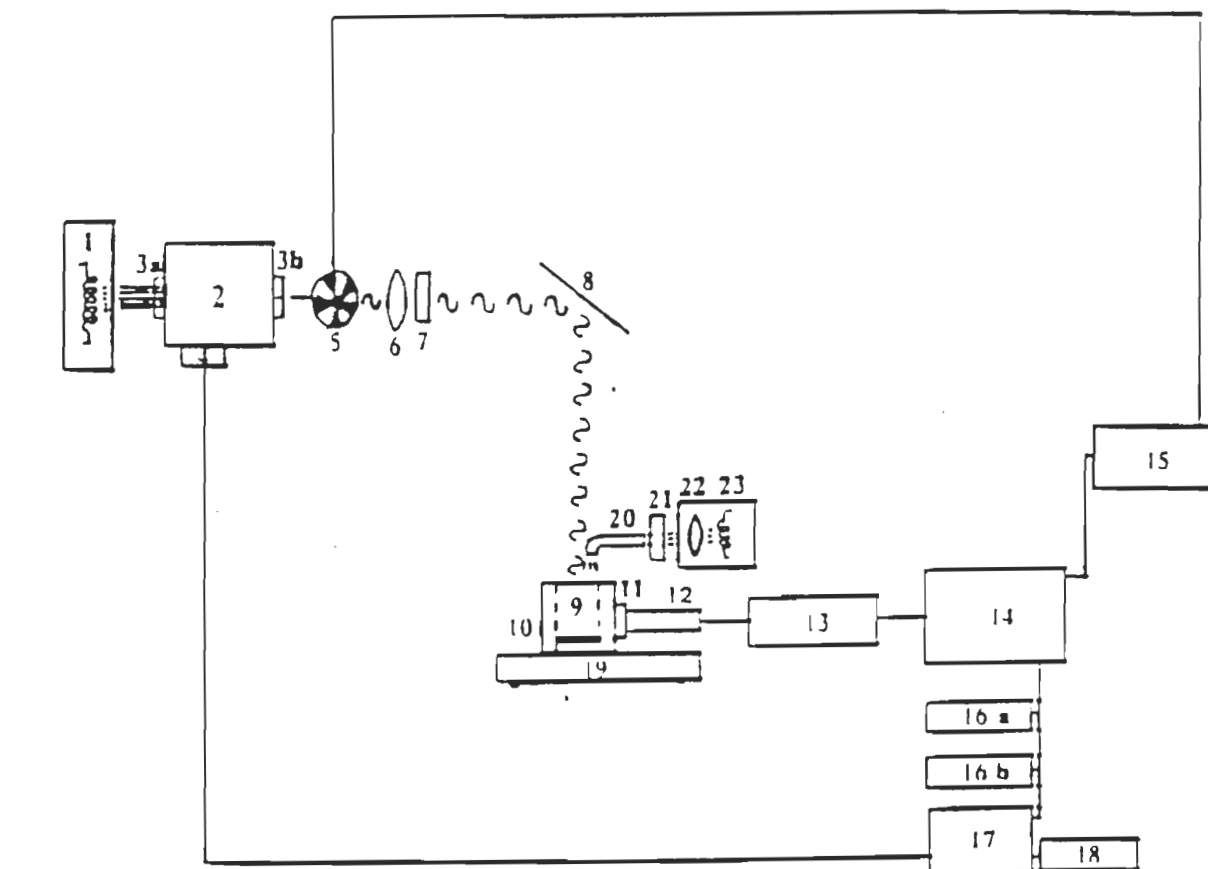
Dans les paragraphes qui suivent, nous décrivons l'appareillage utilisé. Soulignons que la description de l'appareil photoacoustique fut rendue possible grâce aux écrits de Ducharme (1979).

3.1.3.1 Spectromètre photoacoustique

Il nous apparaît important de rappeler au préalable le principe de la spectroscopie photoacoustique qui consiste en la production d'ondes acoustiques suite à l'absorption d'un faisceau modulé de lumière monochromatique par un échantillon (un disque de feuille dans notre cas) mis dans une cellule photoacoustique hermétique. Les ondes acoustiques sont ensuite analysées et enregistrées.

Le spectromètre photoacoustique que nous avons utilisé se trouve schématisé à la figure 13. Il est composé par une source lumineuse, une cellule de mesure et un dispositif d'aquisition du signal. La source lumineuse est une lampe à arc de 1 000 W au xénon (modèle 976C1010 de Canrad-Hanovia, Newark, NJ) qui produit un faisceau lumineux. Celui-ci est modifié à la suite de son passage à l'intérieur d'un monochromateur à réseau (modèle GMA-251-2 de Schoeffel Instruments Corporation, Westwood, NJ). Ce monochromateur est caractérisé par une distance focale de 25 cm et une dispersion linéaire de 3,3 nm/mm. Nous pouvons régler l'intensité lumineuse (entre 1 et 40 W m⁻²) par deux fentes sises aux extrémités de l'appareil et balayer automatiquement dans un domaine de longueurs d'onde situé entre 230 et 900 nm grâce à un moteur relié à l'ordinateur.

Le faisceau monochromatique devient modulé après son passage au travers d'un modulateur (Scitec Instruments, Boston Electronics Corp., Brookline, MA). Ce dernier est constitué d'un disque métallique sur lequel apparaissent alternativement des secteurs évidés et des secteurs pleins d'égale dimension. Ce disque peut-être doté de 2, 5 ou 10 ouvertures qui permettent d'obtenir une plage de fréquences comprises entre 10 et 1 000 Hz. Il existe, entre autres, une lentille convergente qui permet de focaliser le faisceau, puis un filtre (modèle GG 455 de Schott, Watford, UK) dont le mécanisme de positionnement est relié à l'ordinateur. Ce



- | | |
|--|---|
| 1: Lampe à arc au xénon | 12: Préamplificateur |
| 2: Monochromateur | 13: Amplificateur-maison |
| 3: Fentes d'excitation (a) et d'émission (b) | 14: Amplificateur à verrouillage de phase |
| 4: Moteur | 15: Régulateur de fréquence |
| 5: Disque modulateur | 16: Enregistreurs sur papier |
| 6: Lentille convergente | 17: Ordinateur |
| 7: Filtre passe-haut | 18: Traceuse |
| 8: Miroir convergent | 19: Table anti-vibrations |
| 9: Cellule photoacoustique | 20: Fibre optique |
| 10: Échantillon | 21: Filtres optiques |
| 11: Microphone | 22: Filtre thermique |
| | 23: Lampe tungstène-halogène |

Figure13: Schéma d'un spectromètre photoacoustique (Charland, 1992).

filtre élimine les harmoniques des longueurs d'onde supérieures à 500 nm. Finalement, on trouve un miroir concave dont la distance focale est de 15 cm et qui dirige le faisceau lumineux vers la cellule photoacoustique.

Dans cette cellule photoacoustique, il se produit la conversion de l'énergie lumineuse en énergie thermique puis acoustique après absorption de la lumière par l'échantillon. La cellule que nous avons utilisée a été construite au Centre de recherche en photobiophysique de l'UQTR et sa conception et ses caractéristiques ont fait l'objet d'une publication scientifique par Ducharme et al. (1979). Notons bien que cette cellule photoacoustique est protégée des vibrations extérieures par une table anti-vibration (modèle TLI-386 de Technileb Instruments Inc, Pequannock, NJ).

Les ondes acoustiques générées par la cellule sont mesurées par un microphone sensible du type condensateur-electret (modèle 1971-9601, General Radio Company, Concord, MA). Les signaux sont ensuite préamplifiés (amplificateur modèle 1972-9600, General Radio Company, Concord, MA), transmis à un amplificateur à verrouillage de phase (modèle 393 d'Ithaco-Dynatrac, Ithaca, NI), et tracés directement sur papier grâce à un enregistreur (modèle 555-0000 de Linear, Reno,NE). Soulignons que les données peuvent-être stockées sur une disquette mou, grâce à un ordinateur (modèle Apple IIe d'Apple, Cupertino, CA) pour fin de traitement.

Il importe de mentionner qu'on peut utiliser un faisceau de lumière blanche continue de forte intensité qui permet de saturer la photosynthèse lorsqu'on le désire. Ce faisceau actinique est produit par une lampe de type tungstène-quartz-halogène (modèle EKE, Sylvania) et conduit jusqu'au-dessus de la cellule photoacoustique grâce à une fibre optique (Oriental Optics, Stratford, CO). Un filtre infrarouge est utilisé pour permettre d'éliminer les longueurs d'onde supérieures à 850 nm.

Enfin, il nous reste à signaler que l'intensité lumineuse a été mesurée à l'aide d'un photomètre (modèle LI-189 de LI-COR, Inc., Lincoln, NE).

3.1.3.2 Spectromètre de fluorescence

Comme nous l'avons déjà signalé dans le chapitre I, le principe de la spectroscopie de fluorescence réside dans la mesure de la fluorescence émise par la chlorophylle pouvant servir ainsi d'indicateur de l'activité photosynthétique via l'effet Kautsky.

Le spectrofluorimètre dont nous nous sommes servi au cours de notre étude est schématisé à la figure 14 (modèle 1870, Datamate de Spex Industries Inc., Metuchen, NJ). Il est muni d'une lampe à arc au xénon, de deux monochromateurs (modèle 1681 Minimate-2). Le monochromateur (M_1) à l'excitation, sert à sélectionner la longueur d'onde de la lumière avec laquelle l'échantillon doit être irradié, alors que le 2^{ème} (M_2) se

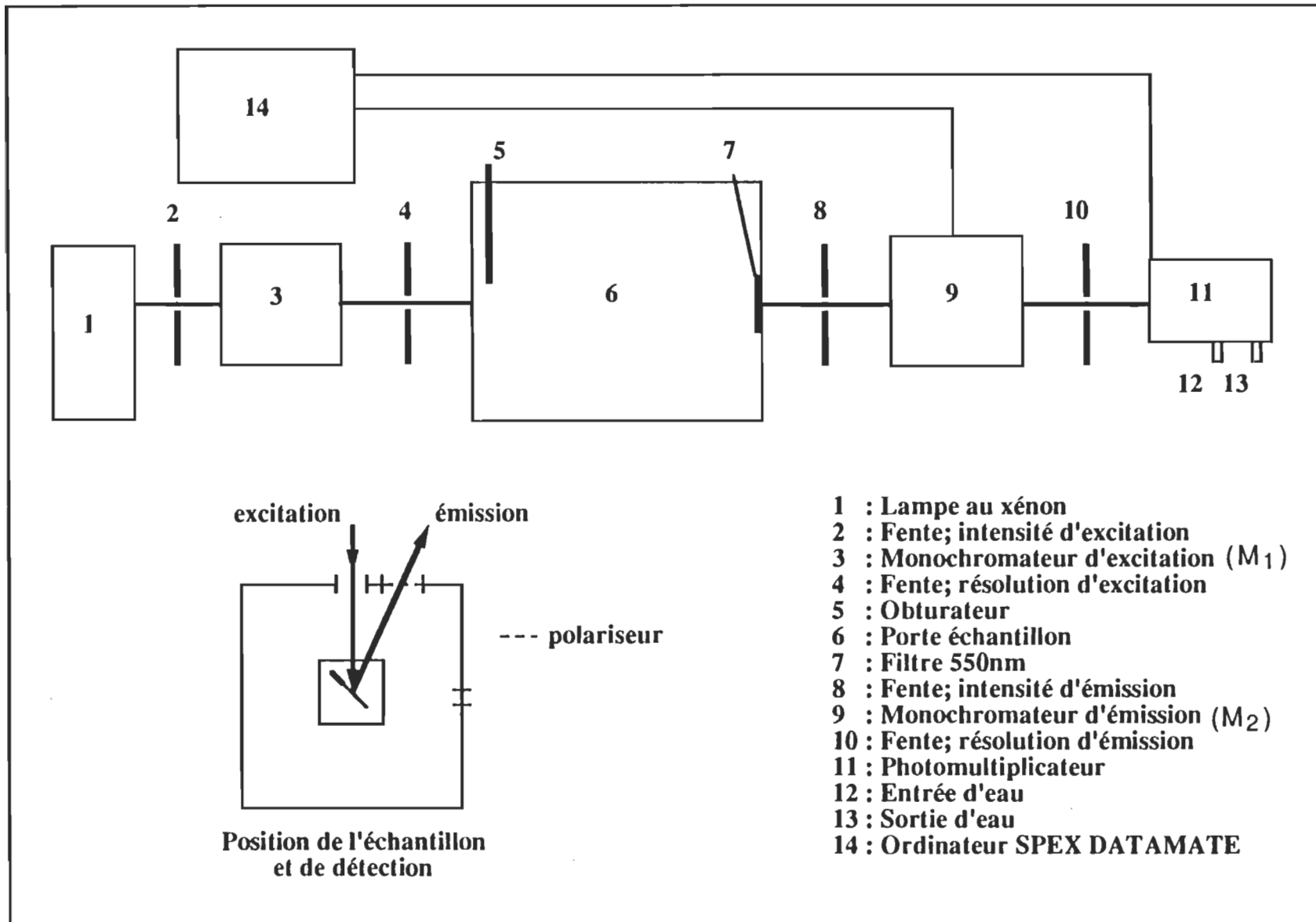


Figure 14 : Schéma d'un spectromètre de fluorescence.

trouvant à l'émission sert à sélectionner la longueur d'onde de fluorescence reçue par le système de détection.

On trouve également un porte-échantillon ayant deux angles de détection possibles. Le porte-échantillon possède un obturateur manuel à l'excitation qui nous permet de mettre l'échantillon en incubation lorsque c'est requis et un compartiment pour placer un filtre sur le trajet de la lumière émise. Ce filtre sert à éliminer toute lumière dispersante ayant une longueur d'onde inférieure à 550 nm.

L'échantillon (disque de feuille verte dans notre cas) est placé entre deux lamelles en quartz maintenues par un support qui est placé de différentes façons dans le porte-échantillon. Il existe aussi un polariseur qui est placé aux deux positions d'émission. L'échantillon est excité avec une lumière monochromatique polarisée ($\lambda = 470$ nm). La lumière passe ensuite dans le monochromateur (M_2) et atteint le photomultiplicateur (modèle R 928/115, Products for Research Inc., Danwers, MA) qui est placé dans une chambre refroidie par circulation continue d'eau froide. De plus, l'appareil est muni d'un ordinateur (Spex-Datamate) qui contrôle les deux monochromateurs et enregistre les signaux reçus par le photomultiplicateur. Le spectrofluorimètre est aussi muni de quatre fentes dont deux (2 et 4) sont placées de part et d'autre du monochromateur (M_1) permettant de faire varier respectivement l'intensité et la lumière d'excitation tandis que les deux autres fentes (8 et 10) sont mis de part et d'autre du monochromateur (M_2) et permettent de faire varier respectivement l'intensité et la résolution de l'émission. Il

est toutefois important de souligner que le Spex modèle 1870 est l'un des rares appareils ayant un système de refroidissement à eau froide du photomultiplicateur. Ce système nous permet de diminuer le bruit de fond du détecteur dû à l'éjection d'électrons, c'est ce que l'on nomme le bruit Johnson "Johnson noise" qui est fonction de la température comme le montre l'équation suivante:

$$\bar{e}_R^2 = 4 k T R \Delta F \quad (32)$$

Où:

\bar{e}_R^2 = bruit du voltage moyen au carré (volt)

ΔF = largeur de la bande de fréquence (Hz)

k = constante de Boltzmann ($1,38 \cdot 10^{-23}$ J deg⁻¹)

T = température absolue (K)

R = la résistance de l'élément résistant (Ω).

3.2 Méthodologie

3.2.1 Sauvageons de l'érable à sucre

Nous allons donner au préalable des renseignements sur le nombre de sauvageons utilisés pour notre expérimentation ainsi que sur les séances de fumigation à l'ozone (voir tableau 2). Quant à la façon de prendre les mesures, elle sera expliquée ultérieurement.

Tableau 2

Renseignements sur la démarche méthodologique pour les sauvageons.

Nombre de plantes	Concentrations d'O ₃ (ppm)	Nombre de fumigations par semaine (durée)
9	0,1	2 (7 heures chacune)
9	0,3	2 (7 heures chacune)
9	0,5	2 (7 heures chacune)
9	C (contrôle)	2 (7 heures chacune)

3.2.1.1 Nombre de sauvageons

Nous avons choisi au hasard 36 plantes ayant un même niveau de croissance. De ce nombre, nous avons constitué quatre groupes à raison de neuf (9) plantes par groupe. Précisons que le choix du nombre total des sauvageons a été justifié par la capacité de la chambre de fumigation à recevoir les pots contenant les plantes.

3.2.1.2 Séances de fumigation

Les séances de fumigation à l'ozone ont commencé au mois de juin 1991. Les concentrations d'ozone retenues sont en plus de celle du contrôle (0 ppm), 0,1, 0,3 et 0,5 ppm. Pourquoi précisément ces concentrations? Parce qu'on a trouvé des concentrations 0,1 et 0,3 ppm dans l'environnement lors d'une journée légèrement brumeuses "Smog" alors qu'on a enregistré une concentration maximale de 0,5 ppm dans les atmosphères urbaines aux États-Unis.

Les quatre groupes de sauvageons d'érable à sucre ont été fumigés (dans la chambre de fumigation: $T=30 \pm 4$ °C; H.R.=45-55%) respectivement aux concentrations 0, 0,1, 0,3 et 0,5 ppm, à raison de deux fumigations de sept (7) heures chacune par semaine, et ceci jusqu'au mois d'août 1991. Il nous faut souligner que la durée totale d'exposition à l'ozone était de 140 heures pour chaque concentration. C'est le maximum d'heures qu'on a pu faire compte tenu des contraintes de temps imposées par les séances de mesures. En effet, il a fallu faire les mesures immédiatement après les fumigations.

3.2.2 Semis de l'érable à sucre

3.2.2.1 Technique de stratification des semis

Le tableau 3 présente la description de la technique de stratification grâce à laquelle on a obtenu un pourcentage de germination

Tableau 3

Technique de stratification.

Étapes	Description
1	Tremper les graines d'érable à sucre, retenues au moyen d'un coton à fromage dans l'eau distillé à 3-5 °C.
2	Rincer les graines à l'eau courante et changer l'eau de trempage à tous les jours après l'observation d'une coloration brune de la solution de trempage. Ceci permet d'enlever des composés (phénols) inhibant la germination.
3	Planter les graines après environ dix (10) jours dans des bacs contenant du sable humide.
4	Mettre au froid (température entre 3 et 5 °C) et à l'obscurité. Les premières graines peuvent germer après environ un mois, mais il nous fallut attendre trois à quatre semaines avant d'en avoir suffisamment pour la transplantation.
5	Faire la transplantation dans un mélange 3:2:1 (v:v:v) terre organique à jardin: vermiculite: tourbe de sphaigne et bien humecter. Le moment idéal pour transplanter est lorsque la racine a 4 à 6 cm de longueur et qu'elle est recouverte de nombreux poils absorbants.

6	Arroser les semis à chaque 4-5 jours avec la solution d'arrosage*.
---	--

* La solution d'arrosage est décrite dans le tableau 4.

d'environ 75%. Concernant le pourcentage de succès (plantes appropriées pour les mesures), il était d'environ 15% car une forte proportion des plantes n'ont pas pu dépasser le stade de cotylédons. De plus, il nous faut souligner que, d'une part, ces semis ont été arrosés avec une solution d'arrosage dont la recette est consignée au tableau 4 et d'autre part, certaines précautions, décrites au tableau 5, ont été prises pour pouvoir réussir la croissance des semis.

3.2.2.2 Expérimentation sur les semis

Le tableau 6 présente le nombre de semis utilisés et la durée des fumigations à l'ozone. Pour ce qui est de la prise des mesures, elle sera expliquée dans la section réservée aux prises de mesures.

3.2.2.2.1 Nombre de semis

Dans ce cas, le choix du nombre des semis a été dicté par le pourcentage de succès de la technique de stratification (15%). Ainsi, nous avons conservé 21 semis que nous avons répartis équitablement dans trois groupes.

Tableau 4

Solution d'arrosage pour l'érable à sucre.

C	M (g)	m _s (g)	V _s (ml)	F _{C_s} (X)	V* (ml)	C _f (M)
MnCl ₂ .4H ₂ O	197,91	1,38	250	4 000	4,5	7,0.10 ⁻⁶
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	236,15	141,68	1 000	200	90,0	3,0.10 ⁻³
MgSO ₄ .7H ₂ O	246,48	98,59	1 000	200	90,0	2,0.10 ⁻³
FeNaEDTA	367,05	16,35	1 000	500	36,0	8,9.10 ⁻⁵
H ₃ BO ₃	61,83	2,31	250	4 000	4,5	3,7.10 ⁻⁵
MoO ₃	143,94	0,43	1 000	1 000	18,0	3,0.10 ⁻⁷
KNO ₃	101,10	40,44	1 000	200	90,0	2,0.10 ⁻³
KH ₂ PO ₄	136,09	54,44	1 000	200	90,0	2,0.10 ⁻³
ZnCl ₂	136,28	0,19	500	4 000	4,5	7,0.10 ⁻⁷
CuCl ₂	170,48	0,10	500	4 000	4,5	3,0.10 ⁻⁷

Légende du tableau (4):

C : composé

M : masse molaire (g)

m_s : masse dans la solution-mère (g)

V_s : volume de la solution-mère (ml)

Fc_s : facteur de concentration de la solution-mère

V^* : volume pour 18 l d'eau.

C_f : concentration finale (M)

N.B. Cette recette a été préparée par Charlebois (1992, résultats inédits).

Le pH de cette solution est d'environ 5. On doit l'ajuster par la suite à 5,6.

Tableau 5

Précautions à prendre pour l'obtention des semis.

	Précautions
1	Le sable doit-être premièrement humidifié et par la suite stérilisé.
2	Les bacs de germination doivent-être désinfectés avec l'eau de Javel (légèrement diluée) pendant environ une heure, puis rincés à l'eau de robinet.
3	L'épaisseur du sable sur les bacs doit-être suffisante (environ 5 cm) pour permettre une pénétration des racines sans les faire courber. Un niveau important de sable assure un niveau stable d'humidité durant toute la période de stratification.
4	Les plateaux de 30 x 60 cm peuvent contenir, individuellement, jusqu'à 350 graines d'érable à sucre, il faut éviter un rangement trop serré des graines pour empêcher un enchevêtrement des racines au moment de la germination.
5	Un fongicide (Bénomyl) doit-être appliqué au pulvérisateur sur les plateaux et après chaque transplantation pour réduire au maximum les risques de contamination (qui pourraient bien être endogènes).

Tableau 6

Sommaire de la démarche méthodologique pour les semis.

Nombre de plantes	Concentrations d'O ₃ (ppm)	Nombre de fumigations par semaine
7	0,1	2 (7 heures chacune)
7	0,5	2 (7 heures chacune)
7	0 (contrôle)	2 (7 heures chacune)

3.2.2.2 Séances de fumigation

Les séances de fumigation à l'ozone ont débuté au mois d'octobre 1991. Les concentrations d'ozone choisies sont les mêmes que pour les sauvageons, c'est-à-dire 0, 0,1 et 0,5 ppm. Cependant la concentration 0,3 ppm n'a pas été retenue faute de plantes disponibles. La fumigation à 0,1 et 0,5 ppm d'O₃ se déroulait de la même façon que pour ce qui est décrit pour les sauvageons, c'est-à-dire chaque groupe composé de 7 semis a subi à chaque semaine deux fumigations (chambre de fumigation: T=23±2 °C, H.R. = 30±3 %) chacune et ceci jusqu'au mois de novembre 1991; date à laquelle les plantes fumigées ont montré un état de stress (dessèchement des feuilles, etc.) en comparaison avec les plantes contrôles.

3.2.3 Prise des mesures

Les mesures par la spectroscopie photoacoustique et de fluorescence ont été effectuées parallèlement d'une part sur les sauvageons et d'autre part sur les semis. Dans les prochaines lignes, nous décrirons la façon de prendre les mesures.

3.2.3.1 Mesures photoacoustiques

3.2.3.1.1 Échantillon

Nous avons prélevé des disques de 1,5 cm de diamètre sur des feuilles d'érable à sucre. Ces disques provenaient, à chaque fois, de la face

supérieure des feuilles les plus exposées à l'ozone. Le nombre des disques de feuilles de sauvageons était de 90 (9 disques par semaine pendant 10 semaines) par concentration. Ainsi nous avons un total de 360 échantillons pour les quatre concentrations (0, 0,1, 0,3 et 0,5 ppm) retenues pour notre expérimentation. Dans le cas des semis, nous avons pris 35 disques (7 disques par semaine durant cinq semaines) par concentration. Ce qui nous a donné un total de 105 échantillons pour les trois concentrations choisies d'ozone (0, 0,1 et 0,5).

3.2.3.1.2 Paramètres à mesurer

D'après Bults et al. (1982), Poulet et al. (1980), les paramètres qui donnent une idée générale sur l'activité photosynthétique de la plante sont le dégagement d'oxygène et l'emmagasinage d'énergie photochimique. Concernant ce dernier, il nous faut mentionner qu'il représente la partie de l'énergie absorbée par la plante et utilisée pour son activité photosynthétique. De plus, il nous apparaît important de ne pas passer sous silence le dégagement de la chaleur qui est un paramètre indiquant la quantité de lumière absorbée par la plante et qui est transformée sous forme de chaleur. Indéniablement, ce dernier paramètre nous permet de normaliser la composante de dégagement d'oxygène.

3.2.3.1.3 Mesures

Chaque disque de feuille provenant de l'érable à sucre a été éclairé

pendant 10 à 15 minutes avec une lumière blanche continue et transféré par la suite, à la cellule photoacoustique où il est éclairé avec la lumière modulée. La longueur d'onde est fixée à 680 nm, l'intensité lumineuse modulée à 8 W m^{-2} et l'intensité lumineuse du faisceau saturant, c'est-à-dire l'intensité de la lumière blanche, généralement utilisée est de 300 W m^{-2} . Notons que le faisceau actinique a été appliqué de façon répétée nous permettant ainsi de mesurer séparément la composante du dégagement d' O_2 et la composante thermique à basse fréquence tandis que l'emmagasinage d'énergie photochimique a été obtenu à une fréquence de modulation élevée.

A) Emmagasinage d'énergie photochimique

D'après Bults et al. (op cit), la valeur de l'EEP est déterminée en travaillant à des fréquences de modulation élevées (au-delà de 250 Hz). Cependant, Charland (1989) a démontré que, dans le cas de l'érable à sucre, il suffit d'utiliser une fréquence de modulation aux alentours de 80 Hz. Quant à nous, nous avons fait appel à une fréquence de modulation de 175 Hz car elle s'est avérée efficace pour obtenir la valeur de l'EEP lors d'une pré-expérimentation.

Ainsi, en travaillant à des fréquences élevées, seule la composante thermique est détectée alors que la composante reliée à l'oxygène disparaît car l'oxygène n'a pas le temps de diffuser jusqu'à la surface de la feuille. Dans ce cas, la composante de l'EEP est déterminée en appliquant un faisceau continu de forte intensité (faisceau saturant) (fig. 15 a). La valeur de l'EEP est exprimée par la formule suivante:

$$EEP = \left(\frac{Q_{ms} - Q_m}{Q_{ms}} \right) \times 100 \quad (33)$$

Q_{ms} : représente le signal thermique maximal mesuré en présence du faisceau modulé et saturant tandis que Q_m est le signal thermique mesuré en présence du faisceau modulé.

B) Dégagement d'oxygène et de chaleur

Il est à noter que la diffusion de l'oxygène et de la chaleur ne se fait pas à la même vitesse dans la feuille. Les vecteurs de chacun de ces deux paramètres présentent alors des angles de phase différents, conséquemment, les mesures du signal du dégagement de l'oxygène et celui de la chaleur se font séparément en phase et en quadrature en utilisant un amplificateur à verrouillage de phase (fig. 16).

Pour obtenir la composante reliée au dégagement d' O_2 , nous avons utilisé une basse fréquence de modulation (25 Hz). En allumant le faisceau saturant, les composantes reliées à L'EEP et à l' O_2 disparaissent et seul le signal thermique est détecté. Ainsi, nous avons ajusté l'angle

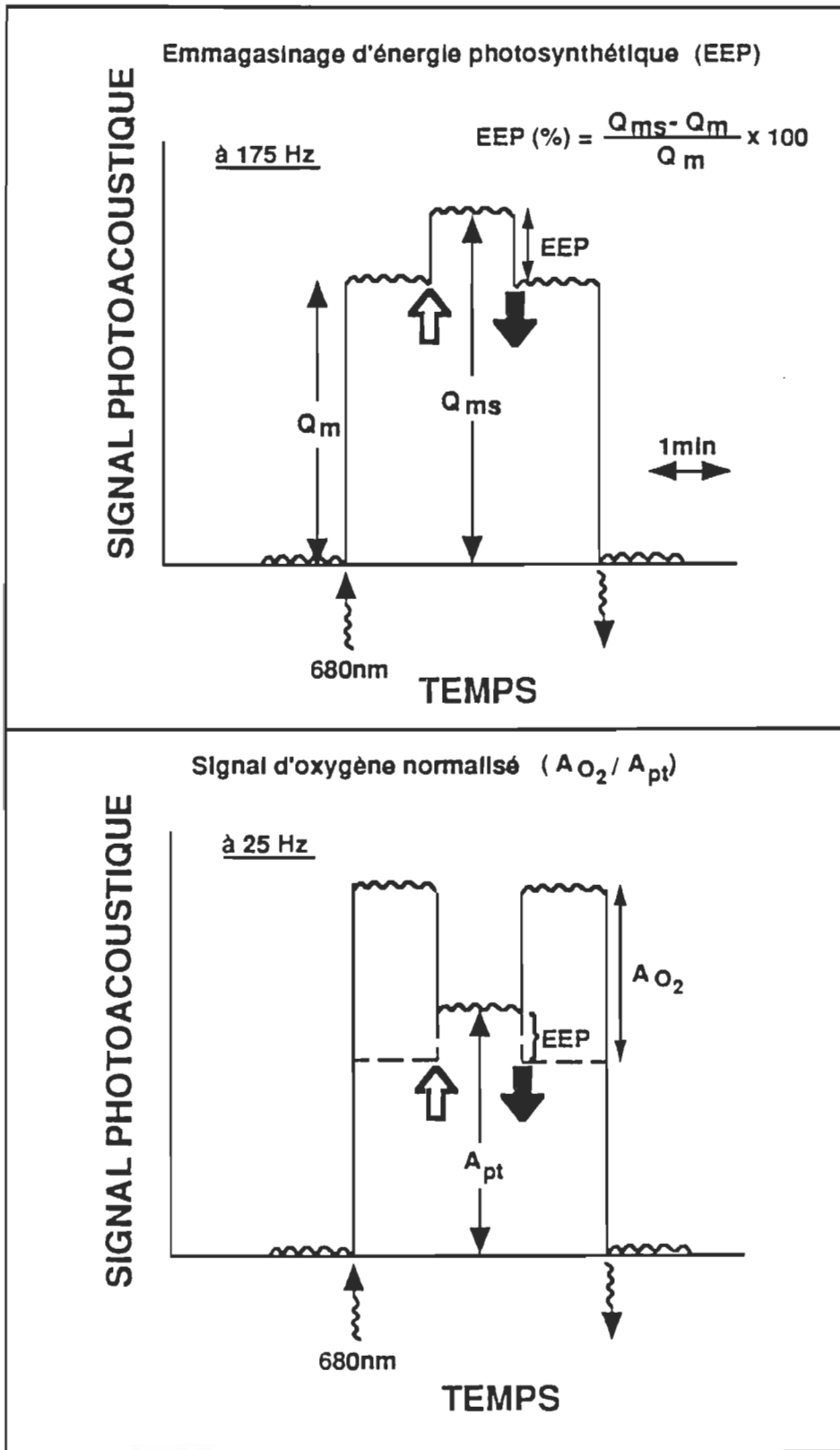


Figure 15 : Représentation schématique des paramètres mesurés en photoacoustique.

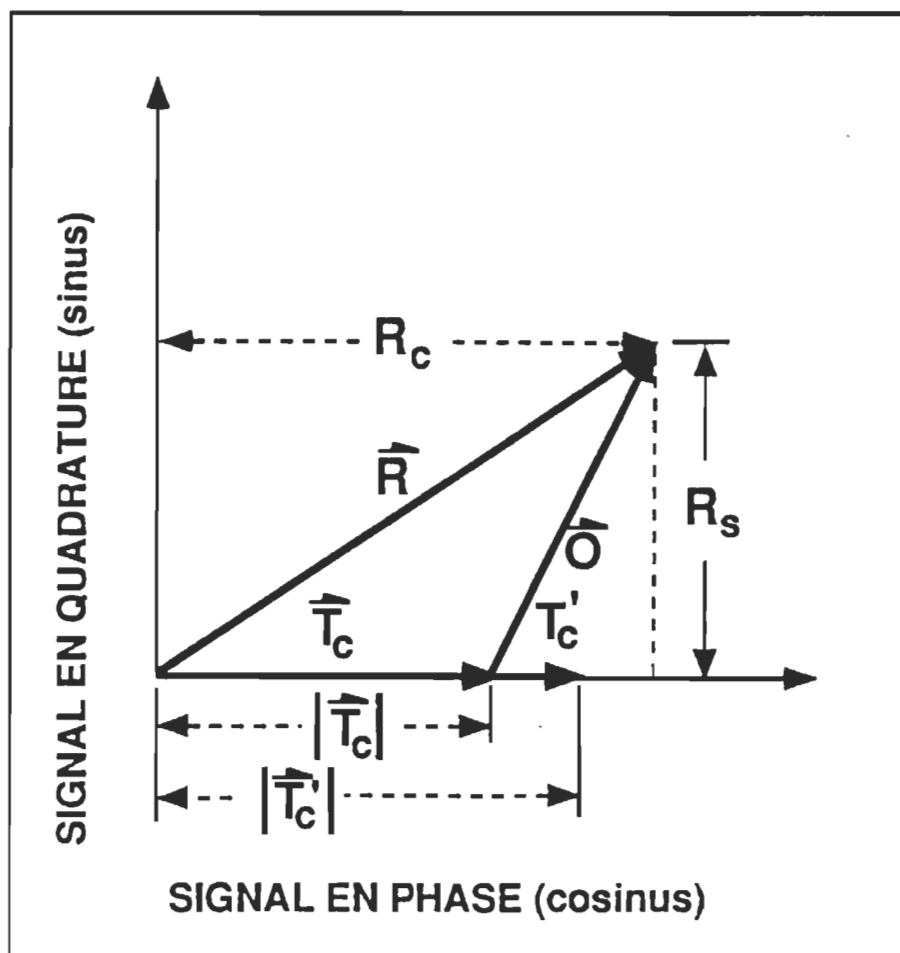


Figure 16 : Représentation vectorielle des composantes du signal photoacoustique dans les feuilles à faible fréquence de modulation ($f = 25$ Hz) avec ajustement des phases.

de phase de l'amplificateur pour annuler le signal thermique dans le canal sinus (quadrature) et l'enregistrer dans le canal du cosinus (phase).

Par la suite, en éliminant le faisceau saturant, les composantes reliées à l'EEP et à l'O₂ réapparaissent (fig. 15b). Sachant que l'EEP, déterminé à haute fréquence de modulation, est similaire à celui déterminé à basse fréquence (Bults et al., 1982), l'amplitude du signal d'oxygène est obtenue par l'équation suivante:

$$A_{O_2} = \sqrt{(Q_m(90^\circ))^2 + \left[Q_m(0^\circ) - \left(1 - \left(\frac{EEP}{100} \right) \right) Q_{ms}(0^\circ) \right]^2} \quad (34)$$

$Q_{ms}(0^\circ)$: représente l'amplitude du signal photoacoustique sous l'effet des faisceaux modulés et actiniques (en phase), $Q_m(0^\circ)$: est l'amplitude du signal photoacoustique en présence du faisceau modulé (en phase) et enfin, $Q_m(90^\circ)$ représente l'amplitude du signal photoacoustique en présence du faisceau modulé (en quadrature). La démonstration de l'équation (34) est donnée dans l'annexe I.

Finalement, pour obtenir un autre paramètre dont on tient compte pour étudier l'effet de l'ozone sur la photosynthèse, nous avons normalisé l'amplitude du signal d'oxygène. Ainsi ce paramètre est obtenu en divisant l'amplitude du signal oxygénique (A_{O_2}) par le signal thermique maximal (A_{Pt}) à basse fréquence de modulation (25 Hz). De façon plus claire, la formule mathématique de ce paramètre est: A_{O_2}/A_{Pt} .

3.2.3.2 Mesures de fluorescence

3.2.3.2.1 Échantillon.

Nous avons prélevé des disques de 1,5 cm de diamètre sur des feuilles d'érable à sucre. Chaque disque prélevé pour servir de matériel à la fluorescence provenait de la même feuille que celle utilisée pour obtenir les mesures photoacoustiques. Il nous faut préciser que le nombre total des échantillons pris des sauvageons durant les 10 semaines de mesure était de 90. Cependant, le nombre total d'échantillons provenant des semis était de 35 à cause évidemment du nombre des séances de mesure (5 semaines au lieu de 10).

3.2.3.2.2 Paramètres à mesurer

Lors des mesures de fluorescence, nous nous sommes intéressés à mesurer la cinétique d'induction de la fluorescence chlorophyllienne (Effet Kautsky). Cette cinétique est obtenue lorsqu'un disque de feuille verte est placé dans l'obscurité pendant 15 minutes puis soumis brusquement à un éclairage. L'indice d'adaptation ainsi que le rapport de la fluorescence chlorophyllienne ont également été mesurés.

A) Indice de vitalité

Le rapport de la décroissance de la fluorescence (F_d) de la fluorescence maximale (F_{max}) jusqu'à l'état stationnaire de la fluorescence (F_s) est donnée par l'équation (35) qui permet d'obtenir l'indice de vitalité R_{fd} .

$$R_{fd} = \frac{F_{\max} - F_s}{F_s} = \frac{F_d}{F_s} \quad (35)$$

B) Indice d'adaptation

Il est obtenu à partir d'indices de vitalité (R'_{fd} et R''_{fd}) mesurés respectivement à 685 et 735 nm. Son expression mathématique est la suivante:

$$A_p = 1 - \frac{1 + R'_{fd}}{1 + R''_{fd}} \quad (36)$$

Où:

R'_{fd} : représente l'indice de vitalité mesuré à 685 nm.

R''_{fd} : est l'indice de vitalité mesuré à 735 nm.

3.2.3.2.3 Mesures

Nous avons mis le disque de feuille d'érable à sucre entre deux lamelles et l'avons placé dans le porte-échantillon du spectrofluorimètre, à l'obscurité pendant 15 minutes. Ensuite, nous avons éclairé l'échantillon avec une lumière de 470 nm, les fentes des deux monochromateurs ont été ouverts d'un diamètre de 1;0,3;0,3;0,3 mm, soit les numéros 2, 4, 8 et 10 respectivement de la figure 14.

La détection est faite à deux longueurs d'onde pour le même échantillon, à 685 nm en premier lieu, puis à 735 nm après réadaptation de l'échantillon à l'obscurité pendant 15 minutes. Notons que nous avons enregistré la courbe cinétique de l'induction pour chacune des deux longueurs d'onde de détection.

Nous avons choisi ces deux longueurs d'onde parce que le spectre d'émission de la fluorescence chlorophyllienne pour la feuille d'érable à sucre a montré deux maxima correspondants aux valeurs 685 et 735 nm.

CHAPITRE IV

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Comme nous l'avons déjà mentionné, l'étude de l'effet à long terme d'ozone sur la photosynthèse de l'érable à sucre a été déterminée sur la base des mesures de certains paramètres photosynthétiques. Ces derniers ont été déterminés à l'aide de deux méthodes spectroscopiques soient: la spectroscopie photoacoustique et la spectroscopie de fluorescence. Dans ce chapitre, nous commencerons par présenter les résultats obtenus en utilisant les plantes sauvageons (5 à 7 ans), puis ceux obtenus avec nos expériences sur les semis (3 à 4 mois). Par la suite nous présenterons une discussion sur l'ensemble de nos observations expérimentales.

4.1 Résultats sur les sauvageons

4.1.1 Paramètres photoacoustiques

Les résultats photoacoustiques ont été exprimés en terme de l'emmagasinage d'énergie photosynthétique (EEP), l'amplitude thermique maximale (A_{pt}), l'amplitude d'oxygène (A_{O_2}) et l'amplitude d'oxygène normalisée par rapport au signal thermique (A_{O_2}/A_{pt}). Il nous importe de noter que dans tous nos résultats qui seront donnés sous forme de courbes, nous avons présenté un seul écart-type pour chacune des

courbes. Dans l'annexe II, nous retrouverons des tableaux qui englobent les moyennes et les écart-types pour chaque paramètre donné pour les quatre groupes de plantes. De plus, chaque point représenté sur la courbe est la moyenne de neuf échantillons mesurés.

4.1.1.1 Emmagasinage d'énergie photosynthétique

Les résultats associés à la mesure de EEP en fonction du temps, c'est-à-dire durant les 10 semaines de traitement à l'ozone, sont illustrés dans la figure 17. Nous constatons que pour la courbe du groupe contrôle, les valeurs ont passé de 52,40% à 34,50% durant les trois premières semaines de nos expériences, mais à partir de la 3^{ième} semaine elles n'ont pas beaucoup variées dans le temps si on fait exception du pic observé vers la 6^{ième} semaine. Cette diminution observée au début ne peut être attribuée qu'à un changement morphologique ou physiologique brusque qu'ont subi ces plantes, un changement qui peut être relié plus à la nature puisque, rappelons le, nos quatre groupes de plantes ont été placés dans des conditions identiques. Pour le lot traité à 0,1 ppm, les valeurs de EEP sont restées stables dans le temps, elles ont varié de 32% à 35%. À la fin des traitements, c'est-à-dire après 140 heures de fumigation, les résultats obtenus pour ce paramètre avec le traitement 0,1 ppm ne diffèrent guère de ceux du contrôle. Les plantes traitées à 0,3 ppm ont réagi pratiquement de la même façon que celles traitées à 0,1 ppm au cours des

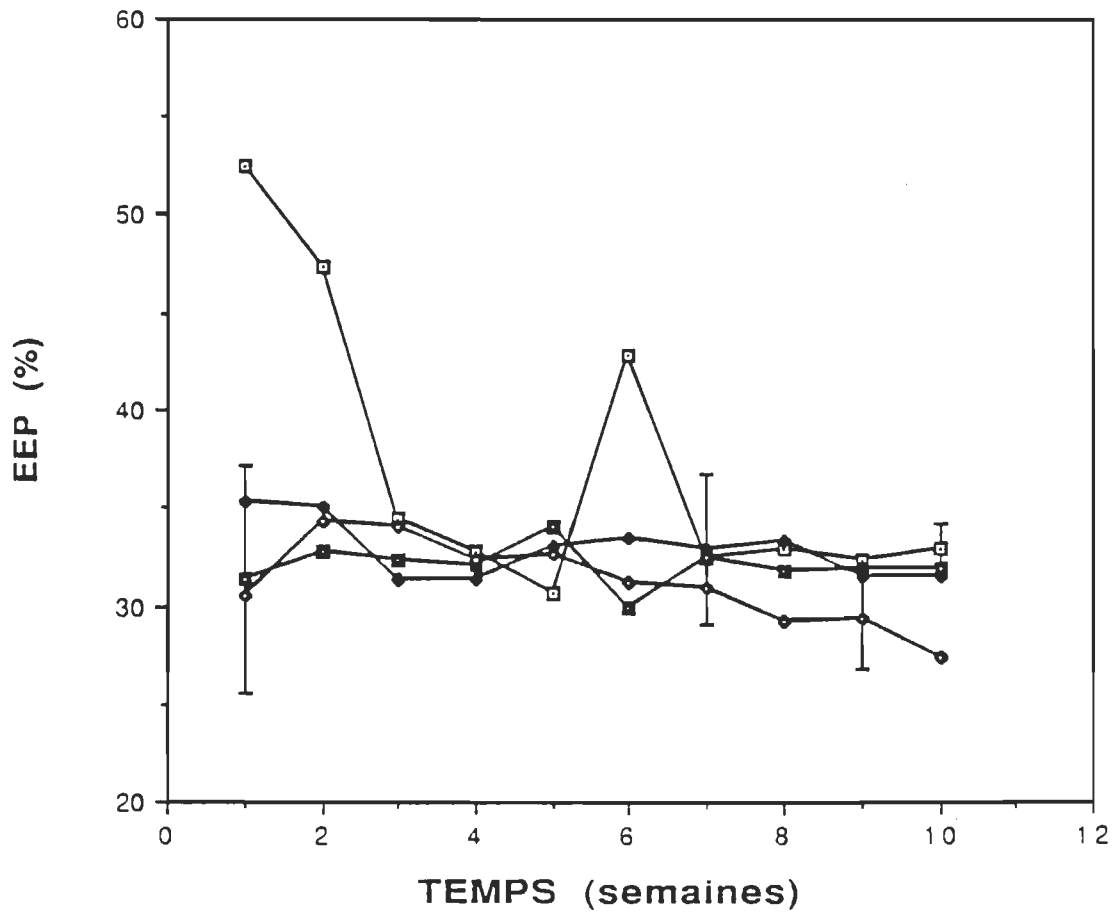


Figure 17: Effet de l'ozone sur l'emmagasinement d'énergie photosynthétique.

- Contrôle
- ◆— 0,1 ppm d'ozone
- 0,3 ppm d'ozone
- 0,5 ppm d'ozone

10 semaines d'exposition à l'ozone. À la fin des fumigations, l'EEP a des valeurs très proches de celles du contrôle et du traitement à 0,1 ppm. Finalement, la 4 ième courbe représentant le lot traité à 0,5 ppm montre une allure semblable à celles des lots 0,1 ppm et 0,3 ppm, mais avec une légère diminution vers la fin des expériences. Une analyse de variance à un critère de classification, appliquée aux valeurs de EEP obtenues pour les quatre groupes de plantes, a révélé qu'effectivement, il n' y avait aucune différence significative entre les lots traités et le lot contrôle. Il nous faut, toutefois, signaler que nous nous sommes intéressés à voir les résultats de l'analyse de variance uniquement pour la 10 ième semaine pour EEP, ainsi que pour les autres paramètres que nous allons donner par la suite, puisque notre objectif est l'étude de l'effet à long terme, donc ce qui nous est important à retenir le plus ce sont les résultats obtenus vers la fin des fumigations à l'ozone.

Donc, nous constatons que le paramètre EEP est demeuré semblable pour les trois concentrations utilisées d'ozone en comparaison avec le lot qui sert de contrôle. Toutefois, nous pouvons noter une faible tendance à la baisse dans le temps pour tous les groupes mais qui est négligeable. Nous pouvons conclure que l'ozone à 0,1, 0,3 et 0,5 ppm n'avait aucun effet sur l'emmagasinage d'énergie photosynthétique.

4.1.1.2 Amplitude thermique maximale

Les variations du paramètre A_{pt} tout au long des traitements sont présentées dans la figure 18 en fonction du temps. De façon générale, les

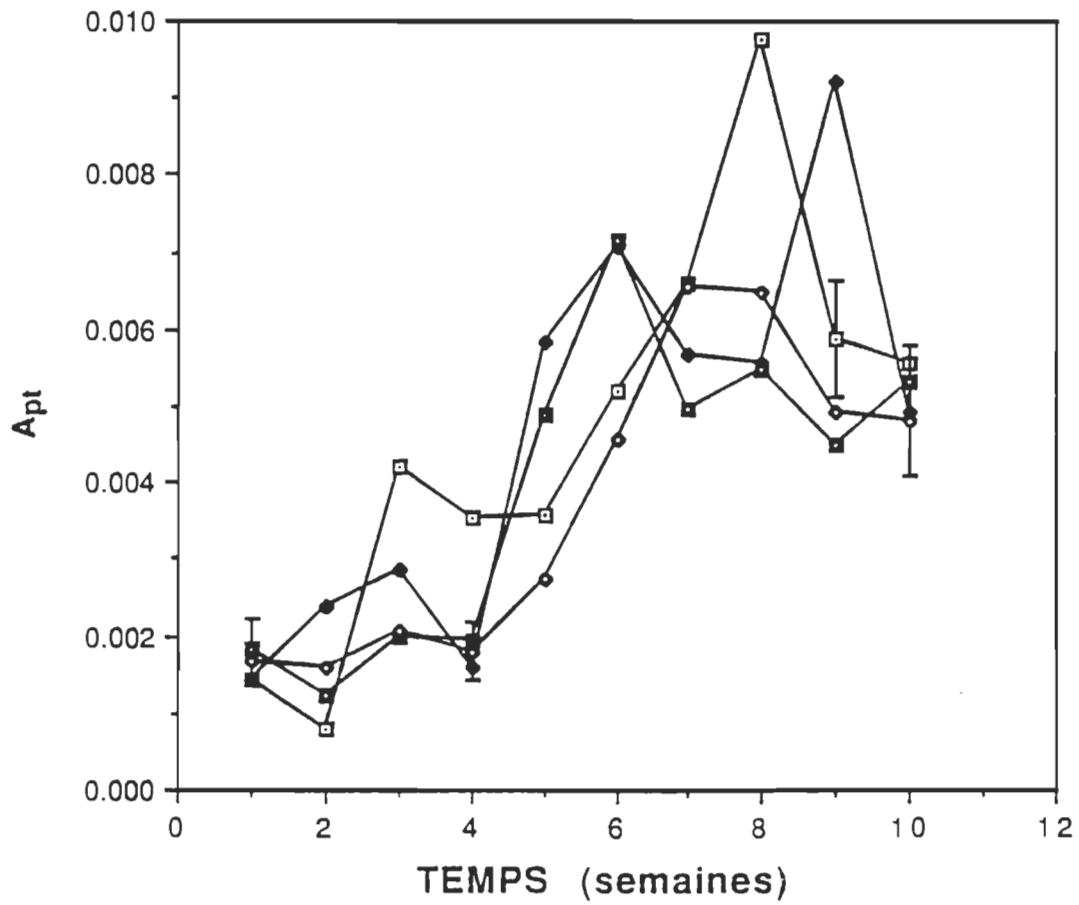
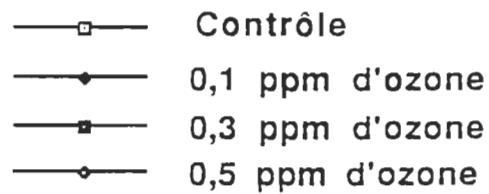


Figure 18: Effet de l'ozone sur l'amplitude thermique maximale.



quatre courbes ont subi une hausse importante à partir de la 4^{ième} semaine (pente fortement positive avec un coefficient de corrélation r de 0,76 à 0,83). À la fin des expériences, les plantes traitées aux différentes concentrations d'ozone ne montrent aucune différence significative avec les plantes qui ont servi de contrôle, donc nous pouvons dire que l'ozone aux concentrations utilisées n'a également pas agi sur le signal thermique maximale après 140 heures de fumigation.

Sachant que le signal thermique dépend dans une large mesure des propriétés thermiques de l'échantillon qui sont elles même dépendantes de la teneur en eau de ce dernier, l'augmentation de ce paramètre observée au cours des traitements peut être expliquée par une déshydratation des feuilles qui a pu survenir à cause des journées chaudes du mois de juillet et début août. En effet, la diffusivité thermique α d'un échantillon (dans notre cas l'échantillon est une feuille) est donnée par la relation:

$$\alpha = \frac{\kappa}{C_p \rho} \quad (37)$$

κ : conductivité thermique ($J \ m^{-1} \ s^{-1} \ K^{-1}$)

C_p : capacité calorifique à pression constante ($J \ kg^{-1} \ K^{-1}$).

ρ : masse volumique ($kg \ m^{-3}$).

Le paramètre thermique α varie suivant les milieux puisque les paramètres κ , C_p et ρ varient. Étant donné que nos expériences se déroulaient dans le temps et que nos plantes étaient exposées aux

conditions environnementales, les variations climatiques auraient jouées un rôle considérable sur ces dernières. Les changements de température observés ont pu modifier les paramètres thermiques des feuilles par la déshydratation causée par les températures élevées surtout entre la 4^{ième} et la 8^{ième} semaine. Effectivement, nous considérons deux milieux de feuilles qui ont un pourcentage d'eau différent, pris dans des temps différents au cours de nos expériences. Le 2^{ième} milieu possède moins d'eau que le premier milieu à cause du phénomène de déshydratation. Par conséquent, la diffusivité thermique α_1 sera plus faible que α_2 car nous supposons que la densité massique diminue puisqu'on sait que la teneur en eau dans la feuille a diminué. De plus, si la feuille possède moins d'eau, il y aura création de plus d'espace d'air à l'intérieur de l'échantillon et on sait aussi que la capacité calorifique C_p dans l'air est inférieure à celle dans l'eau, par conséquent cette dernière diminue également dans nos conditions. Finalement, la conductivité thermique κ dans l'eau est inférieure à celle de l'air (à titre d'exemple: à 26,7 °C, $\kappa_{\text{eau}}=42,57\text{E-}6$; $\kappa_{\text{air}}=62,20\text{E-}6$ en $\text{cal cm}^{-1} \text{s}^{-1} \text{°C}^{-1}$). Par conséquent, la diffusivité thermique α de l'échantillon a augmenté dans le temps.

D'ailleurs, selon Cahen et al., 1980, le signal photoacoustique dépend largement aussi bien du coefficient d'absorption β que celui de diffusion thermique S , les deux paramètres ont la même dimension (cm^{-1}).

La longueur de diffusion thermique μ_s dépend des propriétés thermiques de l'échantillon et de la fréquence de modulation.

$$\mu_s = \sqrt{\frac{\kappa}{\pi f \rho C_p}} \quad (38)$$

Dans nos expériences, nous supposons que κ a augmenté, ρ et C ont diminué et la fréquence de modulation f est constante, donc la longueur de diffusion thermique augmentera. Par conséquent, le dégagement de chaleur sera plus important dans ces conditions ce qui explique la hausse de l'amplitude thermique obtenue dans nos résultats.

Enfin, la diminution du signal thermique observée vers la fin de nos traitements peut être expliquée simplement par le retour normal de la teneur en eau dans la feuille.

4.1.1.3 Amplitude d'oxygène

Dans la figure 19, nous présentons les variations du signal brut d'oxygène pour les lots traités à 0,1, 0,3 et 0,5 ppm et le lot servant de contrôle en fonction du temps. Au cours des quatre premières semaines des traitements, les courbes correspondants aux quatre lots n'ont pas beaucoup variées pendant cette période et sont restées presque au même niveau. Cependant après la 4^{ème} semaine, nous observons une hausse dans le signal d'oxygène pour tous les groupes de plantes (pente légèrement positive avec un coefficient de corrélation de 0,48 à 0,68). Notons toutefois que, pour le contrôle et le lot traité à 0,1 ppm, des pics ont été observés respectivement vers la 8^{ème} et 9^{ème} semaine de nos expériences. Retenons que ces pics coïncident pendant la même période où nous avons observé d'autres pics pour ces deux lots dans le cas du

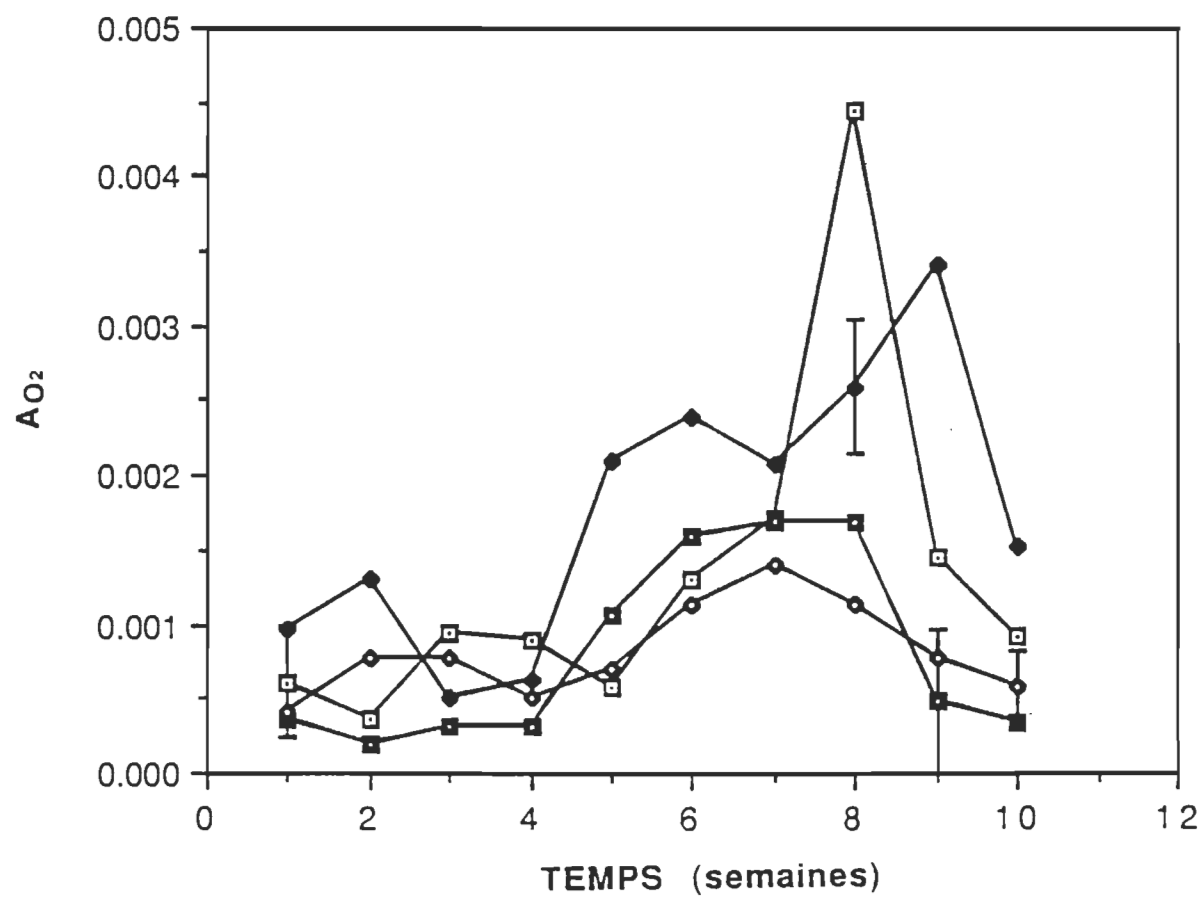


Figure 19: Effet de l'ozone sur l'amplitude d'oxygène.

- Contrôle
- 0,1 ppm d'ozone
- 0,3 ppm d'ozone
- 0,5 ppm d'ozone

paramètre thermique maximal. À la fin des traitements, les valeurs de l'amplitude d'oxygène ont diminué pour tout les groupes, c'est-à-dire aussi bien pour les plantes traitées que les plantes de contrôle. L'analyse de variance a montré qu'il n'y a aucune différence significative entre le contrôle et les traitements. Par conséquent l'ozone n'a pas agi sur ce paramètre.

Concernant l'augmentation du signal d'oxygène observée pour tous les groupes de plantes, elle ne peut pas être expliquée par une augmentation de l'activité photosynthétique des plantes puisque l'EEP, qui est un bon indicateur de cette activité, est demeuré pratiquement stable durant le déroulement des traitements. Toutefois, cette élévation dans le signal peut être liée au taux de diffusion de l'oxygène qui a pu changer par suite des variations survenues à l'intérieur de l'échantillon, variations associées beaucoup plus au phénomène de déshydratation. En effet, comme nous l'avons déjà indiqué, une diminution dans le pourcentage d'eau à l'intérieur d'une feuille va créer plus d'espaces aérifères dans cette dernière. Conséquemment, l'oxygène va diffuser plus rapidement dans ces conditions. Ainsi en appliquant l'équation 39 de la variation de pression due uniquement au dégagement d'oxygène développée par Bults et al. (1982), nous constatons que le taux de diffusion est proportionnelle à la variation de pression P . Par conséquent, un changement dans ce taux entraînera un changement dans la pression. Dans le cas de nos expériences, nous considérons que P_o , C_o , V , γ , ω , \bar{I} et ϕ sont constantes dans le temps car nous avons utilisé les même conditions pour toutes les

mesures. Signalons que le produit $\left(\prod_i \frac{K_i}{\sqrt{K_i^2 + \omega^2}} \right) \phi \cdot \tilde{I}$ est dû à des réactions qui se font très rapidement dans le temps et qui ne peuvent pas être détectées avec la spectroscopie photoacoustique modulée, nous supposons que ce produit est constant dans nos conditions. La variation de pression va être donc plus dépendante du taux de diffusion de l'oxygène (D). Ainsi une élévation de ce taux va engendrer une pression plus élevée, autrement dit, il y aura plus d'oxygène qui a diffusé à la surface de l'échantillon et qui est détecté par le microphone, alors l'amplitude de l'oxygène est plus élevée.

$$[\tilde{P}] = \frac{\gamma P_0}{\omega V C_0} e^{-\sqrt{\frac{\omega}{2D}} \cdot l} * \left(\prod_i \frac{K_i}{\sqrt{K_i^2 + \omega^2}} \right) \phi \cdot \tilde{I} \quad (39)$$

Où:

γ : rapport C_p/C_v

P_0 : pression ambiante (bar)

C_0 : concentration moyenne ambiante (mol cm^{-3})

ω : fréquence angulaire

V : volume total du gaz

D : taux de diffusion

l : épaisseur de l'échantillon

\tilde{I} : intensité (W m^{-2})

ϕ : flux de chaleur

De plus, nous avons remarqué que les signaux thermique et oxygénique présentent un pic pendant la même période aussi bien pour le groupe contrôle que pour le lot traité à 0,1 ppm, nos résultats concordent

bien puisque, comme nous l'avons dit, plus le pourcentage d'eau diminue dans l'échantillon, plus il en résulte d'une part une augmentation dans le signal thermique due à une hausse dans la longueur de diffusion thermique, et d'autre part, une augmentation dans le signal d'oxygène qui est due à une élévation dans le taux de diffusion.

4.1.1.4 Amplitude d'oxygène normalisée

Tout d'abord, rappelons que le signal d'oxygène brut a été normalisé par rapport au signal thermique maximal. Notons aussi que le vecteur de dégagement d'oxygène représente l'activité photosynthétique proprement dite, la division par le vecteur thermique permet d'obtenir une référence puisque son amplitude est directement liée à la quantité de chlorophylle présente dans la feuille. Donc, les variations du rapport A_{O_2}/A_{pt} devraient être largement dépendantes des variations obtenues avec les signaux thermique et oxygénique dans le temps.

Les résultats obtenus avec ce paramètre sont illustrés dans la figure 20 en fonction du temps. Nous observons que les quatre courbes accusent une diminution dans le temps pour ce paramètre sans montrer une différence significative entre les plantes traitées avec les trois concentrations et les plantes servant de contrôle. Donc, les fumigations à l'ozone n'ont montré également aucun effet sur le signal d'oxygène normalisé. Cependant, la diminution observée pour tous les lots de plantes est due principalement à une hausse du signal thermique maximal plus importante que celle observée dans le cas du signal d'oxygène.

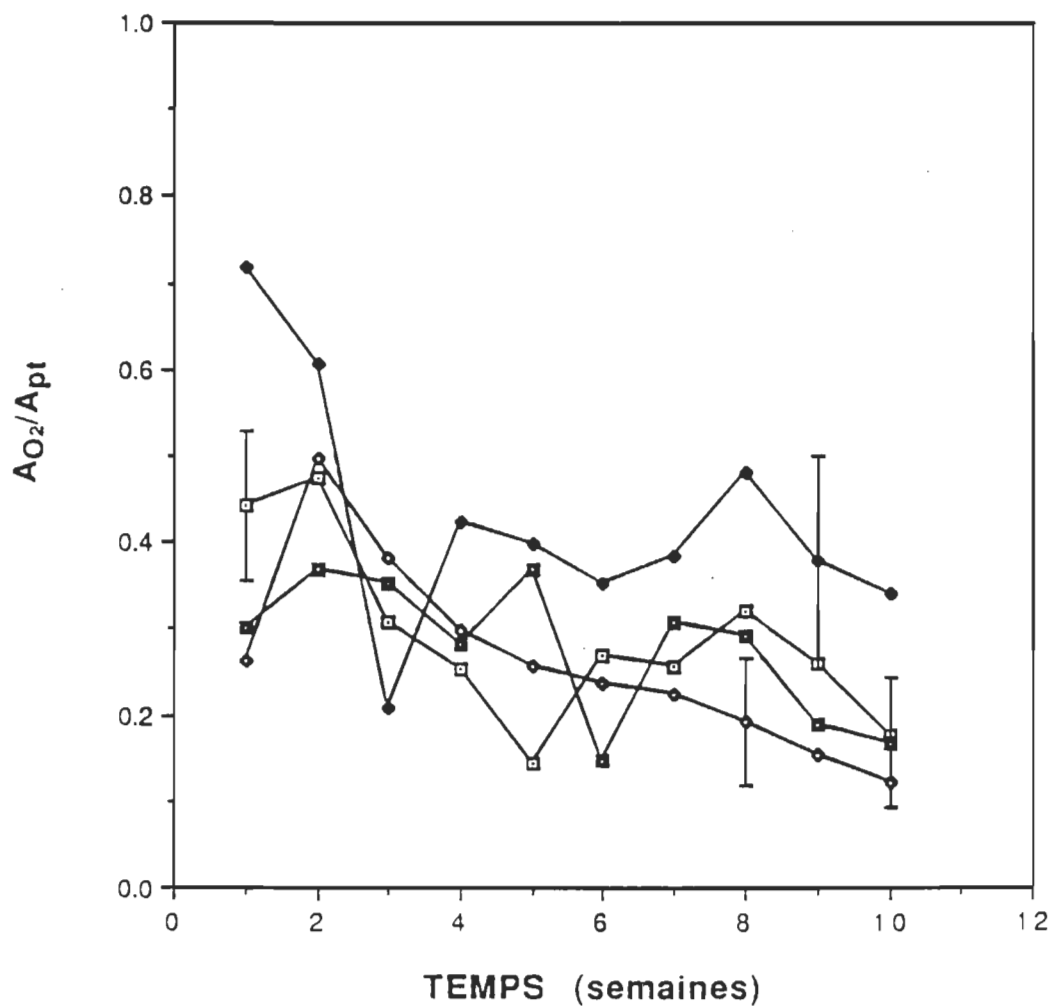


Figure 20: Effet de l'ozone sur l'amplitude d'oxygène normalisée.

- Contrôle
- 0,1 ppm d'ozone
- 0,3 ppm d'ozone
- 0,5 ppm d'ozone

Ces résultats obtenus en travaillant avec des plantes de sauvageons nous montrent bien que l'ozone à 0,1, 0,3 et 0,5 ppm n'a agi sur aucun des paramètres photoacoustiques mesurés, ces paramètres qui reflètent l'activité photosynthétique de la plante. Conséquemment, nous pouvons conclure qu'avec la méthode de la spectroscopie photoacoustique, l'ozone n'a engendré aucun effet sur l'activité photosynthétique des sauvageons de l'érable à sucre.

Au cours des prochaines lignes, nous présentons les résultats obtenus avec la spectroscopie de fluorescence qui nous permet également de mesurer des paramètres photosynthétiques.

4.1.2 Paramètres de fluorescence

Les résultats de fluorescence ont été exprimés en terme d'indice de vitalité mesuré à 685 nm et à 735 nm, R_{fd} , d'indice d'adaptation au stress, A_p et de rapport servant d'indicateur de la teneur en chlorophylle, F_{685}/F_{735} . Il est important de noter que nous avons mesuré R_{fd} même à 735 nm pour calculer l'indice d'adaptation qui est fonction de R_{fd} mesuré aux deux longueurs d'onde et pour obtenir également le rapport F_{685}/F_{735} nm.

Notons aussi que même pour ces résultats de fluorescence, nous avons présenté un seul écart-type sur chaque courbe, des tableaux englobant les moyennes et les écart-types pour tous les paramètres sont donnés en annexe III.

4.1.2.1 Indice de vitalité

Les courbes illustrant les résultats obtenus pour l'indice de vitalité mesuré à 685 nm et à 735 nm sont présentées respectivement dans les figures 21 et 22 en fonction du temps durant les dix semaines de traitement. À l'examen de ces courbes, nous constatons que les quatre lots de plantes représentant respectivement le contrôle et les traitements à 0,1, 0,3 et 0,5 ppm, montrent une diminution dans le temps aussi bien pour R_{fd} mesuré à 685 nm que pour celui mesuré à 735 nm. Pour le premier paramètre, les courbes affichent une pente négative (avec un coefficient de corrélation r de 0,70 à 0,90). L'analyse de variance à un critère de classification a montré qu'il n'y a aucune différence significative entre les plantes traitées et les plantes contrôle après les dernières séances de fumigation. Par conséquent, nous pouvons en conclure que l'ozone n'a joué aucun rôle dans cette diminution observée pour R_{fd} mesuré aux deux longueurs d'onde.

Nous remarquons que les valeurs de cet indice mesuré à 685 nm sont plus élevées que celles mesurées à 735 nm. En effet, selon Lichtenthaler et Rinderle (1988), cette différence dans les valeurs peut être expliquée par le fait que l'intensité de la fluorescence dans la région de 685 à 690 nm diminue beaucoup plus que celles de 735 à 740 nm. Par conséquent, les valeurs de R_{fd} à 685 nm seront plus élevées que celles obtenues à 735 nm.

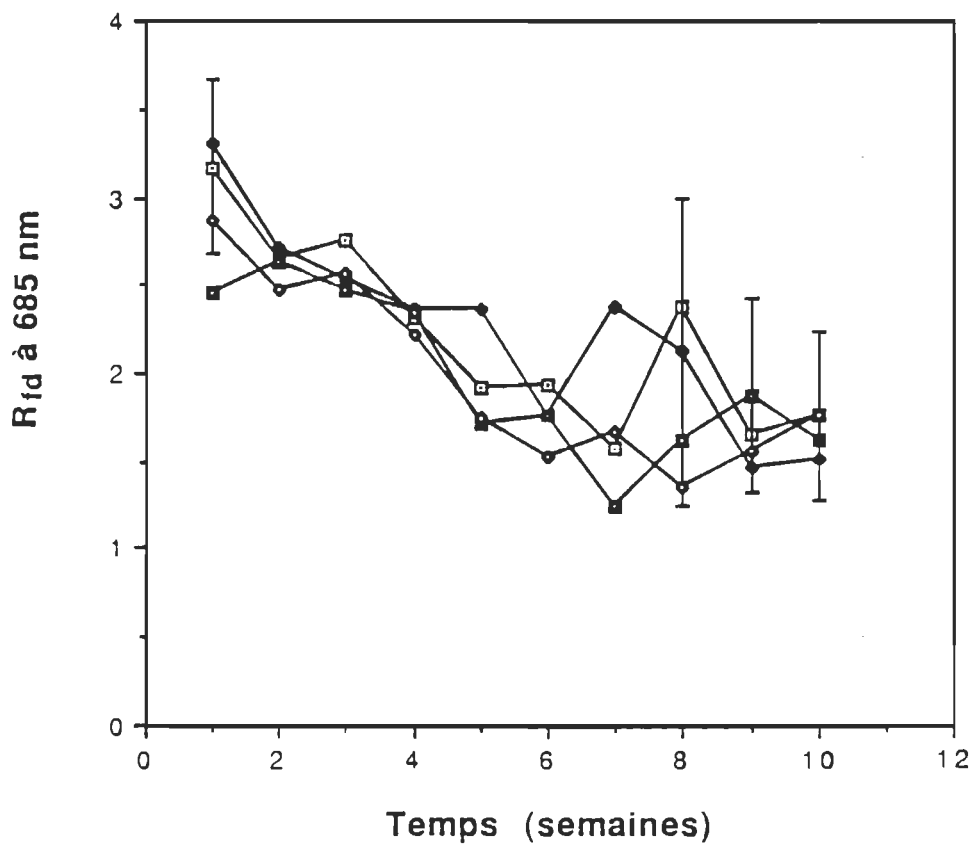


Figure 21: Effet de l'ozone sur l'indice de vitalité mesuré à 685 nm.

- Contrôle
- 0,1 ppm d'ozone
- 0,3 ppm d'ozone
- ◇— 0,5 ppm d'ozone

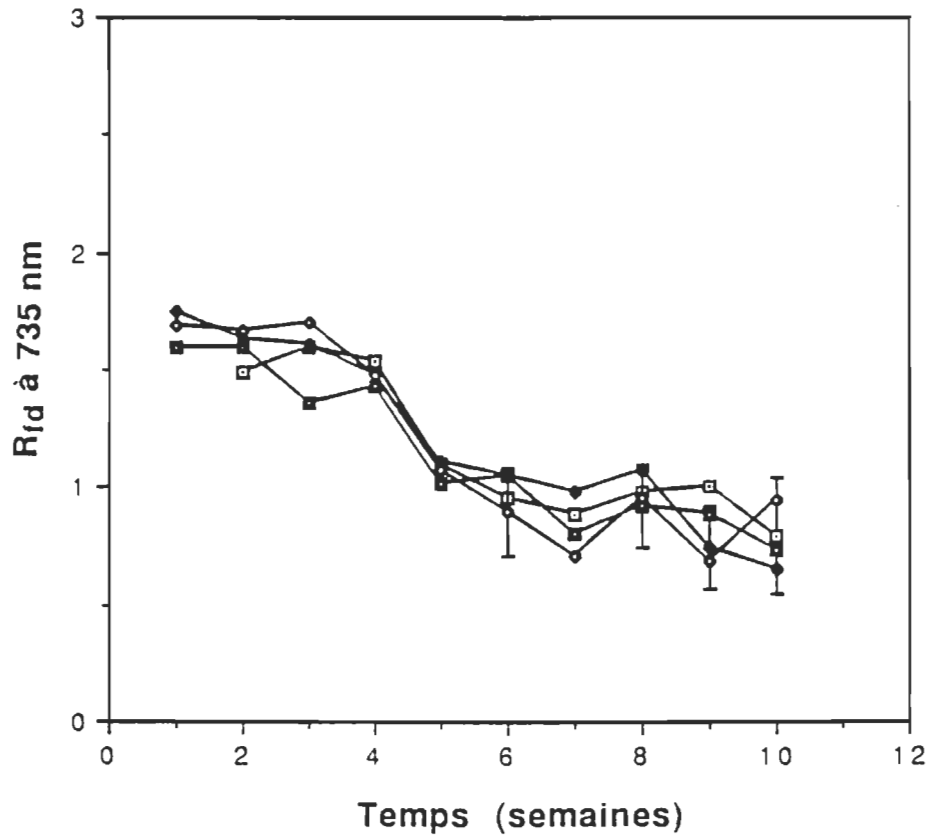
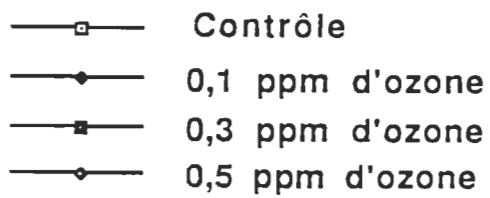


Figure 22: Effet de l'ozone sur l'indice de vitalité mesuré à 735 nm.



La diminution de R_{fd} dans le temps rejoint celle observée dans le cas d'oxygène normalisé. Nous avons attribué cette diminution également à une déshydratation des feuilles.

En effet des expériences faites par Lichtenthaler et Rinderle (1988) sur des feuilles du hêtre rouge et des aiguilles de sapin ont montré que les valeurs de l'indice de vitalité ont été corrélées avec la différence dans le potentiel d'eau dans la feuille. Pendant un été chaud et des journées sèches, l'indice de vitalité pouvait diminuer de 10-30 % indiquant que le processus de la photosynthèse a été légèrement affecté par le phénomène de déshydratation qu'on subi les feuilles pendant cette période.

D'autre part, comme nous l'avons déjà mentionné dans la section 2.2, il a été aussi démontré que les valeurs de R_{fd} varient suivant la saison. Ainsi des jeunes feuilles formées au printemps ou précocement en été ont des valeurs de R_{fd} plus élevées que celles des feuilles qui sont "adultes" en août. Nous supposons que ce phénomène a pu jouer également un rôle non négligeable dans cette diminution de R_{fd} dans le temps.

Donc, le traitement à l'ozone n'a aucun effet sur l'indice de vitalité qui est aussi un indicateur du potentiel de l'activité photosynthétique des sauvageons de l'érable à sucre.

4.1.2.2 Indice d'adaptation au stress

Les résultats obtenus pour ce paramètre (fig. 23) font ressortir que les courbes des plants contrôle et celles traitées varient de la même façon au cours des 10 semaines de traitement sans montrer une différence significative entre le contrôle et les traitements à la fin des expériences.

Ceci nous amène à conclure que l'ozone n'a aucun effet sur ce paramètre. Notons que dans la littérature, il a été démontré qu'un indice d'adaptation A_p supérieure à 0,15 chez une plante lui permet de s'adapter mieux aux stress causés à ces plantes.

4.1.2.3 Rapport de la fluorescence chlorophyllienne

Les courbes représentant les valeurs du rapport F_{685}/F_{735} obtenues sont présentées dans la figure 24. Nous constatons que même avec ce paramètre, les plantes traitées varient de façon semblable que les plantes contrôles. À la fin du traitement nous obtenons aucune différence significative entre les groupes de plantes. Rappelons que le rapport F_{685}/F_{735} est considéré comme une méthode très appropriée pour déterminer les changements de la teneur en chlorophylle d'une feuille. Donc ces résultats nous montrent qu'effectivement nos traitements à l'ozone n'avaient aucun effet sur le contenu chlorophyllien des plantes.

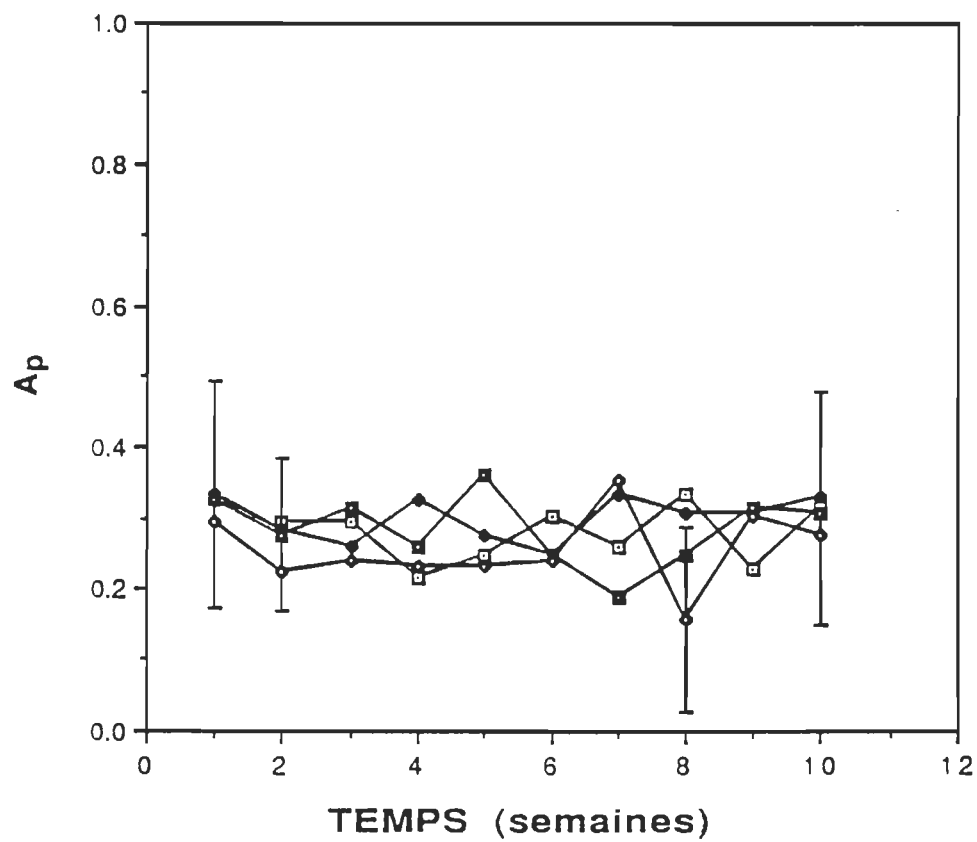


Figure 23: Effet de l'ozone sur l'indice d'adaptation.

- Contrôle
- 0,1 ppm d'ozone
- 0,3 ppm d'ozone
- ◇— 0,5 ppm d'ozone

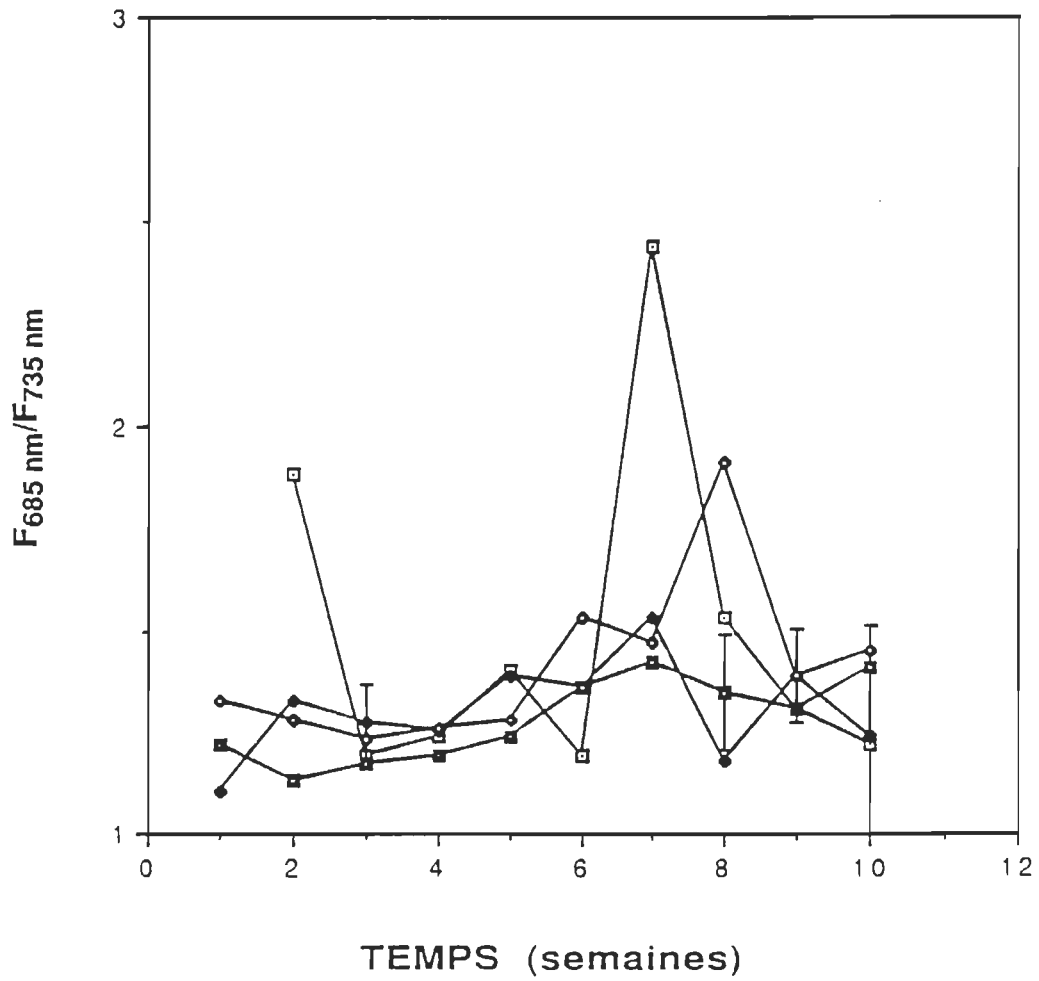


Figure 24: Effet de l'ozone sur le rapport de la fluorescence chlorophyllienne.

- Contrôle
- 0,1 ppm d'ozone
- 0,3 ppm d'ozone
- 0,5 ppm d'ozone

En se basant sur ces résultats, nous pouvons en conclure que la densité chlorophyllienne dans les feuilles n'as pas beaucoup changé lors de nos expériences pour les quatre groupes de plantes. Ceci confirme bien que la photosynthèse n'a pas été affectée par les traitements à l'ozone.

Nos résultats obtenus sur les paramètres photoacoustique et de fluorescence montrent bien que l'ozone n'agit sur aucun d'eux. Par conséquent, nos données obtenues avec les deux méthodes spectroscopiques s'accordent pour dire que l'ozone à 0,1, 0,3 et 0,5 ppm ne semble avoir aucun effet à long terme sur l'activité photosynthétique des sauvageons de l'éérable à sucre.

Alors qu'en est-il pour les semis (3-4 mois) de l'éérable à sucre?

4.2 Résultats sur les plantes de semis

4.2.1 Paramètres photoacoustiques

Les paramètres photoacoustiques mesurés en utilisant les semis sont les mêmes que ceux mesurés avec les sauvageons. De plus, rappelons que nous avons travaillé dans les même conditions que ces derniers. Nous signalons également que nous avons présenté un écart-type pour chaque courbe. Nous retrouverons dans l'annexe IV les moyennes avec les écart-types pour tous les paramètres que nous présentons dans ce qui suit..

4.2.1.1 Emmagasinage d'énergie photosynthétique

La figure 25 présente sous forme de courbes les résultats associés au paramètre EEP en fonction du temps durant les cinq semaines de traitement. La courbe du lot contrôle a légèrement variée dans le temps, mais à la fin des expériences, la moyenne des valeurs de EEP est pratiquement la même que celle obtenue au début. En observant la courbe du lot traité à 0,1 ppm, nous constatons qu'aux deux premières semaines de traitement, l'EEP est resté presque stable. Cependant après la 2^{ème} semaine, la courbe accuse une diminution (pente négative avec un coefficient de corrélation r de 0,94) dans le temps passant d'une valeur de 29,08% à 17,77% après 70 heures de fumigation à l'ozone à 0,1 ppm. Concernant le groupe traité à 0,5 ppm, la courbe correspondante affiche également une pente négative (avec $r = 0.78$).

Pour les deux lots traités respectivement à 0,1 et 0,5 ppm, l'EEP a diminué de 30% par rapport au contrôle. L'analyse de variance a montré qu'il n'y a pas de différence significative entre les traitements et le contrôle à la fin des fumigations. Nous constatons alors que EEP a diminué dans le temps, ce qui veut dire que l'activité photosynthétique a été affectée. Nous pensons que même s'il n'y a pas d'effet significatif statistiquement parlant, une diminution de 30% n'est pas négligeable, compte tenu que le groupe contrôle n'a pas beaucoup changé dans le temps. Mais avant de conclure si cette diminution a été causée par l'ozone ou par d'autres facteurs, nous continuerons à présenter les autres paramètres mesurés.

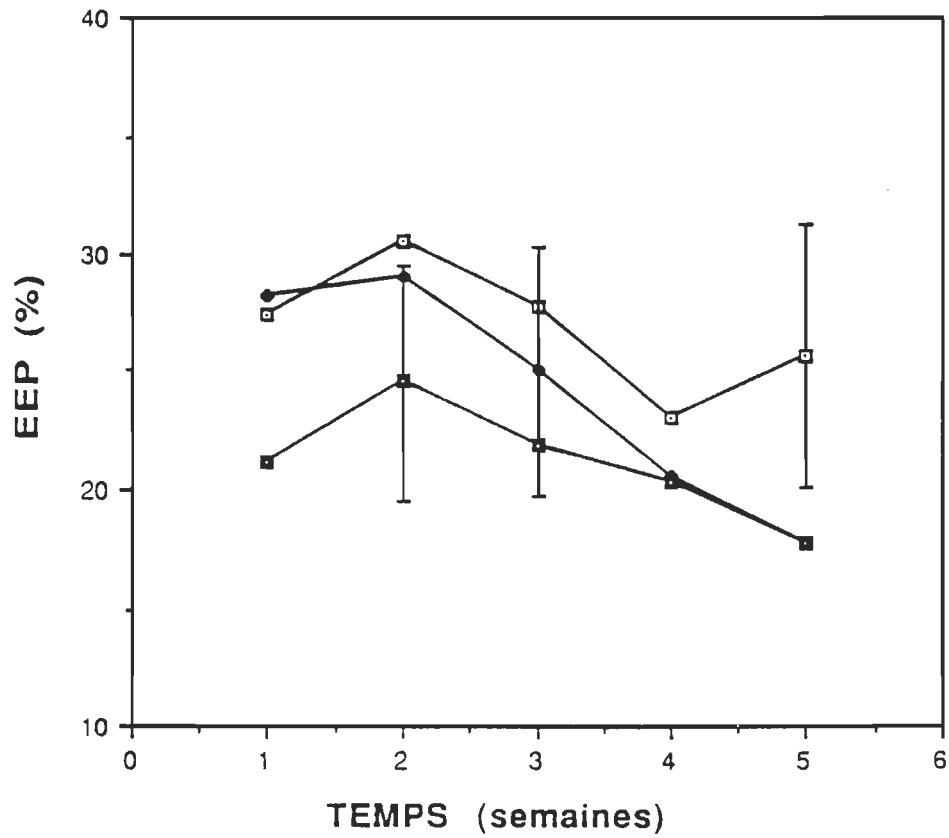


Figure 25: Effet de l'ozone sur l'emmagasinage d'énergie photosynthétique chez les semis.

- Contrôle
- 0,1 ppm d'ozone
- 0,5 ppm d'ozone

4.2.1.2 Amplitude thermique maximale

Les résultats du paramètre A_{pt} sont consignés dans la figure 26 en fonction du temps. La courbe du contrôle a également varié dans le temps, mais ce qui est important de retenir ce sont les résultats vers la fin des expériences en les comparant avec les traitements. Le lot traité à 0,1 ppm montre au début des valeurs proches à celles du contrôle. Mais à partir de la 3^{ème} semaine, le signal thermique total a chuté jusqu'à $1,54 \cdot 10^{-3}$ (une diminution de 64% par rapport au contrôle) et y est resté stable à ce niveau. Nous avons observé un comportement semblable avec les plantes traitées à 0,5 ppm où le signal thermique est passé de $5,07 \cdot 10^{-3}$ à $1,63 \cdot 10^{-3}$, soit une diminution de 58.83% par rapport au contrôle.

Le signal thermique des lots traités accuse une baisse graduelle dans le temps (pente négative). L'analyse de variance a montré une différence significative entre les traitements et le contrôle. Cette diminution dans le signal thermique total est causée par une baisse de la densité chlorophyllienne observée dans les échantillons (voir les résultats du paramètre F_{685}/F_{735} plus loin). En effet, sachant que nous avons travaillé avec une longueur d'onde de 680 nm, c'est-à-dire, dans la région rouge du spectre visible où la lumière est absorbée principalement par la chlorophylle. Par conséquent, si la teneur en chlorophylle a diminué dans l'échantillon, il y aurait moins d'absorbance de lumière par la feuille, il en résulte par la suite une diminution dans le signal thermique total puisque ce dernier, rappelons le, reflète la quantité de lumière absorbée

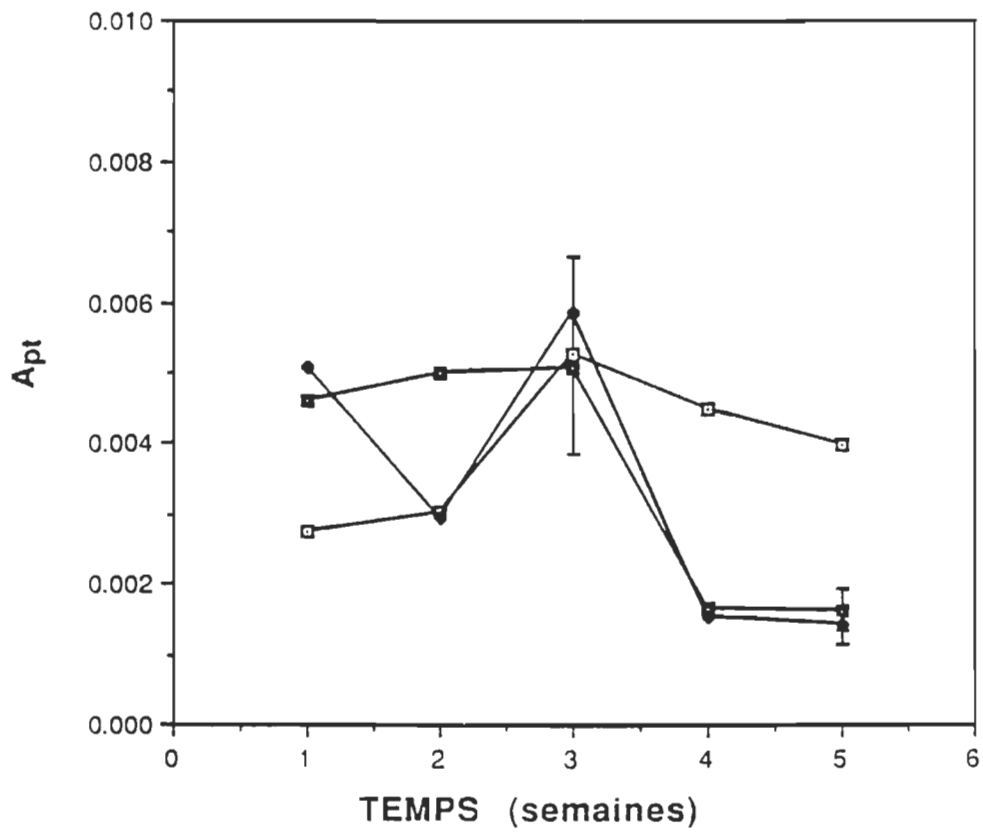
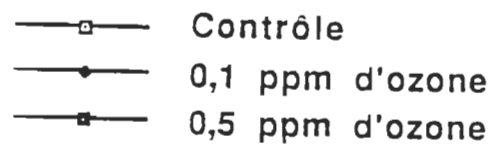


Figure 26: Effet de l'ozone sur l'amplitude thermique maximale chez les semis.



et dissipée sous forme de chaleur. Ceci explique la diminution importante observée dans le cas des lots traités. Le lot contrôle a aussi montré une baisse vers la fin des expériences, mais très faible. Ainsi, nous notons également une diminution importante du paramètre thermique maximal pour les groupes de plantes traitées.

4.2.1.3 Amplitude d'oxygène

Les variations du signal d'oxygène dans le temps sont illustrées dans la figure 27. La courbe du contrôle est restée pratiquement stable au cours des expériences à exception du pic observé vers la 3^{ième} semaine. Le lot 0,1 ppm a légèrement varié au début des traitements, mais après 42 heures de fumigation, le signal d'oxygène a diminué en passant de $1,24 \cdot 10^{-3}$ (3^{ième} semaine) à $4,49 \cdot 10^{-4}$ puis à $2,93 \cdot 10^{-4}$. À la fin des traitements, on note une diminution de 78% par rapport au contrôle. Le lot traité à 0,5 ppm a lui aussi accusé une baisse graduelle dans le temps pour atteindre une valeur de $1,56 \cdot 10^{-4}$. Nous constatons que le signal d'oxygène a diminué de façon significative dans le cas des lots traités. Cette baisse de l'amplitude d'oxygène qui constitue le produit de la photosynthèse permet de dire qu'effectivement l'activité photosynthétique a été affectée comme nous l'avons observé avec le paramètre EEP.

Cette diminution est également liée à la baisse de la densité chlorophyllienne dans le temps. En effet, rappelons que la chlorophylle constitue la molécule clé de la photosynthèse puisqu'elle est responsable

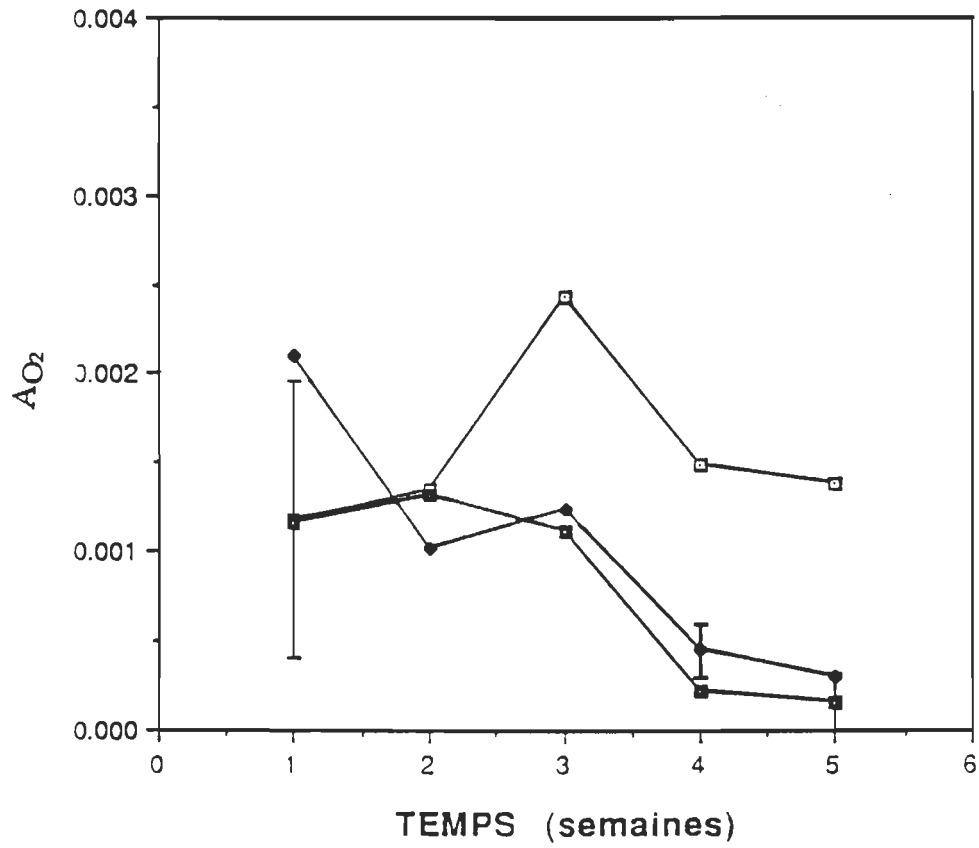
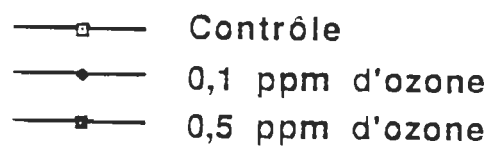


Figure 27: Effet de l'ozone sur l'amplitude d'oxygène chez les semis.



de l'absorption de l'énergie lumineuse et de sa première transformation. Donc elle n'agit pas seulement comme antenne réceptrice de l'énergie lumineuse, mais également comme donneur primaire dans le centre réactionnel. Par conséquent, d'une diminution dans la teneur en chlorophylle, il en résulte une faible absorption de lumière, moins d'oxygène produit, alors une baisse dans l'activité photosynthétique de l'échantillon.

4.2.1.4 Amplitude d'oxygène normalisée

Les résultats obtenus pour ce paramètre sont rapportés dans la figure 28 en fonction des cinq semaines de traitement. Nous constatons que les trois lots accusent une baisse graduelle dans le temps sans montrer une différence significative entre les traitements et le contrôle. La diminution du paramètre A_{O_2}/A_{Pt} est attribuée à la baisse observée pour les signaux thermique et oxygénique au cours de nos expériences. Cette diminution est liée également à la baisse de la densité chlorophyllienne.

Les résultats photoacoustiques obtenus avec les semis (3 à 4 mois), démontrent que les plantes traitées à l'ozone ont des pourcentages de diminution plus élevés par rapport au contrôle surtout dans le cas des signaux thermique et oxygénique, ceci nous permet de dire que les semis ont commencé à montrer une sensibilité à l'ozone après 56 heures de fumigation. L'EEP et A_{O_2}/A_{Pt} ont également montré une baisse dans le temps. Alors même si l'effet est non significatif statistiquement pour

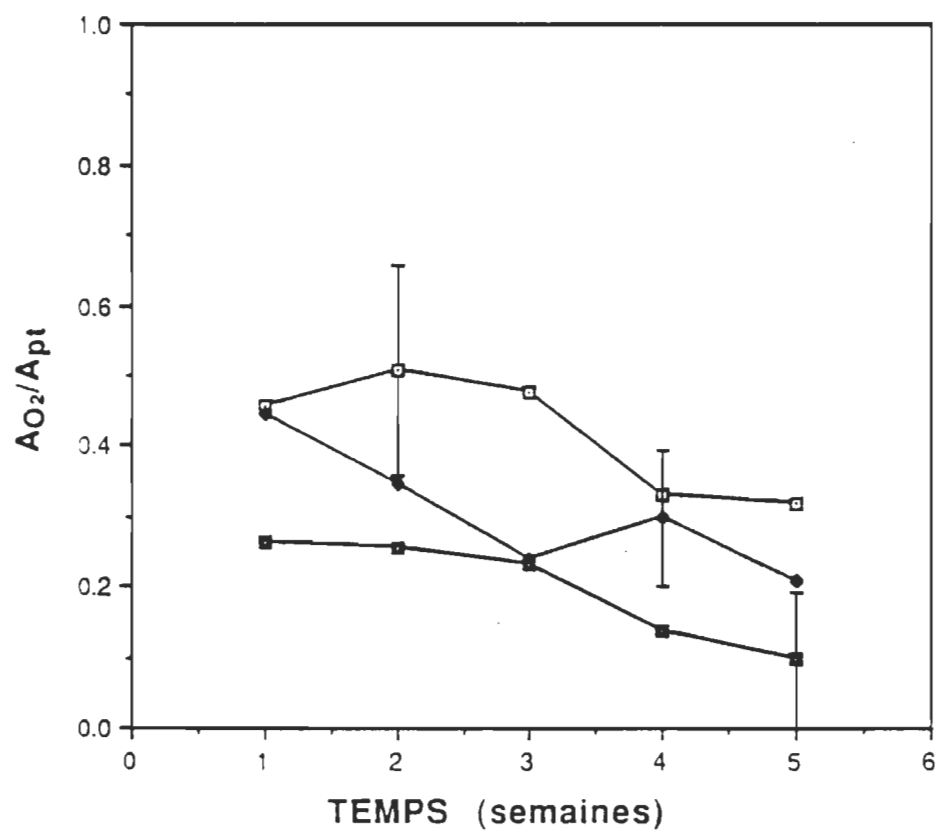


Figure 28: Effet de l'ozone sur l'amplitude d'oxygène normalisée chez les semis.

—□— Contrôle
—●— 0,1 ppm d'ozone
—■— 0,5 ppm d'ozone

ces deux derniers paramètres, nous pensons que les semis d'érable à sucre sont plus sensibles aux effets de l'ozone après une fumigation à long terme compte tenu du pourcentage de diminution élevé observé par rapport au contrôle.

4.2.2 Paramètres de fluorescence

Les résultats de fluorescence sont également exprimés en fonction des mêmes paramètres mesurés dans le cas des sauvageons. Notons aussi que dans l'annexe V, on retrouve les tableaux des moyennes avec les écart-types pour tous les paramètres.

4.2.2.1 Indice de vitalité

Les courbes représentant ce paramètre sont données dans les figures 29 et 30 correspondant respectivement à R_{fd} mesuré à 685 nm et à 735 nm. Si nous examinons les courbes de R_{fd} à 685 nm, nous constatons que les trois lots varient durant les 5 semaines de traitement mais sans montrer une différence significative entre les plantes traitées et celles du contrôle. Le pourcentage de diminution par rapport au contrôle après 70 heures de fumigation à l'ozone est de 32,22% et de 16,41% pour les lots traités respectivement à 0,1 et à 0,5 ppm. Notons qu'une légère diminution dans le temps est également observée dans le cas du contrôle (pente négative).

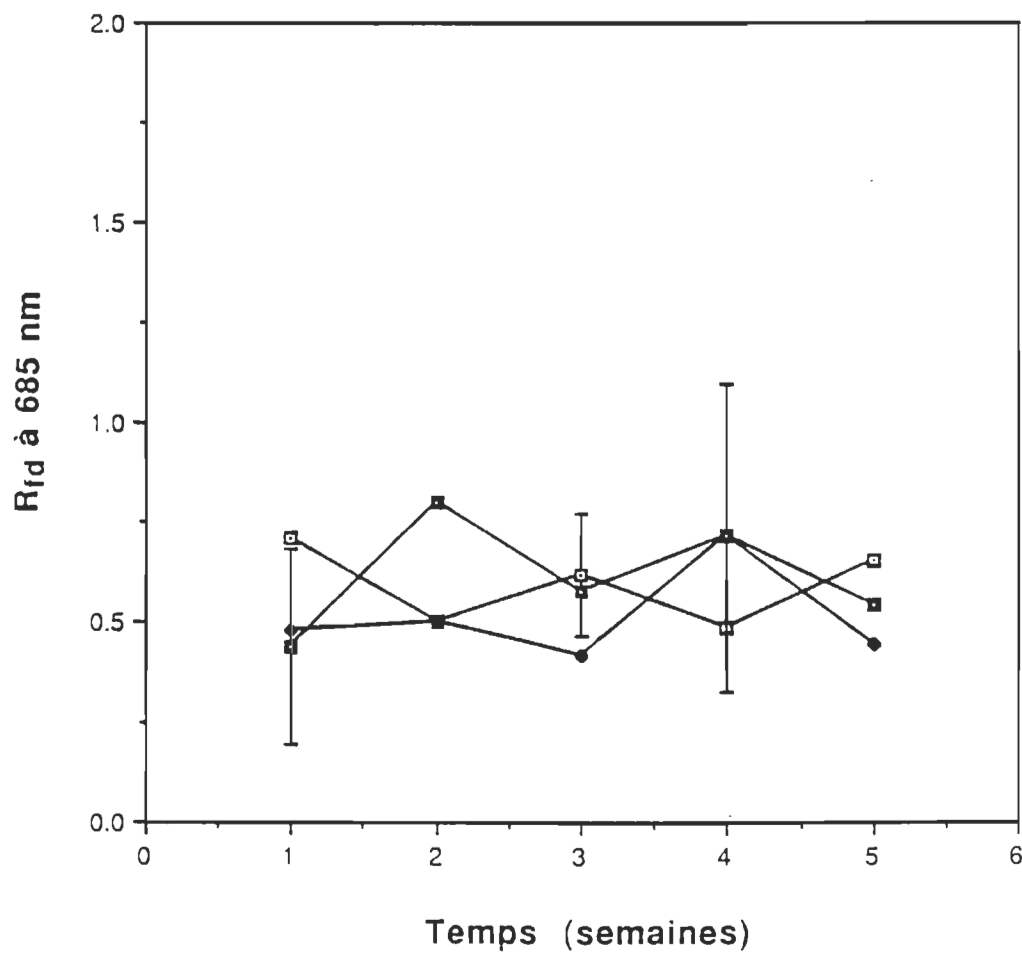


Figure 29: Effet de l'ozone sur l'indice de vitalité mesuré à 685 nm chez les semis.

- Contrôle
- 0,1 ppm d'ozone
- 0,5 ppm d'ozone

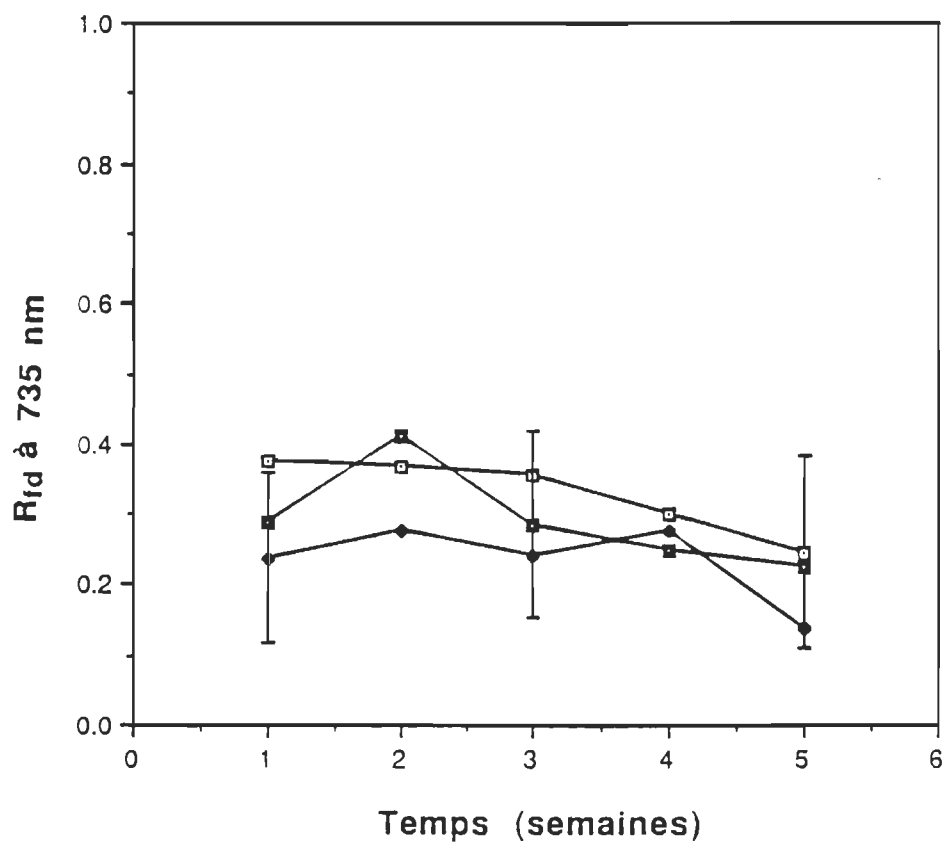


Figure 30: Effet de l'ozone sur l'indice de vitalité mesuré à 735 nm chez les semis.

- Contrôle
- 0,1 ppm d'ozone
- 0,5 ppm d'ozone

Concernant l'indice de vitalité mesuré à 735 nm, nous observons également une baisse dans le temps pour les trois lots sans montrer une différence significative entre le contrôle et le traitement à la fin des expériences.

Nous constatons que les deux paramètres varient de la même façon dans le temps, c'est-à-dire dans le sens de diminution, donc une légère diminution de la photosynthèse. Alors nos résultats obtenus avec ces deux paramètres rejoignent ceux obtenus avec l'EEP et l' A_{O_2}/A_{Pt} qui ont montré aussi une baisse dans le temps, autrement dit, une baisse dans l'activité photosynthétique des semis.

4.2.2.2 Indice d'adaptation

L'indice d'adaptation au stress a montré des variations dans le temps (fig. 31) mais l'analyse de variance n'a donné aucune différence significative entre les traitements et le contrôle vers la 5 ième semaine. Les lots traités à 0,1 et à 0,5 ppm montre une diminution de 20,58% et 30,88% respectivement par rapport au contrôle. Alors nous pensons que même si l'effet de l'ozone n'a pas été significatif statistiquement, les semis ont montré une sensibilité aux traitements après 70 heures de fumigation.

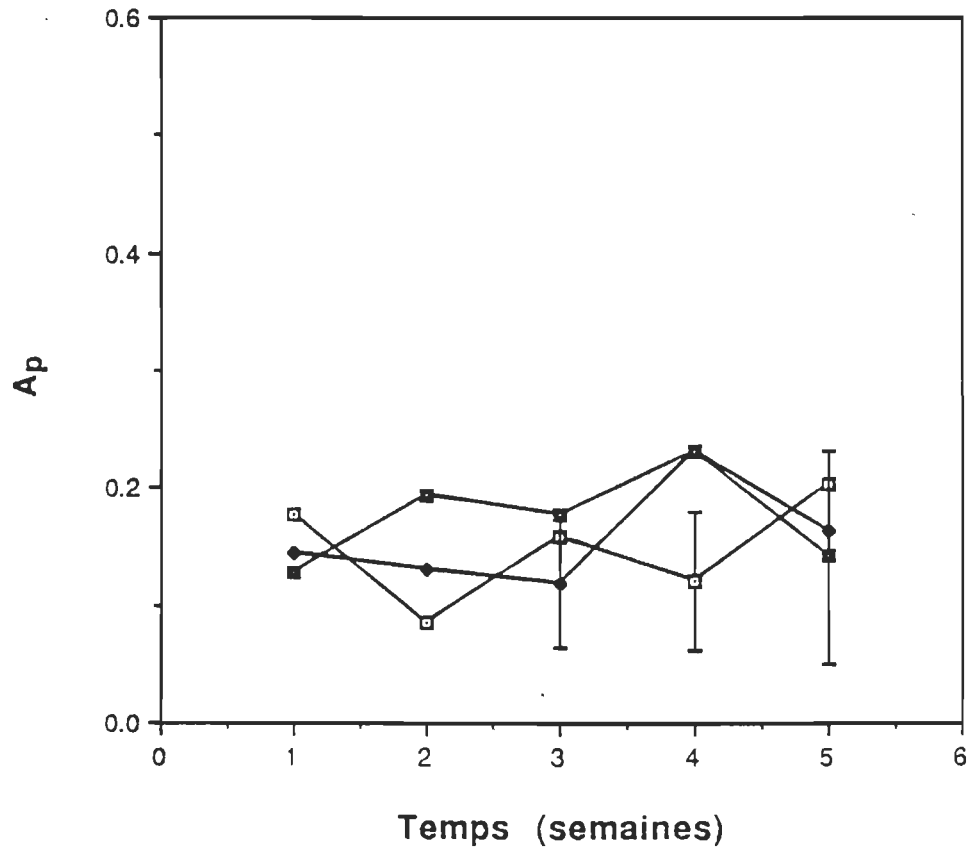
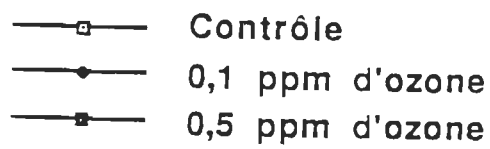


Figure 31: Effet de l'ozone sur l'indice d'adaptation chez les semis.



4.2.2.3 Rapport de la fluorescence chlorophyllienne

Les résultats de ce paramètre sont rapportés dans la figure 32 en fonction du temps. La courbe du contrôle montre un pic vers la 3^{ième} semaine passant de 1,32 à 1,86, puis diminue légèrement pour revenir au même niveau qu'au départ, donc nous pouvons en conclure que la teneur en chlorophylle est restée presque stable dans le temps pour les plantes de contrôle si on compare les valeurs du rapport F_{685}/F_{735} obtenus à la 5^{ième} semaine avec celles de la première et la 2^{ième} semaine des expériences. Les courbes des lots traités varient légèrement au début des traitements. Cependant après 42 heures de fumigation pour chaque lot, ce rapport a augmenté en passant d'une valeur de 1,39 (à la 3^{ième} semaine) à 2,22 (à la fin des fumigations) pour le traitement à 0,1 ppm et de 1,31 à 2,05 dans le cas de 0,5 ppm. L'analyse de variance n'a montré également aucune différence significative entre les traitements et le contrôle. Toutefois, nous notons une augmentation de 70% et de 58% par rapport au contrôle respectivement pour les lots de 0,1 et 0,5 ppm. Rappelons que le rapport F_{685}/F_{735} est considéré comme un bon indicateur de la teneur en chlorophylle. Une diminution de la densité chlorophyllienne dans une feuille va entraîner une augmentation de l'intensité de la fluorescence chlorophyllienne en comparaison avec des feuilles saines. De plus, sachant que cette élévation est beaucoup plus importante aux alentours de 685 nm qu'à 735 nm, une baisse dans la teneur de la chlorophylle occasionne une hausse dans ce rapport. Donc nos résultats montrent que la teneur en chlorophylle a diminué dans le temps surtout dans le cas des plantes traitées puisque leur rapport a augmenté considérablement vers la

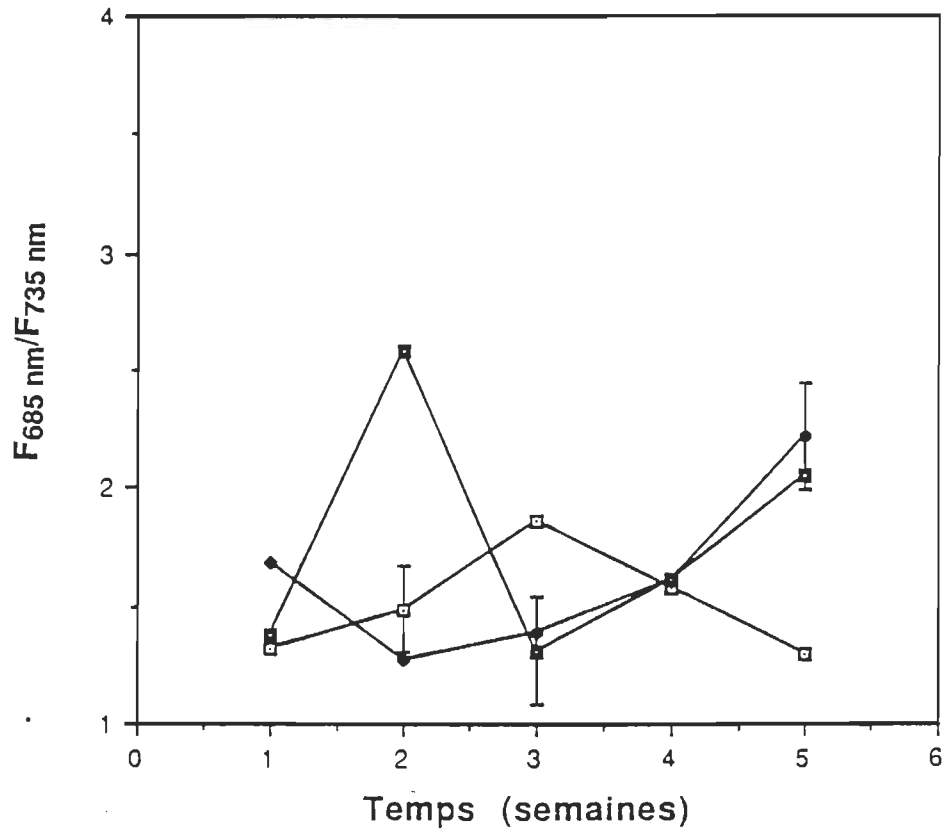


Figure 32: Effet de l'ozone sur le rapport de la fluorescence chlorophyllienne chez les semis.

—□— Contrôle
—●— 0,1 ppm d'ozone
—■— 0,5 ppm d'ozone

fin des fumigations. Par conséquent, une diminution de la densité chlorophyllienne entraînera une baisse dans l'activité photosynthétique des plantes puisque la chlorophylle constitue la molécule clé de la photosynthèse. Les paramètres photoacoustique et de fluorescence se complètent pour expliquer les effets observés sur les semis et s'accordent pour en arriver à une même conclusion. Les résultats obtenus avec les deux méthodes font ressortir que bien qu'il n'y ait pas d'effet significatif pour certains paramètres, l'ozone a pu jouer un rôle non négligeable dans la diminution de l'activité photosynthétique des semis après une fumigation à long terme de 70 heures puisque nous avons observé un pourcentage de diminution important dans le cas des plantes traitées par rapport aux contrôles.

Notre étude sur l'effet à long terme d'ozone sur les plantes d'érables nous a révélé que les paramètres photosynthétiques mesurés tels que l'emmagasinage d'énergie photochimique, le dégagement d'oxygène normalisé, la décroissance relative de la fluorescence dans le temps et le rapport de la fluorescence chlorophyllienne n'ont pas été affectés après l'exposition pendant une longue période aux différentes concentrations d'ozone chez les sauvageons. Donc, des plantes d'érable à sucre âgées de 5 à 7 ans se sont révélées très résistantes à l'action de l'ozone. Toutefois, il nous importe de rappeler qu'il existait un intervalle de temps de deux jours entre les fumigations avec la même concentration (dû aux contraintes techniques), dans ce cas l'effet, si effet il y avait, de l'ozone a pu être réversible. En effet, il a été rapporté par Hibben (1969 b) que les plantes d'érable à sucre se rétablissaient quelques heures après les fumigations. Chappelka et Chevone (1992) ont également rapporté que l'inhibition de la photosynthèse causée par une courte exposition à l'ozone n'est pas permanente et que la plante retrouve son activité photosynthétique normale une heure après la fin des expériences. De plus, nous signalons que nos durées de fumigations faites dans les conditions de laboratoire ne représentent qu'une petite fraction des conditions d'exposition au milieu naturel, donc il est difficile de rapporter les résultats faits au laboratoire dans les conditions de champ où les arbres peuvent être exposés pendant toute une saison de croissance à l'air ambiant. Néanmoins, des expériences menées par Charlebois (1992, résultats inédits) ont montré qu'en exposant des sauvageons à des concentrations d'ozone ambiantes ou 3 fois de l'air ambiant sur une courte

durée (4 heures), l'érable à sucre s'est montré résistante à l'action de l'ozone. D'autres études ont été faites sur des sauvageons d'érable âgés de 4 à 6 ans par Hibben (1969 a). Ce dernier a signalé que le seuil de sensibilité pour l'apparition des symptômes visibles se situait autour de 0,2 à 0,3 ppm après une exposition à court terme (2 heures), alors qu'une fumigation à plus long terme (14 jours à raison de 2 heures par jour) n'a occasionnée que des dégâts légers sans montrer d'effet significatif. Reich et Amundson (1985) ont également travaillé sur des plantes d'*Acer saccharum*. Ils ont rapporté qu'une fumigation à long terme (245 heures) à 0,3 et 0,6 ppm n'a révélé aucun effet sur la photosynthèse des plantes. Selon Darrall (1989), le phénomène d'acclimatement aux effets de l'ozone a pu se manifester chez les plantes. La plante se défend elle même contre les effets d'oxydants photochimiques, comme l'ozone, par plusieurs mécanismes. En effet, Lee (1991) a mené des recherches sur le mécanisme de résistance des plantes aux effets des polluants d'air. Dans son étude, il montre que le stress causé par l'ozone sur les plantes de soja entraîne ces dernières à produire des composés inhibiteurs de radicaux libres, comme l'acide ascorbique, pour se protéger contre les dommages dus à ces oxydants photochimiques. Ses résultats indiquent bien que le système de défense antioxydant existe dans les tissus des feuilles et peut protéger ses composés cellulaires des effets des polluants atmosphériques.

Nos expériences sur les semis nous ont montré que des plantules d'érable à sucre de 3 à 4 mois se sont révélées plus sensibles à l'ozone. En effet, l'activité photosynthétique a diminué dans le temps après une exposition de 70 heures à 0,1 à 0,5 ppm d'ozone. De plus, une diminution

de la densité chlorophyllienne a été observée chez ces semis. Donc, ceci nous permet de conclure que l'âge de la plante est un facteur très important pour déterminer leur réponse au stress causé par l'ozone. Nos résultats sont dans l'ensemble comparables à ceux rapportés par d'autres chercheurs. En effet, Jensen (1973) a rapporté dans son étude que le taux de croissance des semis d'érable à sucre, âgées d'une année, a été significativement réduit après une fumigation à 0,3 ppm d'ozone de 5 mois. Les fumigations se faisaient à raison de 8 heures par jour sur 5 jours par semaine. De plus, il a signalé dans son étude que la teneur en chlorophylle a diminué chez les plantes traitées en comparaison avec le contrôle. Il conclut que l'érable à sucre est considérée sensible si on prend le taux de croissance comme un critère de classification de sensibilité, mais tolérante du point de vue développement des symptômes visibles. Reich et al. (1983) ont rapporté qu'après 10 jours de fumigation des plantules de deux ans à 0,03, 0,06, 0,09 et 0,12 ppm d'ozone, à raison de 7 heures par jour et 5 jours par semaine, la photosynthèse nette des feuilles traitées à 0,12 ppm a été réduite de 20% par rapport à celle des plantes traitées à 0,03 ppm, mais sans montrer un effet significatif sur la croissance. Cependant, Reich et al.(op.cit.) supposent qu'après une exposition à plus long terme, la photosynthèse devrait diminuer considérablement occasionnant ainsi une réduction plus importante dans la croissance des plantes. Effectivement son hypothèse a été testée dans son équipe en 1986 en utilisant toujours des plantules de deux ans. Les concentrations d'ozone utilisées ont été les mêmes mais la durée d'exposition s'est prolongée pendant deux mois, c'est-à-dire une fumigation de 280 heures. La photosynthèse a été réduite de 30% chez les plantes fumigées à

0,12 ppm par rapport à celles traitées à 0,03 ppm. Une réduction significative dans la croissance des plantules a été observée et une diminution dans la teneur chlorophyllienne est notée.

Donc, nous déduisons de ces recherches faites sur les érables que l'âge de la plante, les concentrations et la durée des fumigations qui diffèrent dans les études sont des caractéristiques très importantes dont dépend beaucoup la réponse des plantes aux effets de l'ozone. Les mêmes remarques ont également été tirées sur des études réalisées avec d'autres espèces d'arbres telle que *Pinus strobus*, *Pinus elliotti* (Barnes, 1972). En effet, il a constaté d'une part, que des aiguilles jeunes de *P.strobus* se sont montrées plus sensibles après une exposition à 0,15 ppm, d'autre part, que la photosynthèse de *P.elliotti* a été réduite après 126 jours de fumigation à 0,05 ppm d'ozone. Cependant, le traitement de cette dernière espèce avec une concentration plus élevée (0,15 ppm), mais pendant une durée plus courte (84 jours) n'a montré aucun effet sur la photosynthèse.

L'effet de l'ozone a également été testé sur d'autres espèces d'arbres. Le tableau 7 représente un sommaire sur les différentes recherches faites sur l'effet de ce polluant sur la photosynthèse de certains espèces . De ce tableau, nous pouvons constater que l'ozone peut inhiber le taux d'assimilation de carbone chez plusieurs espèces de conifères et de bois durs. Le tableau 8 rapporte les résultats obtenus pour les paramètres production de la biomasse et la croissance de la hauteur chez des plantules des différentes espèces d'arbres.

Tableau 7

Effet de l'ozone sur la photosynthèse chez d'autres espèces d'arbres.

Espèces	Réponse de la photosynthèse	Références
<i>Populus hybrids</i>	inhibition	Reich et <u>al.</u> , 1986
<i>Quercus rubra</i>	pas d'effet	Reich et <u>al.</u> , 1986
<i>Liriodendron tulipifera</i>	pas d'effet	Roberts, 1990
<i>Pinus ellioti</i>	inhibition	Barnes, 1972
<i>Pinus ponderosa</i>	inhibition	Miller et <u>al.</u> , 1969
<i>Pinus rigida</i>	inhibition	Barnes, 1972
<i>Pinus strobus</i>	inhibition	Barnes, 1972, Yang et <u>al.</u> , 1983
<i>Pinus taeda</i>	inhibition	Barnes, 1972
<i>Picea abies</i>	inhibition	Keller et Hasler, 1987
<i>pinus sylvestri</i>	pas d'effet	Barnes, 1972
<i>Picea rubrens</i>	pas d'effet	Taylor et <u>al.</u> , 1986

Tableau 8

Effet de l'ozone sur la biomasse et la hauteur.

Espèces	Concentration et durée de fumigation (jour)	B	H	Références
<i>Acer saccharinum</i>	0,2 (60) * 0,3 (109) **	-64 ^b	-73 ^b	Jensen, 1973
<i>Fraxinus americana</i>	0,15 (28) * 0,3 (109) **	-17 ^b	-8	Kress et Skelly, 1982 Jensen, 1973
<i>Fraxinus pennsylvania</i>	0,15 (28) * 0,3 (109) **	-33	-35	Kress et Skelly, 1982 Jensen, 1973
<i>Liriodendron tulipifera</i>	0,15 (28) * 0,3 (109) **	18	0	Kress et Skelly, 1982 Jensen, 1973
<i>Picea glauca</i>	0,25 (74) **		-7	Janen et Masters, 1975
<i>Pinus ellioti</i>	0,08 (112)*	-21 ^b		Chevone et al., 1984
<i>Pinus rigida</i>	0,15 (28)*	-24 ^b		Kress et Skelly, 1982
<i>Pinus taeda</i>	0,15 (28)*	-28 ^b		Kress et Skelly, 1982
<i>Prunus serotina</i>	0,4 (9) **		-28 ^b	McClenahan, 1979
<i>Quercus rubra</i>	0,04 (63) *	3		Reich et al., 1986
<i>Robinia pseudocacia</i>	0,05 (297) **		-18	Duchell et al., 1982

* : concentrations d'O₃ utilisées pour vérifier leurs effets sur la biomasse (en ppm).

** concentrations d'O₃ utilisées pour vérifier leurs effets sur la hauteur (en ppm).

b : différence significative par rapport au contrôle (à 0,05).

B : % de variation de la biomasse.

H : % de variation dans la croissance de la hauteur.

CONCLUSION

À la suite de ce travail, il appert que les fumigations des sauvageons de 5 à 7 ans à des concentrations d'ozone répétées dans le temps n'ont montré aucun effet significatif sur les paramètres photosynthétiques mesurés. Ces paramètres sont l'emmagasinage de l'énergie photosynthétique et l'amplitude d'oxygène normalisée obtenus à l'aide de la spectroscopie photoacoustique et les indices de vitalité mesurés à 685 et à 735 nm, l'indice d'adaptation au stress et le rapport de la fluorescence chlorophyllienne qui est un indicateur de la teneur en chlorophylle dans un échantillon, mesurés avec la spectrofluorimétrie. Une baisse graduelle a été observée dans le cas du signal d'oxygène normalisé et des indices de vitalité au cours de nos expériences aussi bien pour les plantes traitées à l'ozone que pour celles qui ont servi de contrôle. Cette diminution est due au phénomène de déshydratation des feuilles qui a pu modifier la structure interne des feuilles affectant ainsi légèrement l'activité photosynthétique de tous les groupes de sauvageons. Ainsi, les résultats photoacoustique et de fluorescence appuient l'hypothèse pour dire que la photosynthèse des sauvageons d'érable n'a pas été affectée par les concentrations d'ozone utilisées après une fumigation de 140 heures. Alors, des plantes d'érable à sucre âgées de 5 à 7 ans se sont avérées résistantes à l'action de l'ozone seule.

Nos résultats sur les semis ont montré que les paramètres de l'emmagasinage de l'énergie photosynthétique, l'amplitude d'oxygène normalisée et les indices de vitalité mesurés aux deux longueurs d'onde (685 et 735 nm) ont diminué dans le temps après une exposition à l'ozone de 70 heures. De plus, les résultats du rapport de la fluorescence chlorophyllienne (R_{fd} à 685/ R_{fd} à 735 nm) montrent également une baisse de la teneur en chlorophylle dans les feuilles. Cette diminution dans les paramètres est observée surtout chez les lots traités, mais sans montrer des effets significatifs en comparaison avec le contrôle. Par conséquent, de ces expériences sur les semis, il ressort que l'activité photosynthétique des semis d'érable a été légèrement affectée par l'ozone compte-tenu des pourcentages de diminution chez les paramètres observés dans le cas des plantes traitées par rapport au contrôle. Donc, des plantules de 4 mois se sont montrées plus sensibles aux effets de l'ozone que les sauvageons. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par d'autres expériences réalisées par Charlebois (1992) pour vérifier l'effet de l'ozone à court terme et qui ont montré que les semis se sont avérés plus sensibles à l'ozone après une fumigation à court terme (4 heures) que les sauvageons plus âgés.

De notre étude, nous constatons que la photosynthèse chez des érables à sucre âgés s'est montrée résistante à l'action individuelle de l'ozone après une fumigation à long terme. Les expériences à cours terme ont démontré également la résistance des sauvageons aux effets de l'ozone. Toutefois, il est important de noter que pour des semis de 4 mois, l'activité photosynthétique a été légèrement affectée par ce polluant

gazeux à 0,1 et à 0,5 ppm. Nous concluons alors que l'érable à sucre peut être classée comme une espèce tolérante aux effets de l'ozone surtout à un âge plus avancé puisque les sauvageons se sont montrés plus résistants que les semis.

Donc, il apparaît peu probable que l'ozone à lui seul puisse expliquer le dépérissement des érablières survenu ces dernières années. Cependant, ces résultats ne disent pas que ce polluant photooxydant peut être exclu des causes soupçonnées dans le déclin des forêts, mais nous pensons que l'ozone peut jouer un rôle dans ce dépérissement en agissant en combinaison avec d'autres facteurs de stress tels que d'autres polluants gazeux, les effets climatiques, environnementales et nutritionnels.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Adams, R.M. 1989. Estimated economic consequences of ozone on agriculture: Some evidence from the U.S. ,869-879. Atmospheric ozone research and its policy implications. Schneider, T., S.D.T. Lee, G.J.R. Wolters et L.D. Grant (Eds.). Elsevier, Amsterdam.
- Adams, R.M., S.A. Hamilton et B.A. McCari. 1985. An assessment of the economic effects of ozone on U.S. agriculture. JAPCA., 35, 938-943.
- Adams, M.J. 1982. Photoacoustic spectroscopy. Prog. Analyt. Atom. Spectrosc., 5, 153-204.
- Angele, R.P. et H.S. Sandhu. 1989. Urban and rural ozone concentrations in Alberta, Canada. Atm. Environ., 23, 215-221.
- Anonyme. 1986. Évaluation des connaissances sur le transport à distance des polluants atmosphériques et sur les dépôts acides. Partie 4: Effets terrestres, 62p.
- Ashmore, M., N. Bell et J. Rutter. 1985. The role of ozone in forest damage in west Germany. Ambio., 14, 81-87.
- Baker, N.R. et M. Brandbury. 1981. Possible applications of chlorophyll fluorescence techniques for studying photosynthesis in vivo. London.

- Plants and the daylight spectrum. Smith, H. (Ed.), Academic press, 355-373.
- Barnes, R. 1972. Effects of chronic exposure to ozone on soluble sugar and ascorbic acid contents of pine seedlings. *Can. J. Bot.*, 50, 215-219.
- Bell, A.G. 1880. Upon the production of sound by radiant energy. *Am. J. Sci.*, 20, 305-311.
- Bernier, B. et M. Brazeau. 1986. Dépérissement de l'érablière au Québec: rôle de la pollution atmosphérique. Journée d'information sur l'acériculture M.A.P.A.Q., ISBN-2-550-1614-4, 105-117.
- Bolhar, H.R., S.P. Long, N.R. Baker, G. Öquist, U. Schreiber et E.G. Lerner. 1989. Chlorophyll fluorescence as a probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: A review of current instrumentation. *Functional ecology*, 3, 497-514.
- Bordeleau, C. 1986. Dépérissement des érablières: ampleur des dommages dans les Appalaches, 21-36. Dépérissement des érablières. Journée d'information sur l'acériculture.
- Briantais, J. M., C. Vernott, G.H. Krause et E. Weis. 1986. Chlorophyll a fluorescence of higher plants: Chloroplasts and leaves. 539-583. Light emission by plants and bacteria. Govindjee, J. Ames et D.C. Fok. (Eds.), 619p.

- Bults, G., B.A. Horwitz, S. Malkin et D. Cahen. 1981. Frequency- dependent photoacoustic signals from leaves and their relation to photosynthesis. FEBS Lett., 129, 44-46.
- Bults, G., B.A. Horwitz, S. Malkin et D. Cahen. 1982. Photoacoustic measurements of photosynthetic activities in whole leaves. Photochemistry and gaz exchange. Biochim. Biophys. Acta, 679, 452-465.
- Buschmann, C. et H. Prehn. 1986. Photosynthetic parameters as measured via non-radiative de-excitation. Biological control photosynthesis, ISBN., 83-91.
- Buschmann, C., H. Prehn et H.K. Lichtenthaler. 1984. Photoacoustic spectroscopy (PAS) and its application in photosynthesis research. Photosynt. Res., 5, 29-46.
- Cahen, D., G. Bults, H. Garty et S. Malkin. 1980. Photoacoustic in life sciences. J. Biochim. Biophys. Methods, 3, 293-310.
- Cahen, D., S. Malkin et E.I. Lerner. 1978. Photoacoustic spectroscopy of chloroplast membranes. Listening to photosynthesis. FEBS Lett., 91, 339-342.
- Carignan, M. 1989. La télédétection spatiale. Nouvel outil de cartographie synthèse. MER. Service de l'inventaire forestier.
- Carrier, L. 1986. Le point sur le dépérissement des forêts du Québec. Service de la recherche appliquée. MER, 29.

- Chappelka, A.H. et B.I. Chevone. 1992. Tree responses to ozone, 271-325. Surface level ozone exposures and their effects on vegetation. Lefhon, E.s., (Ed.), 366p. Lewis Publishers, Inc. Chelsea.
- Chappelle, E.W., D.L. Williams, R.F. Nelson et J.E. McMurtrey. 1989. Lasers may help in remote assessment of vegetation. Laser Focus World, 123-128.
- Charland, M. 1989. Mesure de l'activité photosynthétique chez les plantes supérieures par la spectroscopie photoacoustique. Mémoire de maîtrise, UQTR, 111p.
- Charland, M. 1992. Mesure de l'activité des photosystèmes I et II in vivo en spectroscopie photoacoustique: effets des variations de l'environnement lumineux sur l'activité photosynthétique. Thèse de doctorat, UQTR.
- Chevone, B.I., Y.S. Yang, W.E. Winner, I. S. Cotter et S.J. Long. 1984. A rainfall simulator for laboratory use in acidic precipitation studies. JAPCA, 34, 355-359.
- Ciesla, W.M. 1989. Aerial photos for assessment of forest decline. A multinational overview. J. Forestry, 87, 37-40.
- Colbeck, I. 1988. Photochemical ozone pollution in Britain. Sci. Prog. Oxf., 72, 207-226.

- D'Ambrosio, N., K. Szabo et H.K. Lichtenthaler. 1992. Increase of the chlorophyll fluorescence ratio F690/F735 during the autumnal chlorophyll breakdown. *Radiat. Environ. Biophys.*, 31, 51-62.
- Darrall, N.M. 1989. The effect of air pollutants on physiological processes in plants. *Plant Cell Environ.*, 12, 1-30.
- Des Granges, J.L., Y. Mauffette et G. Gagnon. 1987. Sugar maple forest decline and implications for forest insects and birds. *Trans. 52nd N.A. Wildl. Nat. Res. Conf.*, 677-689.
- Dessureault, M. 1986. Le dépérissement des forêts: un problème international, 11-19. Dépérissement des érablières. Journée d'information sur l'acériculture. Conseil des productions végétales du Québec.
- Dessureault, M. 1985. Le dépérissement des arbres: natures, causes et mécanismes. Symposium sur le dépérissement de l'érable. *Phytoprotection*, 66, 71-81.
- Ducharme, D. 1979. Mise au point d'un spectromètre photoacoustique à simple faisceau. Mémoire de maîtrise. Université Laval, 89 pages.
- Ducharme, D., A.Tessier et R.M. Leblanc. 1979. Design and characteristics of a cell for photoacoustic spectroscopy of condensed matter. *Rev. Sci. Instrum.*, 50, 1461-1462.

- Duchelle, S.F., J. Skelly et B.I. Chevone. 1982. Oxidant effects on forest tree seedling growth in the Appalachian mountains. *Water Air and Soil Pollut.*, 18, 363-373.
- Fortier, R. 1988. Pour les premiers colons, la forêt québécoise était une menace. Aujourd'hui, c'est une richesse que l'ont veut aménager. *Les Diplômés*, 11-13.
- Gagnon, G. 1987. Recherches sur le dépérissement des érablières au Québec: Aperçu de nos travaux. *MER*. 27p.
- Gagnon, G. et G. Roy. 1989. État du dépérissement des forêts au Québec. *MER. Chimiste*, 4, 3p.
- Gagnon, G., G. Roy et L. Blais. 1990. Évolution de l'incidence et de la sévérité du dépérissement des érablières selon les types de végétation, 21-27, in: *Le dépérissement des érablières: causes et solutions possibles*. C.R.B.F., Fac. For. Geom., Univ. Laval, Québec. Camiré, C., W. Hendershot et D. Lachance (Eds.).
- Gagnon, G., G. Roy, C. Gravel et J. Gagné. 1986. États des recherches sur le dépérissement. *MER*, 47-85. *Dépérissement des érablières. Journée d'information sur l'acériculture*. C.P.V.Q.

- Gagnon, G. 1988. Le dépérissement ne cesse de s'accroître. On doit fournir aux arbres les moyens de résister aux précipitations acides. La terre de chez nous, 47p.
- Garrec, J.P. et C. Rose. 1988. Utilisation d'un bioindicateur végétal pour la mesure de l'ozone en montagne. Pollution atmosphérique, 271-276.
- Garrec, J.P., C. Rose et L. LeMaout. 1988. Tests physiologiques pour le diagnostic précoce du dépérissement forestier: Possibilités d'application en symptomatologie, 1-8.
- Gernott, R. et U. Schreiber. 1986. Practical applications of fluorometric methods to algae and higher plant research. 587-619. Light emission by plants and bacteria. Govindjee, J. Ames et D.C. Fork. (Eds.), 619p.
- Gorelik, G. 1946. Method for studying the time of energy exchange between the various degrees of freedom of gaseous molecules. Dokl. Akad. Nauk. S.S.S.R., 54, 779-783.
- Griffin, H.D. 1965. Maple dieback in Ontario. Forestry Chronicle, 295-300.
- Hak, R., H.K. Lichtenthaler et U. Rinderle. 1990. Decrease of chlorophyll fluorescence ratio F695/F730 during greening and development of leaves. Radiat. Environ. Biophys., 29, 329-336.
- Harshbarger, W.R. et M.G. Robin. 1973. The optoacoustic effect: revival of an old technique for molecular spectroscopy. Acc. Chem. Res., 6, 329-334.

- Heath, R.L. 1987. The biochemistry of ozone attack on the plasma membrane of plant cells. Phytochemical effect of environmental compounds. Saunders, J.A., L.K. Channing et E.E. Conn (Eds.), 29-53.
- Heath, R.L., P.E. Frederick et P.E. Chimilis. 1982. Ozone inhibition of photosynthesis in *Chlorella sorokiniana*. Plant Physiol., 69, 229-233.
- Heck, W.W., O.C. Taylor, R. Adams, G. Bingham, J. Miller, E. Preston et L. Weinstein. 1982. Assessment of crop loss from ozone. JAPCA, 32, 353-361.
- Heck, W.W., R.M. Adams, A.S. Heagle, H.E. Heggestad, R.J. Kohut, L.W. Kress, J.O. Rawlings et O.C. Taylor. 1983. A reassessment of crop loss from ozone. Models suggest that ozone substantially reduces the yields of several crops and that the economic effect of these yield reductions may be important. Environ. Sci. Technol., 17, 572-581.
- Heck, W.W., W.W. Cure, J.O. Rawlings, L.J. Zaragoza, A.S. Heagle, H.E. Heggestad, R.J. Kohut, L.W. Kress et P.J. Temple. 1984. Assessing impacts of ozone on agricultural crops: I. Overview. JAPCA, 34, 729-735.
- Heggestad, H.E. 1969. Consideration of air quality standards for vegetation with respect to ozone. JAPCA, 19, 424-426.

- Hendershot, W et A.R.C. Jones. 1989. Maple decline in Québec: A - discussion of possible causes and the use of fertilizers to limit damage. *The Forestry Chronicle*, 280-287.
- Hibben, C.R. 1969 a. The distinction between injury to tree leaves by ozone and mesophyll-feeding leafhoppers. *Forest science*, 15, 155-157.
- Hibben, C.R. 1969 b. Ozone toxicity to sugar maple. *Phytopathology*, 59, 1423-1428.
- Hill, A.C. et N. Littelefield. 1969. Ozone. Effect on apparent photosynthesis, rate of transpiration and stomatal closure in plants. *Environ. Sci. Techn.*, 3, 52-56.
- Houston, D., D. Allen et D. Lachance. 1990. Aménagement de l'érablière: guide de protection de la santé des arbres. Forêts Canada, 58 p.
- Houston, D.R. 1981. Stress triggered tree diseases. The diebacks and declines. USDA. Forest Service NE-INF-41-81, 36p.
- Hov, O. 1984. Ozone in the troposphere: High level pollution. *Ambio.*, 13, 73-79.
- Inoue, Y., A. Watanabe et K. Shibata. 1979. Transient variation of photoacoustic signal from leaves accompanying photosynthesis. *FEBS Lett.*, 101, 321-323.

- Jensen, K.F. 1973. Response of nine forest tree species to chronic ozone fumigation. *Plant Disease Reporter*, 57, 914-917.
- Jensen, K.F. et R.G. Masters. 1975. Growth of six woody species fumigated with ozone. *Plant Dis. Rep.*, 59, 760-762.
- Kanstad, S.O., D. Cahen et S. Malkin. 1983. Simultaneous detection of photosynthetic energy storage and oxygen evolution in leaves by photothermal radiometry and photoacoustic. *Biochim. Biophys. Acta*, 722, 182-189.
- Kautsky, H. et A. Hirsh. 1931. Neue versuche zur kohlenstoff assimilation, naturwissenschaften, 19, 964. in: The role of chlorophyll fluorescence in the detection of stress conditions in plants. Lichtenthaler, H.K. et U.R. Rinderle, *Anal. Chem.*, 19, 29-85.
- Kautsky, H. et U. Frank. 1943. Chlorophyll fluoreszenz und kohlen säureassimilation. XI. Die chlorophyll-fluoreszenz von ulva lactuca und ihre abhangigkeit von narkotica, sauerstoff-und kohlendioxyd, *Biochem. Z.* 315, 176. in: The role of chlorophyll fluorescence in the detection of stress conditions in plants. Lichtenthaler, H.K. et U.R. Rinderle, *Anal. Chem.*, 19, 29-85.
- Keller, T. et R. Hasler. 1987. Some effects of long-term ozone fumigations on norway spruce. I. Gas exchange and stomatal response. *Trees*, 1, 129-133.

- Krause, G.H. et E. Weis. 1988. The photosynthetic apparatus and chlorophyll fluorescence. An introduction. Applications of chlorophyll fluorescence. Lichtenthaler, H.K. (Ed.), 3-11.
- Krause, G.H. et E. Weis. 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The basics. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 42, 313-349.
- Krause, G.H. et B. Prinz. 1989. Current knowledge of ozone on vegetation/ Forest effects and emerging issues , 45-55. Atmospheric ozone research and its policy implications. Schneider, T., S.D.T. Lee, G.J. Wolteres et L.D. Grant (Eds.). Elsevier, Amsterdam.
- Krause, G.H. et E. Weis. 1984. Chlorophyll fluorescence as a tool in plant physiology. II. Interpretation of fluorescence signals. *Photosynth. Res.*, 5, 139-157.
- Kress, L.W. et J.R. Skelly. 1982. Response of several eastern forest tree species to chronic doses of ozone and nitrogen dioxide. *Plant Dis.*, 66, 1149-1152.
- Krupa, S.V. et M. Nosal. 1989. Effects of ozone on agricultural crops. 229-238. Atmospheric ozone research and its policy implications. Schneider, T., S.D.T. Lee, G.J.R. Wolters et L.D. Grant (Eds.). Elsevier, Amsterdam.
- Krupa, S.V. et W.J. Manning. 1988. Atmospheric ozone: Formation and effects on vegetation. *Environ. Pollution*, 50, 101-137.

- Lachance, D. 1985. Répartition géographique et intensité du dépérissement de l'érable à sucre dans les érablières au Québec. *Phytoprotection*, 66, 83-90. Symposium: Dépérissement de l'érable.
- Larsen, R.I. et W.W. Heck. 1984. An air quality data analysis system for interrelating effects , standards and needed source reductions: Part 8. An effective mean O₃ crop reduction. Mathematical model. *JAPCA*, 34, 1023-1034.
- Lasser-Ross, N. , S. Malkin et D. Cahen. 1980. Photoacoustic detection of photosynthetic activities in isolated broken chloroplasts. *Biochim. Biophys. Acta*, 593, 330-341.
- Lee, E.H. 1991. Plant resistance mechanisms to air pollutants: Rhythms in ascorbic acid production during growth under ozone stress. *Chronobiol. Int.*, 8, 93-102.
- Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophyll fluorescence signatures of leaves during the automnal chlorophyll breakdown. *J. Plant Physiol.*, 131, 101-110.

- Lichtenthaler, H.K. 1988. In vivo chlorophyll fluorescence as a tool for stress detection in plants. Application of chlorophyll fluorescence. Lichtenthaler, H.K. (Ed.), 129-142.
- Lichtenthaler, H.K. 1990. Application of chlorophyll fluorescence in stress physiology and remote sensing. Application of remote sensing in agriculture. Steven, M. et J.A. Clark (Eds.), London: Butterworths Scientific, 287-305.
- Lichtenthaler, H.K. et U. Rinderle. 1988. The role of the chlorophyll fluorescence in the detection of stress conditions in plants. CRC Critical Reviews. Anal. Chem., 19, 529-585.
- Lichtenthaler, H.K., C. Buschmann, U. Rinderle et G. Schmuck. 1986. Application of chlorophyll fluorescence in ecophysiology. Radiat. Environ. Biophys., 25, 297-308.
- Lichtenthaler, H.K., R. Hack et U. Rinderle. 1990. The chlorophyll fluorescence ratio F690/F730 in leaves of different chlorophyll content. Photosynt. Res., 25, 295-298.
- Lichtenthaler, H.K. 1986. Laser-induced chlorophyll fluorescence of living plants. Proceedings of IGARSS' Symposium, Zürich. Ref. ESA SP-254.

- Malkin, S. 1986. Photoacoustic probing of energy storage and gas exchange in the photosynthesis of leaves. *J. Chem. Soc.*, 82, 2233-2235.
- Malkin, S. 1987. Fast photoacoustic transients from dark-adapted leaves: oxygen evolution and uptake pulses during photosynthetic induction- a phenomenology record. *Planta*, 171, 65-72.
- Malkin, S., N. Lasser-Ross, G. Bults et D. Cahen. 1981. Photoacoustic spectroscopy in photosynthesis. *Photosynthesis III. Structure and molecular organisation of the photosynthesis apparatus.* Akoyunoglou, G. (Ed.).
- Manion, P.D. 1981. Decline disease of complex biotic and abiotic origin. 325-339. *Tree disease concepts.* Manion, P.D. (Ed.).
- Manion, P.D. 1985 a. Decline as a phenomenon in forests: pathological and ecological considerations. *Forests, Wetland and Agricultural Ecosystems*, 9p.
- Manion, P.D. 1985 b. Factors contributing to the decline of forests. A conceptuel overview. *Acid Rain Foundation Inc.: Symposium: Effects of air pollutants on forest ecosystem.* Minneapolis, Minnesota, 63-73.
- McClenahan, J.R. 1979. Effects of ethylene diurea and ozone on the growth of tree seedlings. *Plant Dis. Rep.*, 63, 320-323.

- McIlveen, W.D., S.T. Rutherford et S.N. Linzon. 1986. A historical perspective of sugar maple within Ontario and outside of Ontario. Air resources Branch Phytotoxicology section. ARBNo:-141-86.- Phyto.
- McLaughlin, D.L., S.N. Linzon, D.E. Dimma et W.D. McIlveen. 1985. Sugar maple decline in Ontario. Report ARB-144-85-Phyto., 18p.
- McLaughlin, S.B. 1985. Effects of air pollution on forests. JAPCA, 35, 512-534.
- Mercadier, M.E. 1881. Notes on radiophony. C.R. Hebd. Services Acad. Sci., 92, 409-417.
- Miller, P. R., J.R. Parmeter, B. Flick et C.W. Martinez. 1969. Ozone dosage response of ponderosa pine seedlings. J. Air Pollut. Control Association, 19, 435-538.
- Ouimet, R. 1990. Revitalization of declining sugar maple forests by fertilization. IUFRO, Montréal, MER, 3p.
- Papageorgious, G. 1975. Chlorophyll fluorescence: An intrinsic probe of photosynthesis. Bioenergetics of photosynthesis. Govindjee et J.Amesz., (Eds.).
- Parker, J.G. 1973. Optical absorption in glass: investigation using an acoustic technique. Appl. Opt., 12, 2974-2977.

- Pell, E.J. 1987. Ozone toxicity- is there more than mechanism of action?, 229-240. Effects of atmospheric pollutants on forests. Wetlands and agricultural ecosystems. Hutchinson, T.C. et K.M. Meema (Eds.). Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Pfund, A.H. 1939. Discussion-atmospheric contamination. Science, 90, 326-333.
- Pormeleanu, R. 1944. Observations sur quelques maladies non parasitaires des arbres dans le Québec. Can. J. Res., 22, 171-189.
- Portis, A.R. 1982. Introduction to photosynthesis: Carbon assimilation and plant productivity. 1-12. Photosynthesis. Development, carbon metabolism and plant productivity. Govindjee (Ed.) 2, 580p.
- Poulet, P., D. Cahen et S. Malkin. 1983. Photoacoustic detection of photosynthetic oxygen evolution from leaves. Quantitative analysis by phase and amplitude measurements. Biochim. Biophys. Acta, 724, 433-446.
- Poulet, P., J. Chambron et R. Unterreiner. 1980. Quantitative photoacoustic spectroscopy applied to thermally thick samples. J. Appl. Phys., 51, 1738-1742.

- Prinz, B. 1987. Ozone effects on vegetation. In Proc. Advanced Research Workshop on tropospheric ozone . Isaksen, I.S.A., (Ed.), D Reidel Publishing, Dordecht, Holland, 425.
- Prinz, B., G.H.M. Krause et H. Stratmann. 1982. Wald-schaden in der bundesrepublik deutschland. LIS-Berichte Nr. 28, Landesanstalt fur immissionsschutz des Landes Nordr-heim, Westfalen, Ess. Fed- Rep. Germany.
- Pye, J.M. 1988. Impact of ozone on the growth and yield of trees: A review. J. Environ. Qual., 7, 347-360.
- Reich, P.B. 1987. Quantifying plant response to ozone: An unifying theory. Tree physiology, 3, 63-91.
- Reich, P.B., A.W. Schoettle et R.G. Amundson. 1986. Effects of O₃ and acidic rain on photosynthesis and growth in sugar maple and northern red oak seedlings. Environ. pollution, 40, 1-15.
- Reich, P.B., A.W. Schoettle, R.G. Amundson et J. Troiano. 1983. Effects of low concentrations of O₃ and simulated acidic rain on net photosynthesis in sugar maple. Dans: Proceedings Second New York, Symposium on Atmospheric Depositions. Albany, New York.
- Reich, P.B. et R.G. Amundson. 1985. Ambient levels of ozone reduce net photosynthesis in tree and crop species. Science, 230, 566-570.

- Renaud, J.P. et G.B. Allard. 1987. Programme de recherche. MAPAQ.
- Roberts, B. R. 1990. Physiological response of yellow-poplar seedlings to simulated acid rain, ozone fumigation, and drought. *For. Ecol. Manage.*, 31, 215-224.
- Röntgen, W.C. 1881. On tones produced by the intermittent irradiation of a gas. *Philos. Mag.*, 11, 308-311.
- Ronen, R., O. Canaani, J. Garty, D. Cahen, S. Malkin et M. Galun. 1985. Photosynthetic parameters in *Ramalina duriaei*, in vivo, studied by photoacoustics. Dans: *Lichen Physiology and Cell Biology*, 9-22.
- Rosencwaig, A. et A. Gersho. 1976. Theory of the photoacoustic effect with solids. *J. Appl. Phys.*, 47, 64-69.
- Roy, G., L. Robitaille et G. Gagnon. 1985. Étude des principaux facteurs du dépérissement des érablières au Québec. *Phytoprotection*, 66, 91-99. Symposium: Dépérissement de l'érable.
- Runckele, V.C. et B.I. Chevone. 1992. Crop response to ozone, 189-270. Surface level ozone exposures and their effects on vegetation. Lefhon, E.S., (Ed.), 366p. Lewis Publishers, Inc., Chelsea.
- Schmuck, G. et H.K. Lichtenthaler. 1986. Application of laser-induced chlorophyll a fluorescence in the forest decline research. *Proceedings of IGASS' 86 Symposium, Zürich*, 8-11.

- Schreiber, U. et W. Vidaver. 1976. The I-D fluorescence transient. An indicator of rapid energy distribution changes. *Photosyn. Biochim. Biophys. Acta*, 440, 205-214.
- Sinclair, W.A. 1964. Decline of hardwoods: possible causes. *Proc. Inter. Shade Tree Conference*, 42, 17-32.
- Skärby, L. et G. Sellden. 1984. The effects of ozone on crops and forests. *Ambio.*, 13, 68-72.
- Smith, W.H. 1991. Air pollution and forest damage. *Chemical and Engineering News*, 69, 30-43.
- Strasser, J. 1974. A new device for simultaneous measurement of oxygen concentration, absorption and fluorescence changes in photosynthetic systems, *Experientia*, 30, 320.
- Strasser, R.J. 1986. Laser-induced fluorescence of plants and its application in environmental research. *Proc. Int. Geosci. Remote Sensing Symposium (IGRASS')*, 3, ESA publications division.
- Strasser, R.J., B. Schwarz et J.B. Bucher. 1987. Simultane messung der chlorophyll-fluoreszenz-kinetik bei verschiedenen wellenlängen als rasches verfahren zur frühdiagnose von immissionbelastungen an waldbäumen: ozonwirkungen auf buchen und pappeln. *Eur. J. Forest Pathol.*, 17. 149, in Lichtenthaler, H.K. et U. Rinderle. 1988. The role of the chlorophyll fluorescence in the detection of stress conditions in plants. *CRC Critical Reviews. Anal. Chem.*, 19, 529-585.

- Sun, S., J.L. Havlin et G.M. Paulsen. 1989. Evaluation of nutrient deficiencies in wheat seedlings by chlorophyll fluorescence. *J. Plant Nutrition*, 12, 769-782.
- Taylor, G.E. et R.J. Norby. 1984. The significance of elevated levels of ozone on natural ecosystems of north america. 152-175. Evaluation of the scientific basis for ozone oxidants standards. Lee, S.D. (Ed.). An APCA International Specialty Conference. Houston, Texas.
- Taylor, G.E., R.J. Norby, S.B. McLaughlin, A.H. Johnson et R.S. Turner. 1986. Carbon dioxide assimilation and growth of red spruce (*Picea rubens* Sarg.) seedlings in response to ozone, precipitation chemistry, and soil type. *Oecologia*, 70, 163-171.
- Tingey, D., W.E. Hogsett et E.H. Lee. 1989. Analysis of crop loss for alternative ozone exposure indices. 218-227. Effects on vegetation and ecosystems. Verhoeff, K. et W. Heck. Atmospheric ozone research and its policy implications. Schneider, T., S.D.T. Lee, G.J.R. Wolters et L.D. Grant (Eds.). Elsevier, Amsterdam.
- Tonneijck, A.E.G. 1989. Evaluation of ozone effects on vegetation in Netherlands. Atmospheric ozone research and its policy implications. Schneider, T., S.D.T. Lee, G.J.R. Wolters et L.D. Grant (Eds.).
- Treshow, M. 1970. Ozone damage to plants. *Environ. Pollut.*, 1, 155-161.

- Tyndall, J. 1881. Action of an intermittent beam of radiant heat upon gaseous matter. Proc. R. Soc. London, 31, 307-311.
- Ultrich, B. 1981. Forstwiss Centrabl. in: Le dépérissement des forêts en Europe. 1988. La recherche, 19, 1542-1552.
- Viengerov, M.L. 1938. A method for gas analysis, based on the Tyndall-Roentgen optical-acoustical phenomenon. Dokl. Akad. Nauk SSSR, 19, 687-688.
- Yang, Y.S., J.M. Skelly, B.I. Chevone et J.B. Birch. 1983. Effects of long-term ozone exposure on photosynthesis and dark respiration of eastern white pine. Environ. Sci. Tech., 17, 371-373.

ANNEXE I

L'équation conduisant à la détermination de A_{O_2} est basée sur le schéma de la figure 16. Ainsi, suivant le schéma, nous obtenons les relations suivantes:

$$\vec{T}^* = \vec{T} + \overrightarrow{EEP} \quad (40)$$

$$\vec{T} = \vec{T}^* - \overrightarrow{EEP} \quad (41)$$

D'un point de vue vectoriel, on a:

$$\vec{R} = \vec{T} + \vec{O} \quad (42)$$

D'où:

$$\vec{O} = \vec{R} - \vec{T} \quad (43)$$

En remplaçant \vec{T} par sa relation, on obtient:

$$\vec{O} = \vec{R} - (\vec{T}^* - \overrightarrow{EEP}) \quad (44)$$

Par la suite, en appliquant la loi des triangles rectangles, l'amplitude du vecteur \vec{O} est donnée par l'équation qui suit:

$$|\vec{O}| = A_{O_2} = \sqrt{O_{(0^\circ)}^2 + O_{(90^\circ)}^2} \quad (45)$$

Pour chacun des côtés, l'équation (44) s'applique, d'où:

$$O_{(90^\circ)} = R_{(90^\circ)} - (T_{(90^\circ)}^* - EEP_{(90^\circ)}) \quad (46)$$

$$O_{(90^\circ)} = Q_{m(90^\circ)} - (0 - 0) \quad (47)$$

$$O_{(90^\circ)} = Q_m(90^\circ) \quad (48)$$

$$O_{(0^\circ)} = R_{(0^\circ)} - (T_{(0^\circ)}^* - EEP_{(0^\circ)}) \quad (49)$$

$$O_{(0^\circ)} = Q_m(0^\circ) - (Q_{ms}(0^\circ) - EEP_{(0^\circ)}) \quad (50)$$

En mettant les équations (48) et (50), on obtient:

$$|\vec{O}| = A_{O_2} = \sqrt{O_{(0^\circ)}^2 + O_{(90^\circ)}^2} \quad (51)$$

À haute fréquence de modulation, on détermine EEP selon la relation:

$$EEP = \frac{Q_{ms} - Q_m}{Q_{ms}} \times 100 \quad (52)$$

D'où:

$$\frac{EEP}{100} = \frac{Q_{ms} - Q_m}{Q_{ms}} \quad (53)$$

$$\frac{EEP}{100} \times Q_{ms} = Q_{ms} - Q_m \quad (54)$$

$$Q_m = Q_{ms} - \frac{EEP}{100} \times Q_{ms} \quad (55)$$

$$Q_m = Q_{ms} \left(1 - \frac{EEP}{100} \right) \quad (56)$$

Rappelons que EEP à haute fréquence de modulation est semblable à celui à basse fréquence, donc on peut utiliser l'équation (56) dans

l'équation (51), nous obtenons ainsi la relation (57) permettant de calculer l'amplitude d'oxygène.

$$A_{O_2} = \sqrt{(Q_{m(90^\circ)})^2 + \left[Q_{m(0^\circ)} - \left(1 - \left(\frac{EEP}{100} \right) \right) Q_{ms(0^\circ)} \right]^2} \quad (57)$$

ANNEXE II

Résultats du paramètre emmagasinage d'énergie photosynthétique (EEP).

Temps (semaines)	Contrôle		0,1 ppm d'O ₃		0,3 ppm d'O ₃		0,5 ppm d'O ₃	
	moyenne	Écart-type	moyenne	Écart-type	moyenne	Écart-type	moyenne	Écart-type
1	52,43	11,81	35,31	4,89	31,35	5,79	30,44	4,60
2	47,41	8,13	34,99	5,39	32,75	2,90	34,36	2,31
3	34,47	2,10	31,32	2,15	32,41	6,35	34,04	2,85
4	32,74	1,71	31,37	4,76	32,07	1,62	32,40	3,01
5	30,60	2,11	33,01	4,18	34,04	2,83	32,64	2,97
6	32,87	5,57	33,48	2,62	29,97	1,86	31,21	4,05
7	32,54	2,74	32,90	3,80	32,50	2,34	30,90	1,94
8	42,78	3,50	33,34	2,20	31,73	3,70	29,27	2,55
9	32,33	3,98	31,47	2,17	31,93	3,08	29,34	2,52
10	32,87	1,25	31,54	3,09	31,95	1,38	27,32	5,97

ANNEXE II (suite)

Résultats du paramètre amplitude thermique maximale (A_{pt}).

Temps (semaines)	Contrôle		0,1 ppm d'O ₃		0,3 ppm d'O ₃		0,5 ppm d'O ₃	
	moyenne	Écart-type	moyenne	Écart-type	moyenne	Écart-type	moyenne	Écart-type
1	1,41x10 ⁻³	3,68x10 ⁻⁴	1,42x10 ⁻³	1,95x10 ⁻⁴	1,81x10 ⁻³	4,13x10 ⁻⁴	1,66x10 ⁻³	2,52x10 ⁻⁴
2	8,01x10 ⁻⁴	1,31x10 ⁻⁴	2,37x10 ⁻³	1,37x10 ⁻³	1,22x10 ⁻³	2,55x10 ⁻⁴	1,57x10 ⁻³	1,91x10 ⁻⁴
3	4,21x10 ⁻³	2,96x10 ⁻³	2,85x10 ⁻³	1,63x10 ⁻³	1,98x10 ⁻³	3,94x10 ⁻⁴	2,08x10 ⁻³	1,63x10 ⁻⁴
4	3,52x10 ⁻³	1,70x10 ⁻³	1,60x10 ⁻³	3,82x10 ⁻⁴	1,94x10 ⁻³	4,60x10 ⁻⁴	1,79x10 ⁻³	3,74x10 ⁻⁴
5	3,59x10 ⁻³	1,81x10 ⁻³	5,84x10 ⁻³	2,02x10 ⁻³	4,88x10 ⁻³	1,97x10 ⁻³	2,72x10 ⁻³	1,18x10 ⁻³
6	5,18x10 ⁻³	1,32x10 ⁻³	7,05x10 ⁻³	1,32x10 ⁻³	7,13x10 ⁻³	1,14x10 ⁻³	4,58x10 ⁻³	1,48x10 ⁻³
7	6,57x10 ⁻³	7,20x10 ⁻⁴	5,69x10 ⁻³	8,24x10 ⁻⁴	4,97x10 ⁻³	1,19x10 ⁻³	6,56x10 ⁻³	3,71x10 ⁻³
8	9,77x10 ⁻³	8,24x10 ⁻³	5,55x10 ⁻³	8,61x10 ⁻⁴	5,47x10 ⁻³	9,63x10 ⁻⁴	6,45x10 ⁻³	4,45x10 ⁻³
9	5,87x10 ⁻³	7,62x10 ⁻⁴	9,19x10 ⁻³	8,41x10 ⁻³	4,50x10 ⁻³	8,26x10 ⁻⁴	4,92x10 ⁻³	1,38x10 ⁻³
10	5,56x10 ⁻³	7,15x10 ⁻⁴	4,94x10 ⁻³	8,48x10 ⁻⁴	5,33x10 ⁻³	6,14x10 ⁻⁴	4,81x10 ⁻³	1,13x10 ⁻³

ANNEXE II (suite)

Résultats obtenus avec le paramètre amplitude d'oxygène (A_{O_2}).

Temps (semaines)	Contrôle		0,1 ppm d'O ₃		0,3 ppm d'O ₃		0,5 ppm d'O ₃	
	moyenne	Écart-type	moyenne	Écart-type	moyenne	Écart-type	moyenne	Écart-type
1	6,14x10 ⁻⁴	1,92x10 ⁻⁴	9,68x10 ⁻⁴	3,12x10 ⁻⁴	5,72x10 ⁻⁴	3,56x10 ⁻⁴	4,12x10 ⁻⁴	2,60x10 ⁻⁴
2	3,61x10 ⁻⁴	1,45x10 ⁻⁴	1,31x10 ⁻³	5,12x10 ⁻⁴	4,30x10 ⁻⁴	1,94x10 ⁻⁴	7,75x10 ⁻⁴	2,68x10 ⁻⁴
3	9,44x10 ⁻⁴	5,92x10 ⁻⁴	4,97x10 ⁻⁴	1,79x10 ⁻⁴	6,90x10 ⁻⁴	3,21x10 ⁻⁴	7,85x10 ⁻⁴	2,95x10 ⁻⁴
4	8,85x10 ⁻⁴	6,07x10 ⁻⁴	6,22x10 ⁻⁴	3,00x10 ⁻⁴	5,48x10 ⁻⁴	3,24x10 ⁻⁴	5,12x10 ⁻⁴	2,25x10 ⁻⁴
5	5,81x10 ⁻⁴	5,46x10 ⁻⁴	2,10x10 ⁻³	1,10x10 ⁻³	1,79x10 ⁻³	1,07x10 ⁻³	7,01x10 ⁻⁴	4,03x10 ⁻⁴
6	1,31x10 ⁻³	3,54x10 ⁻⁴	2,40x10 ⁻³	1,34x10 ⁻³	1,06x10 ⁻³	6,06x10 ⁻⁴	1,14x10 ⁻³	5,59x10 ⁻⁴
7	1,72x10 ⁻³	6,60x10 ⁻⁴	2,08x10 ⁻³	9,28x10 ⁻⁴	1,42x10 ⁻³	6,85x10 ⁻⁴	1,39x10 ⁻³	9,13x10 ⁻⁴
8	4,44x10 ⁻³	6,41x10 ⁻³	2,59x10 ⁻³	4,48x10 ⁻⁴	1,60x10 ⁻³	6,94x10 ⁻⁴	1,14x10 ⁻³	5,85x10 ⁻⁴
9	1,46x10 ⁻³	9,08x10 ⁻⁴	3,41x10 ⁻³	3,32x10 ⁻³	7,74x10 ⁻⁴	4,86x10 ⁻⁴	7,72x10 ⁻⁴	5,28x10 ⁻⁴
10	9,27x10 ⁻⁴	3,78x10 ⁻⁴	1,53x10 ⁻³	7,16x10 ⁻⁴	8,60x10 ⁻⁴	3,34x10 ⁻⁴	5,79x10 ⁻⁴	2,38x10 ⁻⁴

ANNEXE II (suite)

Résultats du paramètre amplitude d'oxygène normalisée (A_{O_2}/A_{pt}).

Temps (semaines)	Contrôle		0,1 ppm d'O ₃		0,3 ppm d'O ₃		0,5 ppm d'O ₃	
	moyenne	Écart-type	moyenne	Écart-type	moyenne	Écart-type	moyenne	Écart-type
1	0,44	0,08	0,71	0,30	0,30	0,16	0,26	0,17
2	0,47	0,24	0,60	0,18	0,37	0,20	0,49	0,17
3	0,30	0,22	0,20	0,09	0,35	0,16	0,38	0,15
4	0,25	0,13	0,42	0,26	0,28	0,12	0,29	0,15
5	0,14	0,09	0,39	0,19	0,36	0,21	0,25	0,11
6	0,26	0,10	0,35	0,19	0,14	0,17	0,23	0,08
7	0,25	0,08	0,38	0,18	0,30	0,16	0,22	0,17
8	0,32	0,23	0,48	0,12	0,29	0,12	0,19	0,07
9	0,25	0,17	0,37	0,12	0,18	0,14	0,15	0,07
10	0,17	0,08	0,34	0,20	0,16	0,07	0,12	0,04

ANNEXE III

Résultats obtenus avec le paramètre indice de vitalité (R_{fd}) mesuré à 685 nm.

Temps (semaines)	Contrôle		0,1 ppm d'O ₃		0,3 ppm d'O ₃		0,5 ppm d'O ₃	
	moyenne	Écart-type	moyenne	Écart-type	moyenne	Écart-type	moyenne	Écart-type
1	3,17	4,97x10 ⁻¹	3,31	9,17x10 ⁻¹	2,45	6,35x10 ⁻¹	2,87	4,93x10 ⁻¹
2	2,64	4,50x10 ⁻¹	2,71	4,78x10 ⁻¹	2,63	4,33x10 ⁻¹	2,47	3,12x10 ⁻¹
3	2,75	4,29x10 ⁻¹	2,54	4,46x10 ⁻¹	2,47	3,78x10 ⁻¹	2,57	2,49x10 ⁻¹
4	2,31	5,26x10 ⁻¹	2,36	8,50x10 ⁻¹	2,34	3,23x10 ⁻¹	2,22	5,31x10 ⁻¹
5	1,92	5,80x10 ⁻¹	2,45	1,81x10 ⁻¹	1,72	6,96x10 ⁻¹	1,75	6,16x10 ⁻¹
6	1,93	6,48x10 ⁻¹	1,76	4,14x10 ⁻¹	1,76	4,14x10 ⁻¹	1,53	2,65x10 ⁻¹
7	1,58	3,32x10 ⁻¹	2,38	1,73x10 ⁻¹	1,24	2,21x10 ⁻¹	1,67	3,68x10 ⁻¹
8	2,38	1,73x10 ⁻¹	2,12	8,74x10 ⁻¹	1,62	3,45x10 ⁻¹	1,35	3,72x10 ⁻¹
9	1,66	4,18x10 ⁻¹	1,47	6,68x10 ⁻¹	1,87	5,48x10 ⁻¹	1,56	6,08x10 ⁻¹
10	1,76	3,20x10 ⁻¹	1,51	3,95x10 ⁻¹	1,62	6,65x10 ⁻¹	1,76	4,81x10 ⁻¹

ANNEXE III (suite)

Résultats obtenus avec le paramètre indice de vitalité (R_{fd}) mesuré à 735 nm.

Temps (semaines)	Contrôle		0,1 ppm d'O ₃		0,3 ppm d'O ₃		0,5 ppm d'O ₃	
	moyenne	Écart-type	moyenne	Écart-type	moyenne	Écart-type	moyenne	Écart-type
1	1,52	3,42x10 ⁻¹	1,75	4,48x10 ⁻¹	1,60	2,63x10 ⁻¹	1,69	3,95x10 ⁻¹
2	1,49	5,69x10 ⁻¹	1,63	4,43x10 ⁻¹	1,60	3,77x10 ⁻¹	1,67	1,76x10 ⁻¹
3	1,59	3,63x10 ⁻¹	1,61	4,55x10 ⁻¹	1,36	2,87x10 ⁻¹	1,70	4,85x10 ⁻¹
4	1,54	3,54x10 ⁻¹	1,48	2,82x10 ⁻¹	1,43	5,39x10 ⁻¹	1,48	5,06x10 ⁻¹
5	1,10	1,82x10 ⁻¹	1,11	2,53x10 ⁻¹	1,02	7,54x10 ⁻¹	1,08	4,23x10 ⁻¹
6	0,95	2,74x10 ⁻¹	1,05	2,78x10 ⁻¹	1,05	2,78x10 ⁻¹	0,89	1,94x10 ⁻¹
7	0,88	3,43x10 ⁻¹	0,98	3,45x10 ⁻¹	0,79	1,98x10 ⁻¹	0,75	2,47x10 ⁻¹
8	0,98	3,45x10 ⁻¹	1,08	4,31x10 ⁻¹	0,92	1,77x10 ⁻¹	0,95	3,04x10 ⁻¹
9	1,00	3,24x10 ⁻¹	0,74	1,75x10 ⁻¹	0,88	2,96x10 ⁻¹	0,68	2,24x10 ⁻¹
10	0,78	2,48x10 ⁻¹	0,65	3,47x10 ⁻¹	0,73	1,64x10 ⁻¹	0,95	2,27x10 ⁻¹

ANNEXE III (suite)

Résultats du paramètre indice d'adaptation au stress (A_p).

Temps (semaines)	Contrôle		0,1 ppm d'O ₃		0,3 ppm d'O ₃		0,5 ppm d'O ₃	
	moyenne	Écart-type	moyenne	Écart-type	moyenne	Écart-type	moyenne	Écart-type
1	2,84x10 ⁻¹	1,86x10 ⁻¹	3,34x10 ⁻¹	1,61x10 ⁻¹	3,26x10 ⁻¹	2,06x10 ⁻¹	2,96x10 ⁻¹	1,27x10 ⁻¹
2	2,94x10 ⁻¹	2,11x10 ⁻¹	2,81x10 ⁻¹	1,37x10 ⁻¹	2,76x10 ⁻¹	1,07x10 ⁻¹	2,23x10 ⁻¹	8,81x10 ⁻²
3	2,94x10 ⁻¹	1,56x10 ⁻¹	2,57x10 ⁻¹	1,40x10 ⁻¹	3,13x10 ⁻¹	9,98x10 ⁻²	2,40x10 ⁻¹	1,44x10 ⁻¹
4	2,16x10 ⁻¹	1,46x10 ⁻¹	3,24x10 ⁻¹	1,05x10 ⁻¹	2,60x10 ⁻¹	1,89x10 ⁻¹	2,31x10 ⁻¹	8,10x10 ⁻²
5	2,48x10 ⁻¹	1,94x10 ⁻¹	2,73x10 ⁻¹	1,96x10 ⁻¹	3,61x10 ⁻¹	2,05x10 ⁻¹	2,30x10 ⁻¹	1,49x10 ⁻¹
6	3,03x10 ⁻¹	1,75x10 ⁻¹	2,46x10 ⁻¹	1,20x10 ⁻¹	2,46x10 ⁻¹	1,20x10 ⁻¹	2,38x10 ⁻¹	1,32x10 ⁻¹
7	2,57x10 ⁻¹	1,57x10 ⁻¹	3,32x10 ⁻¹	2,11x10 ⁻¹	1,88x10 ⁻¹	1,20x10 ⁻¹	3,51x10 ⁻¹	1,25x10 ⁻¹
8	3,32x10 ⁻¹	2,11x10 ⁻¹	3,05x10 ⁻¹	1,55x10 ⁻¹	2,49x10 ⁻¹	1,47x10 ⁻¹	1,58x10 ⁻¹	1,29x10 ⁻¹
9	2,27x10 ⁻¹	1,75x10 ⁻¹	3,06x10 ⁻¹	2,66x10 ⁻¹	3,13x10 ⁻¹	1,91x10 ⁻¹	3,02x10 ⁻¹	1,92x10 ⁻¹
10	3,14x10 ⁻¹	1,65x10 ⁻¹	3,29x10 ⁻¹	1,65x10 ⁻¹	3,04x10 ⁻¹	1,48x10 ⁻¹	2,74x10 ⁻¹	1,48x10 ⁻¹

ANNEXE III (suite)

Résultats du rapport de la fluorescence chlorophyllienne (F_{685}/F_{735}).

Temps (semaines)	Contrôle		0,1 ppm d'O ₃		0,3 ppm d'O ₃		0,5 ppm d'O ₃	
	moyenne	Écart-type	moyenne	Écart-type	moyenne	Écart-type	moyenne	Écart-type
1	1,72	1,50x10 ⁻¹	1,10	1,92x10 ⁻¹	1,22	3,60x10 ⁻¹	1,33	2,67x10 ⁻¹
2	1,88	1,72x10 ⁻¹	1,33	1,26x10 ⁻¹	1,13	5,90x10 ⁻¹	1,28	1,59x10 ⁻¹
3	1,19	9,04x10 ⁻²	1,27	9,99x10 ⁻²	1,17	1,65x10 ⁻¹	1,23	1,43x10 ⁻¹
4	1,24	1,51x10 ⁻¹	1,25	1,05x10 ⁻¹	1,19	2,01x10 ⁻¹	1,26	3,04x10 ⁻¹
5	1,40	2,66x10 ⁻¹	1,39	4,31x10 ⁻¹	1,24	1,87x10 ⁻¹	1,28	9,68x10 ⁻²
6	1,19	2,59x10 ⁻¹	1,36	1,33x10 ⁻¹	1,36	1,33x10 ⁻¹	1,53	5,55x10 ⁻¹
7	1,44	3,23x10 ⁻¹	1,53	5,40x10 ⁻¹	1,42	4,84x10 ⁻¹	1,47	3,93x10 ⁻¹
8	1,53	5,40x10 ⁻¹	1,18	2,40x10 ⁻¹	1,35	1,42x10 ⁻¹	1,91	1,29x10 ⁻¹
9	1,31	2,65x10 ⁻¹	1,39	1,93x10 ⁻¹	1,31	2,02x10 ⁻¹	1,39	1,15x10 ⁻¹
10	1,22	2,94x10 ⁻¹	1,24	2,41x10 ⁻¹	1,41	2,84x10 ⁻¹	1,45	1,84x10 ⁻¹

ANNEXE IV

Résultats du paramètre EEP pour les semis.

Temps (semaines)	Contrôle		0,1 ppm d'O ₃		0,5 ppm d'O ₃	
	moyenne	Écart-type	moyenne	Écart-type	moyenne	Écart-type
1	27,45	5,74	28,23	7,23	21,18	5,70
2	30,63	3,09	29,08	5,27	24,53	5,00
3	27,74	3,92	25,06	4,58	21,82	7,88
4	23,06	7,18	25,06	8,95	20,31	6,97
5	25,68	5,61	17,77	7,19	17,79	7,46

ANNEXE IV (suite)

Résultats du paramètre A_{pt} pour les semis.

Temps (semaines)	Contrôle		0,1 ppm d'O ₃		0,5 ppm d'O ₃	
	moyenne	Écart-type	moyenne	Écart-type	moyenne	Écart-type
1	$2,74 \times 10^{-3}$	$1,56 \times 10^{-3}$	$5,06 \times 10^{-3}$	$9,91 \times 10^{-4}$	$4,59 \times 10^{-3}$	$1,67 \times 10^{-3}$
2	$3,03 \times 10^{-3}$	$1,90 \times 10^{-3}$	$2,95 \times 10^{-3}$	$2,52 \times 10^{-3}$	$5,01 \times 10^{-3}$	$2,27 \times 10^{-3}$
3	$5,26 \times 10^{-3}$	$1,41 \times 10^{-3}$	$5,87 \times 10^{-3}$	$1,63 \times 10^{-3}$	$5,07 \times 10^{-3}$	$1,35 \times 10^{-3}$
4	$4,50 \times 10^{-3}$	$2,23 \times 10^{-3}$	$1,54 \times 10^{-3}$	$2,27 \times 10^{-4}$	$1,64 \times 10^{-3}$	$3,84 \times 10^{-4}$
5	$3,96 \times 10^{-3}$	$2,18 \times 10^{-3}$	$1,41 \times 10^{-3}$	$2,56 \times 10^{-4}$	$1,63 \times 10^{-3}$	$2,92 \times 10^{-4}$

ANNEXE IV (suite)

Résultats du paramètre A_{O_2} pour les semis

Temps (semaines)	Contrôle		0,1 ppm d'O ₃		0,5 ppm d'O ₃	
	moyenne	Écart-type	moyenne	Écart-type	moyenne	Écart-type
1	$1,18 \times 10^{-3}$	$7,74 \times 10^{-4}$	$2,10 \times 10^{-3}$	$6,64 \times 10^{-4}$	$1,16 \times 10^{-3}$	$4,05 \times 10^{-4}$
2	$1,35 \times 10^{-3}$	$5,58 \times 10^{-4}$	$1,02 \times 10^{-3}$	$1,70 \times 10^{-1}$	$1,31 \times 10^{-3}$	$7,52 \times 10^{-4}$
3	$2,43 \times 10^{-3}$	$1,31 \times 10^{-3}$	$1,24 \times 10^{-3}$	$5,75 \times 10^{-4}$	$1,12 \times 10^{-3}$	$6,62 \times 10^{-4}$
4	$1,49 \times 10^{-3}$	$1,03 \times 10^{-3}$	$4,49 \times 10^{-4}$	$1,44 \times 10^{-4}$	$2,21 \times 10^{-4}$	$1,28 \times 10^{-4}$
5	$1,38 \times 10^{-3}$	$9,65 \times 10^{-4}$	$2,93 \times 10^{-4}$	$1,05 \times 10^{-4}$	$1,56 \times 10^{-4}$	$6,22 \times 10^{-5}$

ANNEXE IV (suite)

Résultats du paramètre A_{O_2}/A_{pt} pour les semis.

Temps (semaines)	Contrôle		0,1 ppm d'O ₃		0,5 ppm d'O ₃	
	moyenne	Écart-type	moyenne	Écart-type	moyenne	Écart-type
1	0,45	0,21	0,41	0,24	0,26	0,07
2	0,50	0,15	0,54	0,48	0,25	0,11
3	0,47	0,21	0,21	0,15	0,23	0,16
4	0,33	0,13	0,29	0,09	0,13	0,07
5	0,32	0,08	0,20	0,07	0,09	0,03

ANNEXE V

Résultats du paramètre R_{fd} mesuré à 685 nm pour les semis.

Temps (semaines)	Contrôle		0,1 ppm d'O ₃		0,5 ppm d'O ₃	
	moyenne	Écart-type	moyenne	Écart-type	moyenne	Écart-type
1	0,70	4,02x10 ⁻¹	0,48	3,08x10 ⁻¹	0,43	2,45x10 ⁻¹
2	0,50	2,53x10 ⁻¹	0,50	3,06x10 ⁻¹	0,79	4,50x10 ⁻¹
3	0,61	1,55x10 ⁻¹	0,42	2,18x10 ⁻¹	0,57	2,50x10 ⁻¹
4	0,48	2,52x10 ⁻¹	0,71	3,85x10 ⁻¹	0,71	3,85x10 ⁻¹
5	0,65	4,74x10 ⁻¹	0,44	3,17x10 ⁻¹	0,54	5,31x10 ⁻¹

ANNEXE V (suite)

Résultats du paramètre R_{fd} mesuré à 735 nm pour les semis.

Temps (semaines)	Contrôle		0,1 ppm d'O ₃		0,5 ppm d'O ₃	
	moyenne	Écart-type	moyenne	Écart-type	moyenne	Écart-type
1	0,37	3,00x10 ⁻¹	0,23	1,21x10 ⁻¹	0,29	1,05x10 ⁻¹
2	0,36	2,26x10 ⁻¹	0,27	1,35x10 ⁻¹	0,41	2,01x10 ⁻¹
3	0,35	1,95x10 ⁻¹	0,24	1,37x10 ⁻¹	0,27	1,31x10 ⁻¹
4	0,30	1,76x10 ⁻¹	0,27	1,61x10 ⁻¹	0,25	1,61x10 ⁻¹
5	0,25	1,36x10 ⁻¹	0,18	1,34x10 ⁻¹	0,22	2,88x10 ⁻¹

ANNEXE V (suite)

Résultats du paramètre A_p pour les semis.

Temps (semaines)	Contrôle		0,1 ppm d'O ₃		0,5 ppm d'O ₃	
	moyenne	Écart-type	moyenne	Écart-type	moyenne	Écart-type
1	$1,77 \times 10^{-1}$	$1,23 \times 10^{-1}$	$1,45 \times 10^{-1}$	$9,72 \times 10^{-1}$	$1,27 \times 10^{-1}$	$1,33 \times 10^{-1}$
2	$8,45 \times 10^{-2}$	$9,52 \times 10^{-2}$	$1,31 \times 10^{-1}$	$9,31 \times 10^{-2}$	$1,93 \times 10^{-1}$	$9,18 \times 10^{-2}$
3	$1,59 \times 10^{-1}$	$1,09 \times 10^{-1}$	$1,19 \times 10^{-1}$	$5,55 \times 10^{-2}$	$1,76 \times 10^{-1}$	$6,18 \times 10^{-2}$
4	$1,20 \times 10^{-1}$	$5,90 \times 10^{-1}$	$2,31 \times 10^{-1}$	$1,31 \times 10^{-1}$	$2,31 \times 10^{-1}$	$1,31 \times 10^{-1}$
5	$2,04 \times 10^{-1}$	$1,53 \times 10^{-1}$	$1,62 \times 10^{-1}$	$8,70 \times 10^{-2}$	$1,41 \times 10^{-1}$	$9,08 \times 10^{-2}$

ANNEXE V (suite)

Résultats du paramètre F₆₈₅/F₇₃₅ pour les semis.

Temps (semaines)	Contrôle		0,1 ppm d'O ₃		0,5 ppm d'O ₃	
	moyenne	Écart-type	moyenne	Écart-type	moyenne	Écart-type
1	1,32	3,40x10 ⁻¹	1,69	7,24x10 ⁻¹	1,38	3,62x10 ⁻¹
2	1,49	1,88x10 ⁻²	1,27	1,72x10 ⁻²	1,48	2,75x10 ⁻¹
3	1,86	8,39x10 ⁻¹	1,13	2,94x10 ⁻²	1,31	2,33x10 ⁻¹
4	1,58	2,61x10 ⁻¹	1,62	4,46x10 ⁻¹	1,62	4,46x10 ⁻¹
5	1,30	3,68x10 ⁻¹	2,22	2,23x10 ⁻²	2,05	2,91x10 ⁻¹