



HAL
open science

Biopollatm: Biosphère et pollution atmosphérique en zone rurale et périurbaine. Rapport de fin de contrat

Pierre Cellier, Pierre P. Dizengremel, Jean-François Castell, Eric Lamaud, Benjamin Loubet, Erwan Personne, Dominique Serça, Olivier Bethenod, Jean-Philippe Biolley, Michel Chartier, et al.

► To cite this version:

Pierre Cellier, Pierre P. Dizengremel, Jean-François Castell, Eric Lamaud, Benjamin Loubet, et al.. Biopollatm: Biosphère et pollution atmosphérique en zone rurale et périurbaine. Rapport de fin de contrat. [Contrat] INRA; ADEME. 2004, pp.130. hal-02828623

HAL Id: hal-02828623

<https://hal.inrae.fr/hal-02828623>

Submitted on 7 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Organisme bénéficiaire : Institut National de la Recherche Agronomique (INRA)

Unité ayant effectué les travaux :

UMR INRA / INAPG Environnement et Grandes Cultures
BP1
78850 Thiverval-Grignon

Responsable des travaux : Pierre CELLIER
Téléphone : 01 30 81 55 32
Email : cellier@grignon.inra.fr

Date de publication : septembre 2004

Programme PREDIT GP07 PRIMEQUAL 2

Rapport de fin de contrat

Titre du projet

**BIOPOLLATM : Biosphère et pollution atmosphérique
en zone rurale et périurbaine**

***BIOPOLLATM : Biosphere and atmospheric pollution
in rural and suburban areas***

N° de contrat ADEME : 02 62 030
Date du contrat : 10 septembre 2002
Durée du contrat : 24 mois

Confidentialité : non

Ces travaux font-ils suite à d'autres travaux financés dans le cadre des programmes PRIMEQUAL/PREDIT ou PRIMEQUAL2/PREDIT ? : non

Résumé

Le projet **BIOPOLLATM** vise à mieux comprendre les interactions biosphère-atmosphère dans le domaine de la pollution atmosphérique. On cherche (1) à comprendre les modalités d'impacts de plusieurs polluants sur le fonctionnement des plantes et (2) le rôle de la biosphère comme source et puits dans la pollution atmosphérique locale et régionale. Des caractéristiques fortes de **BIOPOLLATM** sont (1) une intégration entre des approches biologiques et physiques, à l'interface des sciences de la vie, de la terre et de l'atmosphère, (2) l'objet d'étude privilégié qui sont les écosystèmes cultivés en zones périurbaines et (3) l'intégration d'échelle, allant de la plante à la région selon les thématiques scientifiques et appliquées concernées.

Ce rapport fait un point sur l'avancement du projet après 2 ans de travail (*le projet se poursuit dans le cadre de PRIMEQUAL notamment, avec un financement du MEDD/DPPR*). Il se compose de trois parties :

- un rappel sur les objectifs et l'organisation du projet
- un rapport plus détaillé sur les travaux conduits, organisé en trois grands domaines :
 - o impact de l'ozone sur le fonctionnement des couverts végétaux à différentes échelles et selon différentes approches, allant de la modification des enzymes impliquées dans la photosynthèse jusqu'à la modélisation de l'impact sur le rendement des cultures ;
 - o échanges de polluants entre un couvert végétal et l'atmosphère, organisé autour du développement et la validation d'un modèle à résistance à deux couches, destiné d'une part à être utilisé par les écophysiologistes/agronomes pour estimer les quantités de polluant absorbées par la végétation et, d'autre part, à être utilisé comme interface surface-atmosphère dans des modèles de chimie atmosphérique ;
 - o une présentation des bases de données créées et des dispositifs expérimentaux créés dans le cadre de ce projet pour l'étude des échanges de polluants entre les surfaces naturelles et l'atmosphère. Ces acquis perdureront au delà du projet et pourront être utilisés par nos équipes et d'autres pour la poursuite de ce type de travaux.
- Une synthèse des résultats acquis et une présentation des perspectives de ce travail à échéance de deux ans.

Mots-clés

pollution atmosphérique, impact biologique, impact agronomique, modèle SVAT, modèle Chimie Transport, ozone, ammoniac

Summary

The **BIOPOLLATM** project aims at better understanding biosphere-atmosphere interactions for atmospheric pollutants. The project will focus on (i) how pollutants affect plant functioning and (ii) how the biosphere acts as a source or a sink for better understanding pollution at local and regional scale. **BIOPOLLATM** main characteristics are (i) a strong integration of biological, chemical and physical approaches in the frame of life and atmospheric sciences, (ii) the natural systems which we will focus on : agricultural system in rural and suburban areas, and (iii) integration from the plant scale to the regional scale.

This progress report gives the main actions performed in the last two years (the project will be continuing in the next 2 years with funding from MEDD/DPPR). The report is organized in three sections:

- a short description of the project and its organization
- a detailed report on the work conducted according to three main parts:
 - o study of the impact of ozone on vegetation canopies at different scales and according to different approaches, from the modification of enzymes linked to photosynthesis until the modelling of ozone impact on crop production
 - o exchange of pollutants between a canopy and the atmosphere, by developing and validating a soil-vegetation-atmosphere model based on resistance concept. This model is aimed at being used by both ecophysiologicals and agronomists to estimate pollutant absorption by plants and by atmospheric modellers as a surface-atmosphere interface in atmospheric chemistry models
 - o databases and new experimental set up developed during this project are presented. These will be used by the groups involved in **BIOPOLLATM** but also other research groups in the next years.
- A synthesis on results and a presentation of the short term prospects of this project

Keywords

Atmospheric pollution, biological impact, agronomical impact, SVAT model, Chemistry-Transport model, ozone, ammonia

Table des matières

1	RAPPELS SUR LES OBJECTIFS ET L'ORGANISATION DU PROJET	11
1.1	Objectifs du projet	11
1.2	Quels objets d'étude ?	12
1.3	Organisation du projet.....	12
1.4	Déroulement du travail depuis le démarrage du projet	13
2	IMPACTS DE L'OZONE SUR LE FONCTIONNEMENT DES COUVERTS VEGETAUX (MAÏS - BLE - PEUPLIER)	14
2.1	Approche générale.....	14
2.2	Contexte.....	17
2.3	Première partie : Conséquences biologiques de l'ozone sur le métabolisme photosynthétique. Recherche de marqueurs physiologiques et biochimiques.....	21
2.3.1	Effets de l'ozone sur la surface et la biomasse foliaire du maïs.....	21
2.3.2	Effets de l'ozone sur la photosynthèse foliaire et la conductance stomatique des plantes de type C3 et C4.....	23
2.3.3	Effets de l'ozone sur les pigments associés aux processus photosynthétiques et impacts sur les enzymes-clés de la photosynthèse : Rubisco et PEPc	31
2.3.4	Conclusions	45
2.4	Deuxième partie : Ozone et conductance stomatique : approches nécessaires pour le passage de la feuille au couvert	47
2.4.1	Un modèle simple d'estimation du flux d'ozone absorbé par la végétation	47
2.4.2	Déterminisme de la conductance stomatique dans un modèle de masse (H ₂ O, CO ₂) et d'énergie	51
2.4.3	Conclusions : ozone et conductance stomatique	57
2.5	Troisième partie : Modélisation des effets de l'ozone sur la production des cultures	58
2.5.1	Constitution de bases de données expérimentales en plein champ	58
2.5.2	Expérimentations.....	58
2.5.3	Introduction d'un module de contrainte ozone dans un modèle de culture.....	63
2.5.4	Conclusions	65
2.6	Références citées dans la partie 2.....	65
3	ECHANGES DE POLLUANTS VEGETATION-ATMOSPHERE	68
3.1	Contexte.....	68

3.2	Une approche générique des échanges de polluants entre une surface naturelle et l'atmosphère	70
3.2.1	Description du modèle SURFATM – cas de l'ammoniac.....	71
3.2.2	Résultats – validation de SurfAtm.....	73
3.2.3	Adaptation de SurfAtm au cas de l'ozone.....	76
3.2.4	Paramétrisation du dépôt non stomatique d'ozone	77
3.2.5	Développements en cours pour une utilisation « élargie » du modèle SurfAtm..	84
3.3	Conclusions et perspectives	85
3.4	Références citées dans la partie 3.....	87
4	ACQUIS ET INFRASTRUCTURES COMMUNS AU PROJET	89
4.1	Base de données de l'expérimentation commune du projet BIOPOLLATM à Grignon, juin-octobre 2002.	89
4.1.1	Objectifs	89
4.1.2	Matériels et méthodes.....	89
4.1.3	Quelques résultats	95
4.1.4	Discussion	97
4.1.5	Bilan provisoire	99
4.1.6	Base de données	99
4.2	Nouveaux dispositifs expérimentaux mis en place dans le cadre de BIOPOLLATM 100	
4.2.1	Développement de chambres de fumigation pour l'analyse et la paramétrisation des échanges de polluants entre une végétation et l'atmosphère	100
4.2.2	Dispositif de Rampe de Fumigation.....	101
4.2.3	Mise en place d'un site expérimental de suivi des flux de polluants entre une culture agricole et l'atmosphère	103
4.3	Références citées dans la partie 4.....	105
5	SYNTHESE – PERSPECTIVES	107
6	PUBLICATIONS.....	110
7	ANNEXE 1 : DESCRIPTIONS DES EXPERIMENTATIONS	114
7.1	Expérimentation en plein champ – Grignon 2002 :	114
7.2	Expérimentation en chambre à ciel ouvert - Pau 2002 :.....	114
7.2.1	Dispositif expérimental :	115
7.2.2	Suivi des symptômes et mesures de surface et biomasse foliaire	115
7.2.3	Analyse pigmentaire et mesures biochimiques	116
7.3	Expérimentation en Chambre de fumigation - Grignon 2002-2004	118
7.3.1	Dispositif expérimental :	118
7.3.2	Fumigation des plants :	118

7.3.3	Suivi de la sénescence foliaire.....	119
7.3.4	Mesure des paramètres photosynthétiques	120
7.4	Expérimentations en Chambre de fumigation – Nancy 2003-2004	120
7.4.1	Dispositif expérimental	121
7.4.2	Mesures d'échanges gazeux	123
7.4.3	Estimation du flux d'ozone	123
7.4.4	Mesures biochimiques.....	124
8	ANNEXE 2 : DESCRIPTION DU MODELE DE CONTINUUM SOL-PLANTE-ATMOSPHERE	126
8.1	Echange de masse et d'énergie.....	126
8.2	Transfert d'eau dans le système sol-plante	126
8.3	Modèle de photosynthèse et de conductance stomatique.....	127

Note de synthèse

*NB : le présent rapport est le rapport final du projet **BIOPOLLATM** pour l'ADEME qui l'a financé à partir de la fin 2002. Nous rappelons toutefois que la deuxième moitié du financement de ce projet vient seulement d'être acquise à la fin 2004 (convention signée en juillet 2004). Le projet devrait donc se poursuivre jusqu'à la moitié de l'année 2006.*

Objectifs et organisation du projet

Le projet **BIOPOLLATM** vise à étudier l'**interface entre les zones rurales et les zones urbaines** du point de vue de la **pollution atmosphérique** et de son effet sur les écosystèmes et, réciproquement, des influences positives et négatives de la biosphère sur la pollution atmosphérique. Ce projet comprend des approches à différentes échelles, de l'échelle locale à l'échelle régionale.

Les objectifs de ce projet interdisciplinaire peuvent se résumer comme suit :

- **Obj1** : Estimer l'impact de la pollution atmosphérique sur le fonctionnement des couverts végétaux, de la modification du métabolisme jusqu'à l'intégration à l'échelle du couvert végétal dans des modèles de fonctionnement de couverts végétaux.
- **Obj2** : comprendre et quantifier les principales voies d'absorption et d'émission de polluants gazeux entre le sol et atmosphère ou la végétation et l'atmosphère.
- **Obj3** : analyser le transport et le dépôt de polluants depuis des zones-sources (urbaines ou agricoles) jusqu'aux écosystèmes récepteurs à courte distance.
- **Obj4** : Analyser l'importance de l'organisation de l'espace en zone périurbaine sur l'impact de la pollution atmosphérique sur les écosystèmes et pour la modélisation de la pollution atmosphérique.

Végétation : On se focalisera sur deux types d'espèces de végétation principales :

- cultures agricoles : le **blé** et le **maïs** ; le choix de ces deux espèces permet de couvrir les deux grands types métaboliques des plantes (C₃ comme le blé et C₄ comme le maïs) et le calendrier cultural : culture de printemps (maïs) et d'hiver (blé) ;
- pour les couverts forestiers : une espèce ligneuse, le **peuplier**.

Polluant : Dans le cadre du présent projet, nous avons choisi de nous focaliser principalement sur 2 polluants gazeux : l'**ammoniac** et l'**ozone**.

- L'**ammoniac** est un composé d'origine agricole qui a des impacts sur les écosystèmes naturels et forestiers. Son dépôt est fortement influencé par les facteurs de l'environnement et le métabolisme de la plante.
- L'**ozone** est un gaz dont l'effet est observable à court terme car il perturbe fortement le métabolisme de la plante et ses caractéristiques physico-chimiques (cuticule) en raison de son pouvoir oxydant. L'importance de son impact à l'échelle régionale mérite qu'on lui porte une attention particulière, d'autant plus que les processus qui conduisent à son dépôt, et notamment les relations aux facteurs du milieu, sont encore mal élucidés.

Cinq laboratoires de recherche contribuent aux travaux du projet **BIOPOLLATM**, associant biologistes, écophysiolgistes, agronomes, bioclimatologues, physiciens et chimistes de l'atmosphère.

Laboratoire	Nom court
UMR 1091 INRA / INAPG Environnement et Grandes Cultures	EGC
INRA UR770, Unité de Bioclimatologie	BC
UMR 1137 INRA / Univ. H. Poincaré, Ecologie et Ecophysologie Forestière	EEF
Laboratoire d'Ecologie Moléculaire, Univ. de Pau et des Pays de l'Adour	LEM
Laboratoire d'Aérologie, Université Paul Sabatier	LA

Dans son fonctionnement ce projet est structuré en trois volets dont l'activité est coordonnée par deux animateurs :

- (1) « **Biologie-Ecophysologie** » (P. Dizengremel (EEF) et J-F Castell (EGC))
- (2) « **Echanges végétation-atmosphère** » (E. Lamaud (BC) et B. Loubet (EGC))
- (3) « **Spatialisation** » (D. Serça (LA) et E. Personne (EGC))

Résultats

L'essentiel des résultats acquis à ce jour l'ont été sur les volets (1) Biologie-Ecophysologie et (2) Echanges végétation-atmosphère. Le travail sur le volet (3) n'en est qu'à ses prémices.

Le volet (1) a été largement entamé et certaines de ses actions sont presque achevées. Nous avons pu mettre en évidence l'effet d'une augmentation de la teneur en ozone sur les teneurs en pigments photosynthétiques et les activités de la RubisCO et de la PEPc sur des plantes annuelles de type C3 (blé) ou C4 (maïs) et sur une plante ligneuse (peuplier). Nous avons mis un accent particulier sur l'étude de l'impact de l'ozone sur une plante C4 car ce type de plante avait été très peu étudié auparavant (de plus, le maïs est en phase de végétation active au moment des risques maximaux de pics d'ozone). Les résultats expérimentaux ont permis d'obtenir des estimations quantitatives des effets de l'ozone sur ces différentes plantes-modèles comparables aux données publiées, et de comparer les effets sur les plantes C3 et C4 sur les enzymes à l'origine des processus photosynthétiques (Rubisco et PEPc).

L'étude de l'impact sur la photosynthèse a adopté une démarche analytique, décomposant le processus en différentes variables (J_{max} , V_{cmax} , conductance stomatique, ...) et étudiant l'impact d'une augmentation de la teneur en ozone sur chacune. Cette démarche présente un caractère générique en ceci qu'elle permet de bien identifier à quel niveau le polluant agit et suivant quelles modalités. Elle devrait pouvoir être adaptée à d'autres polluants. De même, l'effort de modélisation de la conductance stomatique et de sa réponse à l'ozone fournit des concepts et outils d'analyse de l'impact. Une partie de ces résultats a pu être intégrée dans un modèle de fonctionnement de culture (CERES) pour expliquer l'impact de l'ozone sur la production d'une culture. Ces différents travaux se sont largement appuyés sur (et ont été permis par) l'utilisation de dispositifs expérimentaux existants (chambres phytotroniques et chambres à ciel ouvert, méthodes d'analyse), mais il faut également souligner que ce projet a conduit à la mise au point de plusieurs dispositifs et méthodes d'étude qui sont des acquis pour l'avenir de ce type de thématique : les chambre et rampe de fumigation. Ces dernières ont permis d'exposer des cultures à des teneurs élevées (mais réalistes) en ozone en conditions agronomiques et microclimatiques réelles, et donc d'obtenir des résultats représentatifs de la pratique agronomique. Il reste maintenant à conforter les résultats obtenus dans ces différentes actions et à les extrapoler à d'autres situations. Nous avons comme objectif à terme d'évaluer les impacts spatialisés de l'ozone sur les cultures, en couplant les modèles développés, dans un premier temps à des données de teneurs en ozone observées ou calculées sur la région parisienne (données AirParif et Prev'Air, à *confirmer*) et dans un

deuxième temps avec un modèle de chimie atmosphérique permettant d'étudier les rétroactions entre les cultures et l'atmosphère sur des scénarios (modèle MésoNH-C).

Concernant le volet (2), le travail s'est organisé autour de l'analyse et la conception de modèles d'échanges classiques utilisant le concept de résistance (ou son inverse, la conductance) pour formaliser, expliquer et quantifier les émissions et dépôts. Notre schéma fédérateur est celui d'un modèle à deux couches, qui permet de séparer les processus se déroulant au niveau du sol de ceux qui se déroulent au niveau de la végétation. Ces schémas sont bien établis car ils se basent sur de nombreux travaux conduits sur les flux de vapeur d'eau et de CO₂. Leur adaptation aux polluants a demandé, d'une part un couplage fort avec un modèle de microclimat en raison de la sensibilité des émissions et dépôts à la température et l'humidité, d'autre part un travail de paramétrisation/modélisation des résistances de surface et du point de compensation. Ce modèle a été validé pour l'ammoniac et son adaptation à l'ozone est en cours. Elle s'appuiera notamment sur un important travail de paramétrisation du dépôt non stomatique en fonction de variables micro-météorologiques. Ce travail est établi sur la base des mesures de flux et variables météorologiques mesurées dans le cadre de **BIOPOLLATM**. pour des couverts agricoles et forestiers. Il a eu pour résultat des formulations qui devraient permettre d'améliorer le calcul des vitesses de dépôt dans les modèles atmosphériques. Ce type de paramétrisation du dépôt non stomatique va maintenant être adapté aux modèles bi-couches. Une autre voie d'amélioration est la prise en compte de réactions chimiques entre les oxydes d'azote et l'ozone au sein du couvert végétal. Ce travail est rendu nécessaire par les implications qu'il a au niveau de la qualité de l'air (équilibre NO/NO₂, teneur en ozone) et de son impact sur les écosystèmes (évaluation du dépôt réel d'ozone, absorption de NO₂ par la végétation). Enfin, nous avons débuté en 2004 la démarche d'intégration des nouveaux schémas de surface dans un modèle de chimie atmosphérique. La première phase consiste à évaluer jusqu'où il est nécessaire d'aller dans une telle opération en comparant un modèle mono-couche (ISBA, interface surface-atmosphère actuellement implantée dans MésoNH-C) à un modèle bi-couche. Cette action de recherche initiera le travail du volet 3 (Spatialisation), qui démarrera réellement dès le début de 2005. Au delà de ce travail de comparaison de modèles, les directions prises seront d'une part la définition de scénarios d'utilisation des sols et de conditions atmosphériques (météo, pollution) et l'utilisation de MésoNH-C comme outil d'intégration. Ce travail sera conduit par un post-doc qui sera recruté au printemps 2005.

En terme d'infrastructures, il faut également souligner que **BIOPOLLATM** a été la base de l'installation de plusieurs sites de mesures continues des dépôts d'ozone. Ces sites actuellement implantés sur cultures (Grignon) et forêt de résineux (Bordeaux) devraient à court terme être complétés par des sites sur prairies (Lusignan) et forêts de feuillus (Nancy ou Fontainebleau) et par des mesures d'émissions ou de teneur en oxydes d'azote, dans le cadre d'autres projets dans le prolongement de **BIOPOLLATM**.

Perspectives de travail à court terme

Les travaux sont donc très largement avancés pour les volets 1 et 2 de **BIOPOLLATM**. De nouveaux aspects et méthodes ont même été initiés par rapport au projet initial, compte tenu de l'évolution de notre réflexion et notre expérience dans ce domaine. C'est le cas de certaines méthodes biochimiques (quantification de l'altération oxydative de la Rubisco), du développement d'une rampe de fumigation qui se substitue aux classiques chambres à ciel ouvert et du développement d'un modèle convivial (SurfAtm). **BIOPOLLATM** a également été à l'origine de la mise en place de sites de mesures de longue durée des flux d'ozone.

Des avancées importantes ont été faites dans la connaissance mutuelle des équipes et des approches très diverses conduites dans ce projet. Le passage entre les différents niveaux

d'approche - d'un modèle de photosynthèse à un modèle de culture pour l'évaluation de l'impact, d'un modèle SVAT aux modèles écophysologiques pour le calcul des quantités d'ozone absorbées - est en cours de réalisation.

Un travail de synthèse et de coordination entre les différentes approches reste toutefois à faire, pour intégrer les différents volets et les différentes approches au sein de chaque volet. La réussite de cette intégration entre approches sera l'un des critères qui permettra de juger du succès de **BIOPOLLATM** au delà de l'ensemble des résultats individuels déjà très conséquent.

Rapport

*Pierre Cellier, Pierre Dizengremel,
Jean-François Castell, Eric Lamaud, Benjamin Loubet, Erwan Personne, Dominique Serça,
Olivier Bethenod, Jean-Philippe Biolley, Michel Chartier, Michael Chelle, Jérôme
Cortinovis, Claire Delon, Mark Irvine, Stéphanie Lebard, Louis Leitao, Didier Le Thiec,
Romain Roche, Andrée Tuzet*

1 Rappels sur les objectifs et l'organisation du projet

Le projet **BIOPOLLATM** vise à étudier l'**interface entre les zones rurales et les zones urbaines** du point de vue de la **pollution atmosphérique** et de son effet sur les écosystèmes et, réciproquement, des influences positives et négatives de la biosphère sur la pollution atmosphérique. Ce projet comprend des approches à différentes échelles, de l'échelle locale à l'échelle régionale. Le domaine des relations entre biosphère et problèmes de pollution atmosphérique a jusqu'ici été peu considéré dans la communauté scientifique française. Ce projet est basé sur une approche des phénomènes à la fois physique (échanges de matière plante – atmosphère, échanges latéraux entre zones urbaines et zones rurales), biologique (impact des polluants sur le métabolisme de la plante), écophysiologique (modélisation du fonctionnement d'une culture sous contrainte "pollution") et chimique (interface végétation atmosphère, formation d'ozone, ...). Cette approche est forcément pluridisciplinaire, incluant à la fois des biologistes, des écophysiologistes, des agronomes, des micrométéorologistes et des spécialistes de la chimie atmosphérique. Ce projet vise à mettre ensemble des efforts de recherche, à créer des synergies et à rendre réellement complémentaires les approches de ces questions par différentes disciplines. Il doit aboutir à l'intégration de modèles permettant d'analyser les interactions biosphère-pollution atmosphérique depuis la source de pollution jusqu'à l'impact sur la plante et l'écosystème aux échelles de temps et d'espace pertinentes.

Pour apporter des éléments de réponse aux questions posées par l'impact de la pollution atmosphérique sur la biosphère et la réciproque, on se propose de développer un programme de recherche selon 3 niveaux sur les mécanismes (1) d'action des polluants sur le fonctionnement de la plante et (2) d'émission et d'absorption des polluants par les plantes. Enfin, il est important de (3) situer ces interactions dans l'espace, de l'échelle locale à l'échelle régionale, en analysant comment les positions relatives des sources et puits dans le paysage naturel peuvent influencer le devenir des polluants et les zones d'impact de la pollution atmosphérique sur la biosphère.

1.1 Objectifs du projet

Les objectifs de ce projet multidisciplinaire peuvent se résumer comme suit :

- **Obj1 : Estimer l'impact de la pollution atmosphérique sur le fonctionnement des couverts végétaux** : pour cela un ensemble cohérent de recherches physiologiques et écophysiologiques seront conduites à différentes échelles, de la **modification du métabolisme** jusqu'à l'**intégration à l'échelle du couvert végétal** dans des modèles de fonctionnement de couverts végétaux.
- **Obj2 : comprendre et quantifier les principales voies d'absorption et d'émission de polluants gazeux** entre le sol et atmosphère ou la végétation et l'atmosphère : ces voies sont multiples et fortement dépendantes du polluant, des conditions microclimatiques, du sol et de la plante. Répondre à cet objectif demande de décomposer les processus et leurs déterminants, et d'intégrer les différents processus élémentaires dans un modèle d'échange à l'échelle de la feuille et du couvert végétal.

- **Obj3** : analyser le transport et le dépôt de polluants depuis des zones-sources (urbaines ou agricoles) jusqu'aux écosystèmes récepteurs à courte distance. Ceci suppose le développement de modèles de dispersion (1-1000 m) couplés à des modèles de dépôt. On s'intéressera également ici à l'influence de zones de transition (arbres, haies, lisières) sur la dispersion et le dépôt.
- **Obj4** : Analyser l'importance de l'organisation de l'espace en zone périurbaine sur l'impact de la pollution atmosphérique sur les écosystèmes et pour la modélisation de la pollution atmosphérique. On passe ici à une échelle supérieure, celle de la petite région ou de la région, et il est alors nécessaire d'utiliser des outils permettant d'intégrer les sources et les puits de divers polluants référencés dans l'espace, la dispersion, le transport et les transformations chimiques dans l'atmosphère (formation de polluants secondaires).

1.2 Quels objets d'étude ?

Nous ne pourrions pas appréhender les écosystèmes naturels et tous les polluants atmosphériques dans toute leur complexité.

Végétation : On se focalisera principalement sur deux types d'espèces de végétations :

- cultures agricoles : le **blé** et le **maïs** ; le choix de ces deux espèces permet de couvrir les deux grands types métaboliques des plantes (C_3 comme le blé et C_4 comme le maïs) et le calendrier cultural : culture de printemps (maïs) et d'hiver (blé) ;
- pour les couverts forestiers : une espèce ligneuse, le **peuplier**, pour l'étude de l'impact de la pollution sur la plante.

Polluant : Dans le cadre du présent projet, compte tenu des informations précédentes et de l'expérience des équipes proposant, nous avons choisi de nous focaliser principalement sur 2 polluants gazeux : l'**ammoniac** et l'**ozone**.

- L'**ammoniac** est un composé d'origine agricole qui a des impacts sur les écosystèmes naturels et forestiers, impacts qui s'expriment suite à une exposition à long terme (on peut étudier les dépôts à long terme aux concentrations ambiantes, sans toxicité pour la plante), de plusieurs mois à plusieurs années. Son dépôt est fortement influencé par les facteurs de l'environnement (microclimat, interaction avec d'autres polluants) et le métabolisme de la plante.
- L'**ozone** est un gaz dont l'effet est observable à court terme car il perturbe fortement le métabolisme de la plante et ses caractéristiques physico-chimiques (cuticule) en raison de son pouvoir oxydant. L'importance de son impact à l'échelle régionale mérite qu'on lui porte une attention particulière, d'autant plus que les processus qui conduisent à son dépôt, et notamment les relations aux facteurs du milieu, sont encore mal élucidés.

1.3 Organisation du projet

Cinq laboratoires de recherche contribuent aux travaux du projet **BIOPOLLATM**, réunissant des compétences de biologistes, écophysiologistes, bioclimatologues, agronomes, physiciens et chimistes de l'atmosphère. Le tableau ci-dessous donne le nom et l'adresse des laboratoires, les chercheurs et ingénieurs concernés, ainsi que les noms courts des laboratoires qui seront employés par la suite dans le texte.

Dans son fonctionnement ce projet est structuré en trois groupes de travail dont l'activité est coordonnée par deux animateurs :

- groupe « **Biologie-Ecophysiologie** » : coordinateurs Pierre Dizengremel (EEF) et Jean-François Castell (EGC)
- groupe « **Echanges végétation-atmosphère** » : coordinateurs Eric Lamaud (BC) et Benjamin Loubet (EGC)
- groupe « **Spatialisation** » : coordinateurs Dominique Serça (LA) et Erwan Personne (EGC)

Laboratoire	Nom court	Adresse	Chercheurs, ingénieurs, doctorants
UMR INRA/INAPG 1091 Environnement et Grandes Cultures	EGC	BP1 78850 Thiverval Grignon	BETHENOD O, CASTELL JF, CELLIER P, CHELLE M, LEBARD S, LOUBET B, PERSONNE E, ROCHE R, TUZET A, ZURFLUH O
INRA UR770, Unité de Bioclimatologie	BC	Domaine de la Grande Ferrade BP81 33883 Villenave d'Ornon	IRVINE M, LAMAUD E
UMR 1137 INRA Université H. Poincaré	EEF	Boulevard des Aiguillettes BP 239 54506 Vandoeuvre-lès-Nancy	DIZENGREMEL P, LE THIEC D JOLIVET Y.
Université de Pau et des Pays de l'Adour	LEM	Laboratoire d'Ecologie Moléculaire – IBEAS BP 1155 64013 Pau Cedex	BIOLLEY JP, LEITAO L
Université Paul Sabatier	LA	Laboratoire d'Aérodynamique - O.M.P, 14, Avenue Edouard Belin, 31400 Toulouse	DELMAS R, CORTINOVIS , ROSSET R, SERCA D, DELON C

1.4 Déroutement du travail depuis le démarrage du projet

Le projet a démarré au début de l'année 2002 (financement de l'ACI Ecologie Quantitative). L'un des enjeux de ce projet inter-disciplinaire était d'arriver à créer dès le début du projet une communauté d'approche et des interactions fortes entre des laboratoires dont les objets de travail étaient proches, mais les méthodes expérimentales ou de modélisation plus ou moins éloignées. Pour cela, les différentes équipes ont cherché à travailler, dans la mesure du possible, sur des cadres conceptuels communs en terme de modélisation. Concernant le volet expérimental du projet, il a été décidé lors des premières réunions, d'une part d'organiser l'expérimentation commune du projet dès la première année, d'autre part que les différentes équipes interviendraient sur les expérimentations des uns et des autres. C'est ainsi que sur le volet biologique du projet des chercheurs de l'INRA Grignon sont intervenus sur des expérimentations à Nancy et Pau, que ceux de Nancy sont venus travailler à Grignon et que ceux de Pau ont analysé des échantillons de plantes prélevés à Grignon. Concernant le volet micrométéorologique, des chercheurs de Bordeaux sont venus travailler à Grignon pendant l'expérimentation commune du projet, et les deux équipes ont travaillé ensemble sur les mêmes jeux de données. Des rencontres de travail sont organisées régulièrement. Le détail des expérimentations conduites à Grignon, Nancy, Pau et Bordeaux depuis 2002 est donné dans les parties 2, 3 et 4, et en Annexe 1.

Les résultats de nos travaux sont présentés dans la suite de ce rapport. Ils s'organisent en deux grandes parties, l'une relative à l'impact de l'ozone sur le fonctionnement des couverts végétaux, l'autre aux échanges de polluants entre un couvert végétal et l'atmosphère. Pour une meilleure articulation entre les différents niveaux d'analyse, nous avons travaillé dans chaque domaine, autour d'un schéma d'analyse commun. Celui-ci est rappelé en début de chaque partie. Dans une troisième partie, nous avons voulu souligner des acquis importants de ce projet, à savoir la constitution de bases de données à partir de nos expérimentations et la mise en place de dispositifs expérimentaux dédiés à l'étude de l'effet de la pollution de l'air sur les couverts végétaux et des émissions et dépôts de polluants sur les couverts végétaux. Ces acquis dépassent le cadre de nos équipes et de ce projet, puisqu'ils constituent des outils de base qui pourront être utilisés par la suite par nos équipes ou d'autres.

2 Impacts de l'ozone sur le fonctionnement des couverts végétaux (Maïs - Blé - Peuplier)

2.1 Approche générale

L'un des objectifs du projet est **d'estimer l'impact de la pollution atmosphérique sur le fonctionnement des couverts végétaux**. Pour cela, un ensemble cohérent de recherches physiologiques ou écophysiologiques a été conduit à différentes échelles, allant des événements cellulaires, (voire moléculaires) impliqués dans la modification des processus jusqu'à l'intégration de ces effets au niveau du couvert végétal au moyen de modèles de cultures. Les travaux se sont focalisés sur **l'ozone**, d'une part parce que ce gaz est un des principaux polluants atmosphériques des pays industrialisés et que son fort pouvoir oxydant le rend très toxique pour les végétaux, d'autre part parce que les processus qui conduisent à son dépôt (notamment en relation avec les facteurs du milieu) sont encore assez mal connus. Compte tenu de l'état des connaissances au démarrage du projet, nous avons privilégié trois objectifs complémentaires :

1. Identifier les points-clés du métabolisme qui sont affectés par l'ozone : Cet objectif s'est focalisé sur la quantification et l'analyse des effets du polluant sur la photosynthèse des plantes. La comparaison des deux grands types métaboliques C3 et C4 nous a paru particulièrement pertinente dans la mesure où les connaissances sur les C4 sont encore peu nombreuses et que les enzymes-clés de la photosynthèse ne sont pas exposées de la même manière à l'ozone dans ces deux types métaboliques . Notre approche a porté principalement sur quatre points :

quantification des impacts sur la photosynthèse à l'échelle foliaire

quantification des effets sur les enzymes-clé de la photosynthèse (RubisCO et PEPc)

recherche de l'origine des réductions d'activité de ces enzymes-clé

quantification des impacts sur les pigments impliqués dans la photosynthèse

Ces approches sont liées à l'analyse des impacts de l'ozone sur la sénescence foliaire.

2. Mieux comprendre les relations entre l'ozone et la conductance stomatique : Ce deuxième objectif est intimement lié au premier, puisque la conductance stomatique et la photosynthèse sont liées. Il est maintenant bien admis que le niveau d'exposition au polluant subi par la plante est moins bien décrit par la dose d'exposition (concentration d'ozone dans l'air x durée d'exposition) que par le flux de polluant diffusant vers l'intérieur des feuilles par unité de temps. L'estimation de ce flux passe par la connaissance de la conductance stomatique. C'est pourquoi notre approche a porté essentiellement sur les points suivants :

quantification des effets de l'ozone sur la conductance stomatique

mise au point d'outils pour estimer la conductance stomatique en atmosphère polluée

3. Conséquences pour le fonctionnement de la plante entière et du couvert végétal : La conception et la réalisation d'expérimentations communes nous a permis d'étudier simultanément aux points précédents les effets de l'ozone sur la croissance et le rendement final du blé et du maïs, ainsi que sur les paramètres écophysiologiques caractéristiques du

fonctionnement du couvert (photosynthèse et surface foliaire). Des jeux de données ont ainsi été acquis. Ils ont ensuite été utilisés pour les approches de modélisation.

- impact de l’ozone sur les surfaces foliaires
- photosynthèse à l’échelle du couvert
- intégration des processus dans un modèle de transfert de masse et d’énergie
- intégration des processus dans un modèle de culture visant à prédire les rendements

Pour atteindre ces objectifs, un important travail méthodologique a également été entrepris. La mise au point de nouveaux outils d’étude est en effet un point fort du projet (chambre de fumigation, rampe de fumigation au champ, techniques d’analyse biochimiques).

Relations entre les niveaux d’approche

Notre schéma d’intégration des impacts de l’ozone sur le fonctionnement des plantes est résumé sur la **figure 2.1** : l’effet principal de l’ozone sur la production se situe au niveau de la photosynthèse de la feuille. Celle-ci dépend en premier lieu de la proportion de surface ayant conservé une activité photosynthétique (surface « verte ») par rapport à la surface « morte » (nécrosée ou fortement sénescente). La photosynthèse des parties vertes peut être modélisée de façon maintenant classique chez les plantes en C3 par une approche dite « de Farquhar », dont les deux paramètres principaux sont V_{cmax} et J_{max} . Ceux-ci sont étroitement corrélés aux activités des enzymes clés de la photosynthèse et à la teneur en pigments des feuilles.

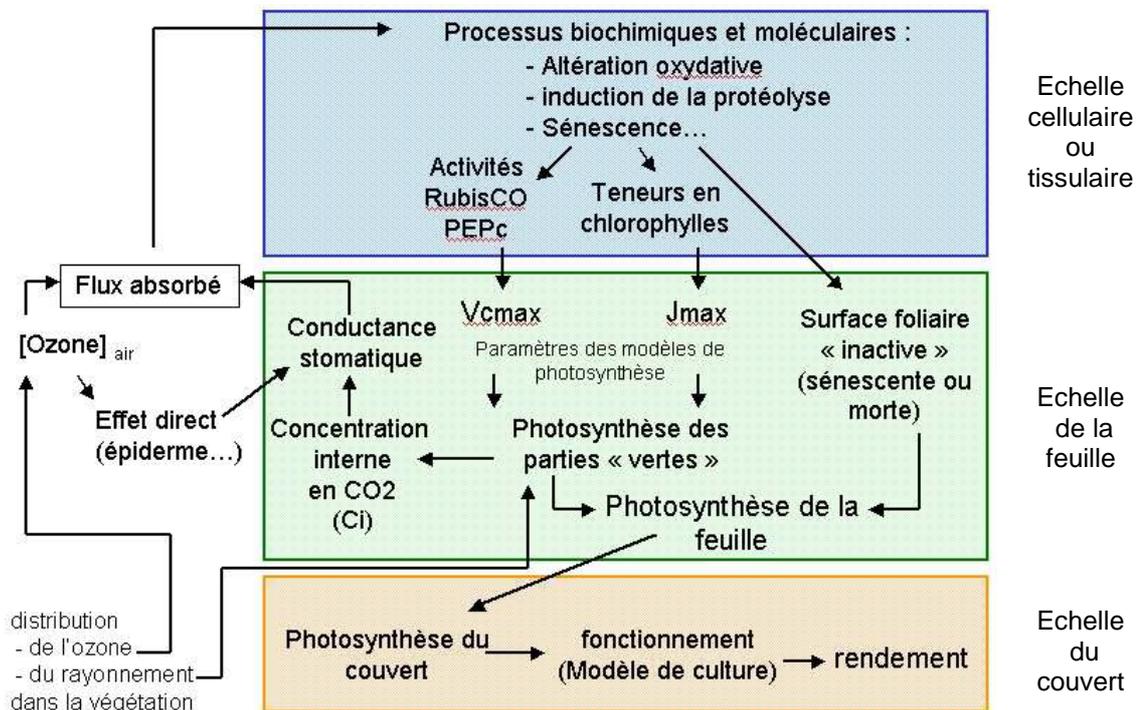


Figure 2.1. Schéma de description des effets de l’ozone sur les végétaux adopté pour l’organisation du projet

Les études au niveau inférieur (échelle cellulaire ou tissulaire) ont donc consisté à rechercher des liens entre les paramètres du modèle de photosynthèse foliaire et les caractéristiques biochimiques (activité/quantité des enzymes clé de la photosynthèse et teneurs en pigments), lesquelles sont d’ailleurs également des indicateurs de sénescence des feuilles. L’origine des

modifications de ces caractéristiques biochimiques (altération oxydative ou induction de la protéolyse) a également été explorée chez le maïs. Le modèle de photosynthèse foliaire ainsi élaboré peut être ensuite intégré à l'échelle de la plante entière et du couvert végétal par l'intermédiaire d'une description de la distribution des paramètres climatiques (essentiellement le rayonnement) et de l'ozone dans la végétation. Les conséquences de ces modifications sur le rendement peuvent être décrites au moyen d'un modèle de culture classique. Une des originalités de cette approche est que la dose de polluant prise en compte est le cumul des quantités d'ozone absorbées par les feuilles par voie stomatique. La conductance stomatique peut dépendre indirectement de l'ozone via ses effets sur la photosynthèse, ou être directement affectée par le polluant.

Les expérimentations correspondant à cette analyse ainsi que les équipes concernées sont indiquées dans le tableau 2.1.

Equipe	Niveau cellulaire/tissulaire	Niveau foliaire	Niveau du couvert végétal
Pau	<p>Activités et quantités de RubisCO et PEPc sur maïs</p> <p>Exploration d'une éventuelle altération oxydative de la RubisCO du maïs</p> <p>Dosage des pigments sur maïs</p>	<p>Suivi des impacts de l'ozone sur la surface foliaire du maïs</p>	
Nancy	<p>Activités RubisCO et PEPc sur maïs, blé et peuplier</p> <p>Dosage des chlorophylles sur peuplier et maïs</p>	<p>Mesure et modélisation de la photosynthèse et de la conductance stomatique sur maïs, blé et peuplier</p> <p>Quantification du flux d'ozone absorbé par les feuilles</p>	
Grignon		<p>Mesure et modélisation de la photosynthèse et de la conductance stomatique sur maïs et blé</p> <p>Quantification et modélisation du flux d'ozone absorbé par les feuilles</p>	<p>Photosynthèse du couvert</p> <p>Suivi de la croissance, de la surface foliaire verte et du rendement du blé et du maïs</p> <p>Introduction de la contrainte « ozone » dans un modèle de culture du blé (CERES)</p>

Tableau 2.1. Contribution de chacune des équipes à la caractérisation des phénomènes retenus dans le schéma descriptif de la figure 2.1.

2.2 Contexte

L'ozone est un des principaux polluants atmosphériques des pays industrialisés et son fort pouvoir oxydant le rend très toxique pour les végétaux (Bonte et Dizengremel, 1993 ; Black *et al.*, 2000). En Europe de l'ouest, la concentration moyenne de l'ozone troposphérique est en augmentation exponentielle depuis la fin du XIX^{ème} siècle : elle est passée d'environ 10 ppb (nmol.mol^{-1}) en 1880 à 50 ppb en 1990 (Marenco *et al.*, 1992, **Fig. 2.2**).

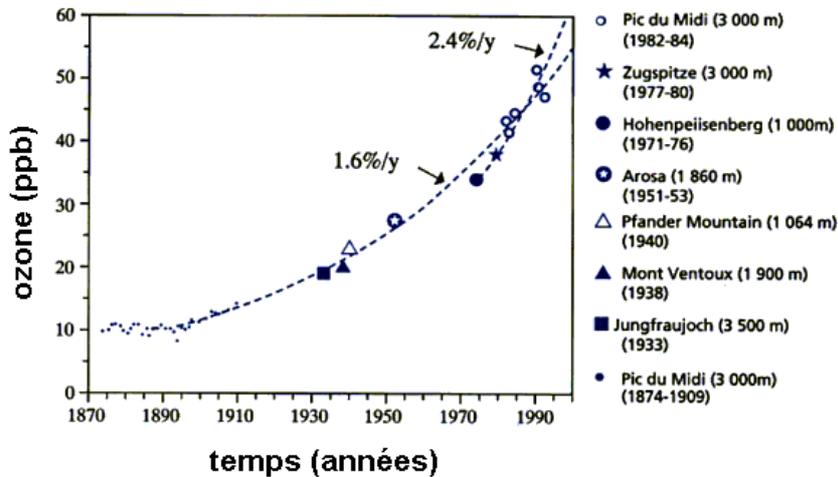


Figure 2.2 : Evolution de la teneur en ozone troposphérique au cours du XX^{ème} siècle (1 ppb correspond à $2 \mu\text{g.m}^{-3}$) (Marenco *et al.*, 1992)

Ce sont surtout les périodes de production estivale liées à des conditions anticycloniques qui sont les plus propices à la formation de grandes quantités d'ozone, dangereuses pour les végétaux. En effet, dans ces périodes, la concentration horaire en ozone peut atteindre, voire dépasser 180 ppb ($360 \mu\text{g.m}^{-3}$) et cette pollution recouvre une grande partie de l'Europe de l'ouest (**Fig. 2.3**). Le seuil d'information de la population pour l'ozone est de 90 ppb (concentration horaire) ; le seuil de protection de la végétation est de 32.5 ppb en moyenne sur 24h, 100 ppb en concentration horaire.

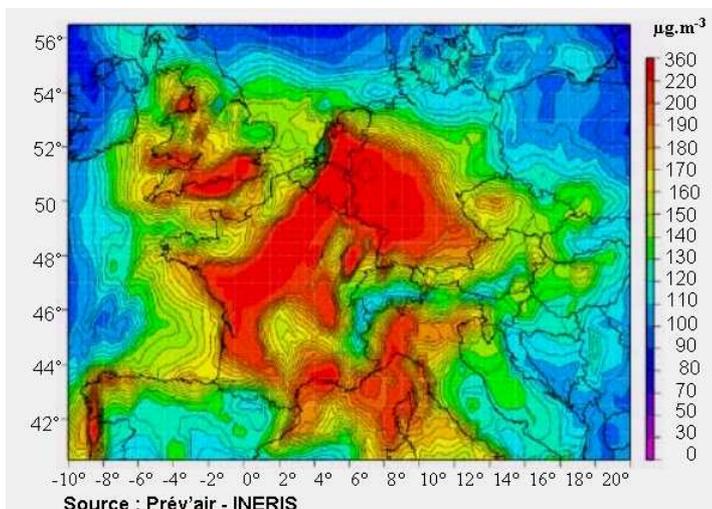


Figure 2.3 : Carte des concentrations d'ozone en Europe de l'ouest (en $\mu\text{g.m}^{-3}$) - Situation du 8 août 2003

Les premières études sur les effets de l'ozone sur les végétaux, réalisées dans le bassin de Los Angeles, montrent que l'ozone a un effet toxique (Haagen-Smit *et al.*, 1952). Puis des

symptômes visibles sur les arbres ont été mis en évidence (Miller *et al.*, 1963 ; Sandermann *et al.*, 1997). Des effets dommageables ont également été mis en évidence sur des plantes de grande culture (Heagle, 1989). Les études entreprises depuis le milieu des années 80, notamment par l'équipe de Nancy sur les arbres, ont montré que la présence de concentrations chroniques d'ozone dans l'atmosphère provoque une baisse de croissance des végétaux sur le long terme. Cette baisse, plus ou moins marquée selon les espèces et liée à la pénétration effective du polluant à travers les stomates, est précédée de manifestations physiologiques et biochimiques. En particulier, la photosynthèse diminue et la respiration augmente. Par ailleurs, il ressort de différentes études sur la pollution par l'ozone que l'aspect le plus critique concernant les impacts physiologiques n'est pas la concentration en polluant mais la dose absorbée par les feuilles. Le degré d'ouverture des stomates joue donc un rôle primordial à cet égard. La sensibilité à l'ozone dépend donc d'une part de la régulation stomatique contrôlant son entrée dans les feuilles et d'autre part de la capacité (métabolisme cellulaire) du végétal à tolérer l'ozone.

D'autre part, dans la littérature, peu d'expériences étudient l'effet de l'ozone sur les plantes à métabolisme photosynthétique en C4. Seules des comparaisons sur le rendement et la photosynthèse ont été entreprises entre C3 et C4 (Heagle *et al.*, 1988 ; Miller, 1988) et elles ont été réalisées en utilisant le système des chambres à ciel ouvert (Open Top Chambers = OTC). On remarque que les plantes dites de type C4 (sorgho, maïs) semblent plus tolérantes que les plantes C3 (blé) (**Figures 2.4 et 2.5**). De ce fait les travaux ultérieurs se sont concentrés presque exclusivement sur les plantes C3. En 1999, Grünhage *et al.* ont relié des doses cumulées d'ozone à des impacts quantifiables sur le blé. Par contre peu de données sont disponibles sur les plantes en C4, alors que le maïs représente une culture agricole importante dans de nombreux pays, avec une végétation active pendant les épisodes de risques de pollution photo-oxydante.

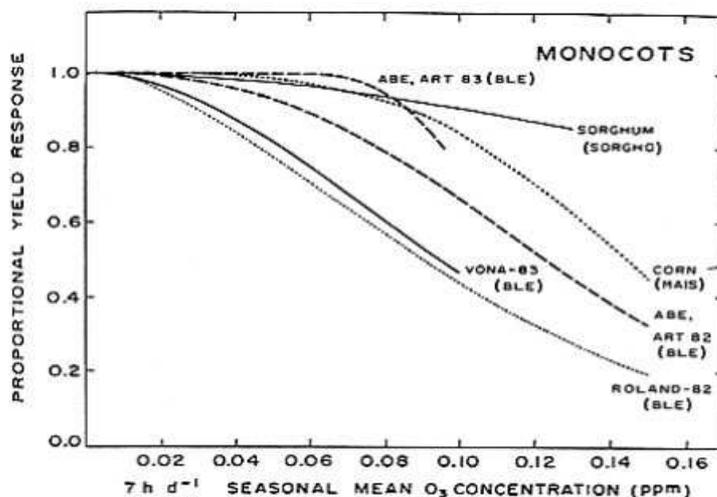


Figure 2.4 : Relation entre la dose d'ozone reçue et le rendement chez les monocotylédones (d'après Heagle *et al.*, 1988).

Dans ce contexte, un des principaux objectifs du projet (**Objectif 1**) est **d'estimer l'impact de la pollution atmosphérique sur le fonctionnement des couverts végétaux, de type C3 et C4**. Pour cela, des recherches physiologiques ou écophysiologiques ont été conduites à différentes échelles, de la **modification du métabolisme** jusqu'à **l'intégration à l'échelle du couvert végétal** dans des modèles de fonctionnement des couverts végétaux, avec les objectifs spécifiques rappelés en introduction de cette partie.

Au cours des années 2002-2004, un important travail méthodologique a été entrepris, afin de mettre au point de nouveaux outils d'étude (chambre de fumigation, rampe de fumigation au champ, techniques d'analyses biochimiques). Une expérimentation commune a notamment été menée sur le maïs (espèce de type C4) au cours de l'été 2002. Ce choix était justifié à la fois par le très faible nombre de travaux dans la littérature concernant les effets de l'ozone sur ce type métabolique et parce que cette culture se prête particulièrement bien à l'étude des processus microclimatiques de par sa structure espacée et son port relativement ample. Cette expérimentation nous a donc permis de réunir en un même lieu l'ensemble des savoir-faire prenant part au projet et de fournir le matériel végétal permettant la mise au point des différents tests enzymatiques et méthodes d'analyse biochimique qui ont ensuite été utilisés pour les manips plus poussées détaillées dans les autres parties. Nous avons aussi conduit une autre expérimentation commune sur blé (espèce de type C3) au printemps 2003 afin de disposer d'éléments de comparaison avec le maïs et de fournir des données de calage et validation pour les modèles. En effet, le blé est l'autre culture ultra-dominante en France et plus précisément dans le bassin parisien. Des expérimentations complémentaires en conditions contrôlées ou semi-contrôlées ont été également réalisées dans les différents laboratoires partenaires du projet. Le **tableau 2.2** présente une synthèse des expérimentations réalisées au cours des années 2002-2004. Le détail des expérimentations est décrit en annexe.

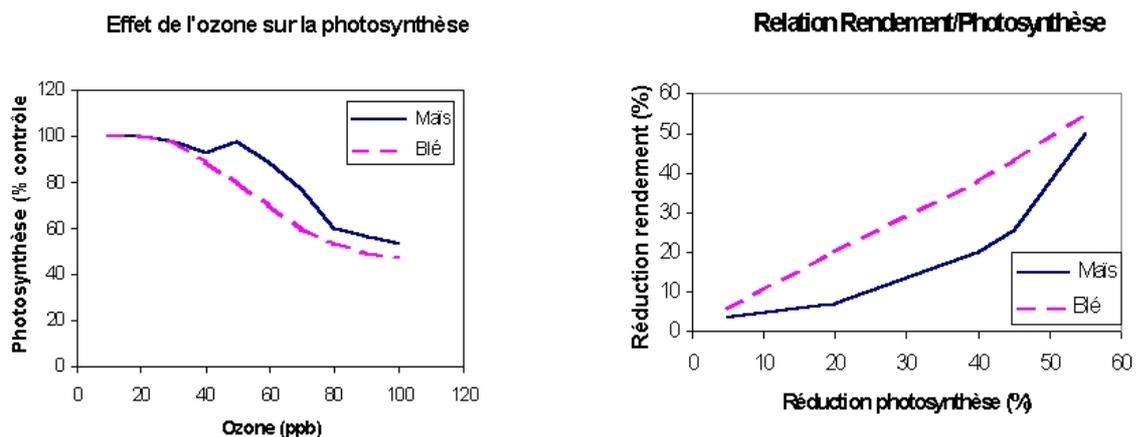


Figure 2.5 : Comparaison des effets de l'ozone sur la photosynthèse et sur le rendement de deux plantes de grande culture, le Blé (type C3) et le Maïs (type C4). D'après Miller (1988).

expérimentation	Dispositif expérimental	Végétaux concernés		
Lieu/date		Maïs (C4)	Blé (C3-herbacée)	Peuplier (C3-ligneux)
Grignon 2002	Parcelle agricole et OTC + mesures micrométéorologiques	- Biochimie - Photosynthèse foliaire et conductance stomatique - Production de la plante et du couvert		
Pau 2002	Plantes en pot en OTC	- Biochimie - Photosynthèse foliaire et conductance stomatique - Production de la plante et du couvert		
Grignon 2002-2004	Chambre de culture et chambre de fumigation		- Photosynthèse foliaire et conductance stomatique - Sénescence	
Nancy 2003-2004	Chambre de culture et chambre de fumigation	- Biochimie - Photosynthèse foliaire et conductance stomatique - Sénescence		- Biochimie - Photosynthèse foliaire et conductance stomatique - Sénescence
Grignon 2003	Parcelle agricole et rampe de fumigation	- Production de la plante et du couvert	- Biochimie - Photosynthèse foliaire et conductance stomatique - Production de la plante et du couvert	
Grignon 2004	Parcelle agricole et rampe de fumigation		- Photosynthèse foliaire et conductance stomatique - Production de la plante et du couvert	

Tableau 2.2. Résumé des cultures expérimentales réalisées au cours du projet. Les analyses biochimiques réalisées à partir des échantillons végétaux ne sont pas détaillées dans ce tableau.

2.3 Première partie : Conséquences biologiques de l'ozone sur le métabolisme photosynthétique. Recherche de marqueurs physiologiques et biochimiques

L'objectif principal était de bien caractériser l'impact de l'ozone sur les caractéristiques photosynthétiques des feuilles des espèces étudiées, en exprimant notamment la dose d'ozone en termes de quantité de polluant effectivement absorbé par la feuille par voie stomatique. Il s'agissait également d'obtenir des indicateurs biochimiques permettant de mieux comprendre la réduction de photosynthèse foliaire induite par l'ozone. Ces travaux ont été menés en parallèle ou à travers des expérimentations communes, à la fois en conditions de plein champ et en environnements contrôlés. Le détail des expérimentations est présenté en annexe 1.

2.3.1 Effets de l'ozone sur la surface et la biomasse foliaire du maïs

Ces résultats ont été obtenus à partir de deux expériences de fumigation d'ozone sur maïs (*Zea mays* L., cv. Chambord). Les plants ont été cultivés en pots dans des chambres à ciel ouvert à Montardon (64). Ce dispositif a permis de reconstituer cinq atmosphères différentes : une atmosphère témoin dite « Air Non Filtré » (ANF) constituée d'air prélevé sur le site et quatre atmosphères artificiellement polluées par des ajouts (aux concentrations déjà présentes dans l'air du site) de 20 (ANF+20), 40 (ANF+40), 60 (ANF+60) et 80 (ANF+80) ppb d'ozone. La première expérience a consisté à exposer des jeunes plants à ces atmosphères (33 jours de fumigation, depuis la levée jusqu'au stade 7 feuilles ligulées), la deuxième des plants plus âgés (27 jours de fumigation, du stade 7 feuilles au stade 12 feuilles ligulées). Des mesures de surface et de biomasse foliaire ont été effectuées.

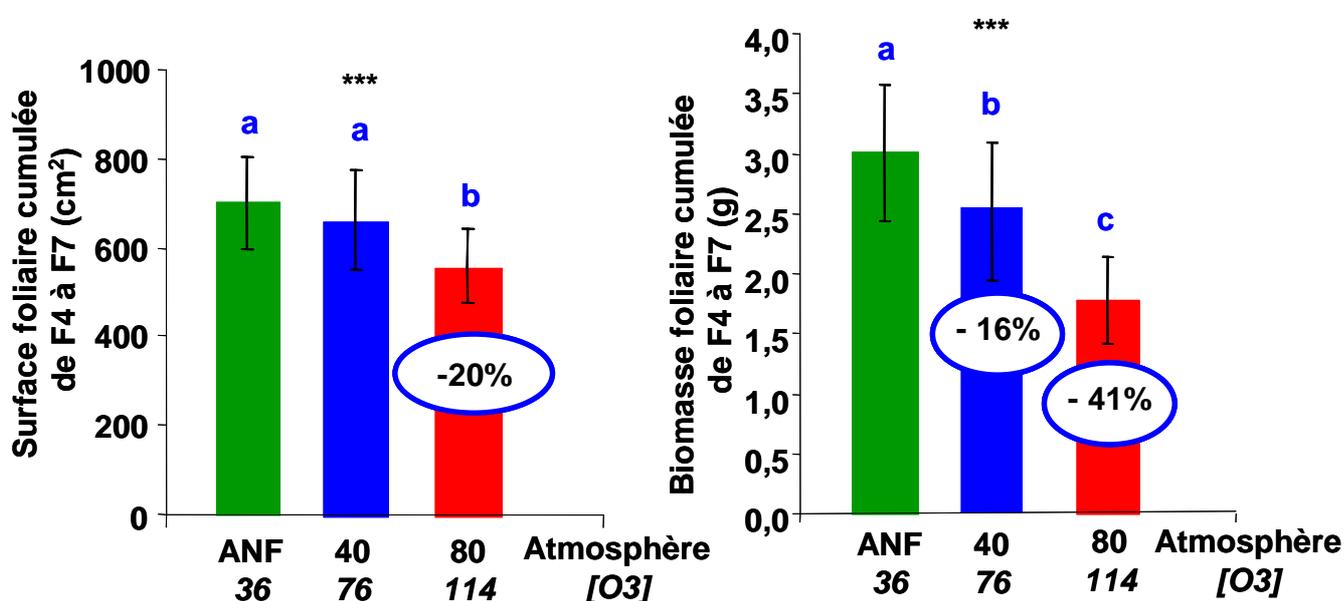
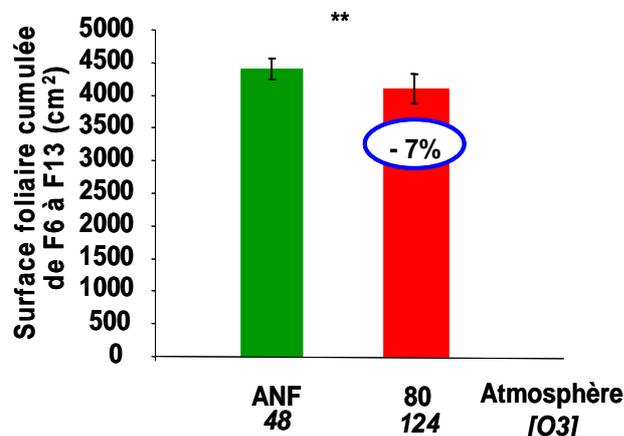


Figure 2.6 : Pau 2002, Expérimentation 1. Surface (cm²) et biomasse (g) foliaires cumulées de la feuille 4 à la feuille 7 (valeur moyenne \pm écart type, n =15). Résultats de l'ANOVA : *** = p < 0,001). Les moyennes identifiées par les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes au seuil 5% d'après le test de Newman et Keuls. ANF, 40, 80 correspondent respectivement aux atmosphères Air Non Filtré, Air Non filtré enrichi de 40 et 80 ppb d'ozone.

S'agissant de la première expérimentation, il apparaît clairement que des ajouts réalistes d'ozone de 40 et 80 ppb (à la concentration présente dans l'atmosphère témoin = ANF) peuvent réduire la surface ($p < 0,001$) et la biomasse ($p < 0,001$) foliaire cumulées des feuilles 4 à 7 (**Fig. 2.6**). Les feuilles apparues plus récemment que la feuille 7 (feuille 8 et au delà) n'ont pas été prises en compte car elles n'avaient pas encore achevé leur croissance ; les feuilles 1 à 3 étaient quand à elles trop sénescentes dans les atmosphères enrichies en ozone pour pouvoir être prises en considération. L'effet délétère de l'ozone sur la surface foliaire reste néanmoins moins important que celui mesuré sur la biomasse. En effet, une atmosphère enrichie de 40 ppb d'ozone n'induit pas de réduction significative de la surface foliaire cumulée alors qu'elle induit déjà une réduction statistiquement significative de biomasse d'environ 16%. L'atmosphère la plus enrichie en polluant (+80 ppb O₃) caractérisée par une concentration moyenne en ozone de 124 ppb (entre 10 h et 17 h GMT pendant les 33 jours de fumigation) est capable de provoquer une chute de surface foliaire d'environ 20% alors qu'elle provoque une perte de biomasse deux fois plus importante (41%). Le suivi des effets de l'ozone individuellement sur chacune des feuilles, montre que l'atmosphère ANF+80 a, pour chacun des paramètres étudiés, un effet délétère de même amplitude de la feuille 4 à la feuille 7. En revanche l'atmosphère modérément polluée (ANF+40) n'exprime clairement sa toxicité que chez la feuille 7. Si l'on estime que l'indépendance carbonée va croissante des feuilles 4 à 7, il semble donc qu'une légère augmentation en ozone perturbe davantage l'activité photosynthétique que les aspects métaboliques hétérotrophes.

S'agissant de l'expérimentation 2, des mesures de surfaces foliaires ont été effectuées sur des plants issus de l'atmosphère témoin (ANF) et de celle enrichie de 80 ppb d'ozone (ANF+80). Sur ces plants qui ont été exposés tardivement à l'ozone (au stade feuille 7 ligulée), 27 jours de traitement en ANF+80 ont permis de réduire de façon significative ($p < 0,01$) mais modérée (- 7%) la surface foliaire cumulée des feuilles 6 à 13 (**Fig. 2.7**). Cette faible réduction s'explique en partie par le fait que les feuilles 6 à 9 avaient d'ores et déjà achevé leur croissance (feuilles ligulées) avant l'exposition, ainsi, comme le suivi individuel foliaire le confirme, leur surface foliaire n'a donc pas été affectée par l'ajout d'ozone. Seules les feuilles dont la croissance s'est poursuivie pendant la période d'exposition montrent individuellement une réduction de surface foliaire d'environ 10%.

Les premières feuilles du maïs paraissent donc plus sensibles aux effets délétères de l'ozone que les feuilles de rang supérieur, lesquelles disposent naturellement d'un potentiel photosynthétique supérieur et d'une durée de vie plus longue dans la mesure où elles doivent contribuer efficacement au remplissage des grains.



*Figure 2.7 : Pau 2002, expérimentation 2. Surface foliaire cumulée (cm²) de la feuille 6 à la feuille 13 (valeur moyenne \pm écart type, n=9 ou 10). Résultats de l'ANOVA : ** = $p < 0,01$. Les moyennes identifiées par les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes au seuil 5% d'après le test de Newman et Keuls. ANF, 40, 80 correspondent respectivement aux atmosphères Air Non Filtré, Air Non filtré enrichi de 40 et 80 ppb d'ozone.*

2.3.2 Effets de l'ozone sur la photosynthèse foliaire et la conductance stomatique des plantes de type C3 et C4.

2.3.2.1 Effets sur la photosynthèse foliaire

2.3.2.1.1 Comparaison des effets de l'ozone sur la photosynthèse des plantes de type C3 (Peuplier) et C4 (Maïs) (expérimentation Nancy 2003-2004)

L'objectif principal était de réaliser une étude comparative de l'impact de l'ozone sur les caractéristiques photosynthétiques de plantes de types C3 et C4. Pour cela, du peuplier (C3) et du maïs (C4) ont été mis en culture, dans des chambres phytotroniques, et soumis pendant environ un mois à différentes concentrations réalistes d'ozone (0 ou 100 ppb pour le peuplier ; 0, 40 et 80 ppb pour le maïs). Le détail des conditions expérimentales est présenté en annexe 1.

Chez le peuplier (C3), l'exposition à l'ozone n'a pas d'effet sur la photosynthèse du premier jour et jusqu'au 22^{ème} jour de fumigation (**fig. 2.8**). Ensuite, l'assimilation des plants sous ozone diminue. Pendant toute la durée de l'étude, les feuilles matures (F10) et les feuilles plus jeunes (F4) ont les mêmes valeurs d'assimilation pour le CO₂. Au niveau de la conductance stomatique (g_w) (**Fig. 2.9**), on a le même profil : Pas de différences jusqu'au jour 22, puis chute pour les feuilles qui sont sous 100 ppb d'ozone.

Le rapport de l'assimilation sur la conductance (A/g_w) (**Fig. 2.10**) quant à lui reste identique pour tous les traitements. Ceci nous indique que l'efficacité de l'utilisation de l'eau reste la même et ceci, que l'on soit sous ozone ou non. Il y aurait donc un contrôle direct des stomates sur l'assimilation du carbone chez les plants soumis à l'ozone. Ce qui diffère d'autres expériences sur le peuplier (Dizengremel, 2001).

L'ozone a donc un effet néfaste sur la photosynthèse du peuplier : il provoque une fermeture des stomates et une baisse de l'assimilation.

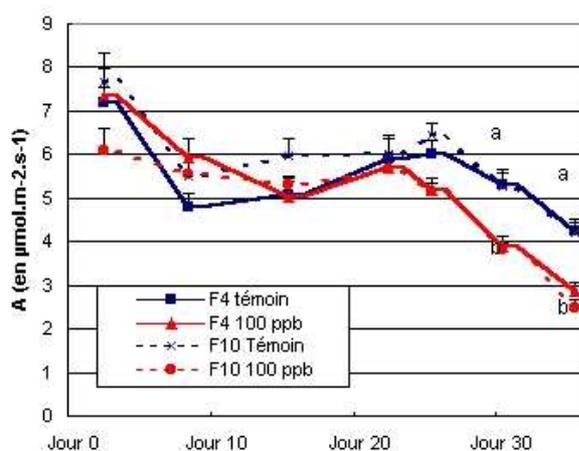


Figure 2.8 : Expérimentation Nancy 2003-2004 : Evolution de la photosynthèse (assimilation nette de CO₂) du peuplier soumis ou non à 100 ppb d'ozone

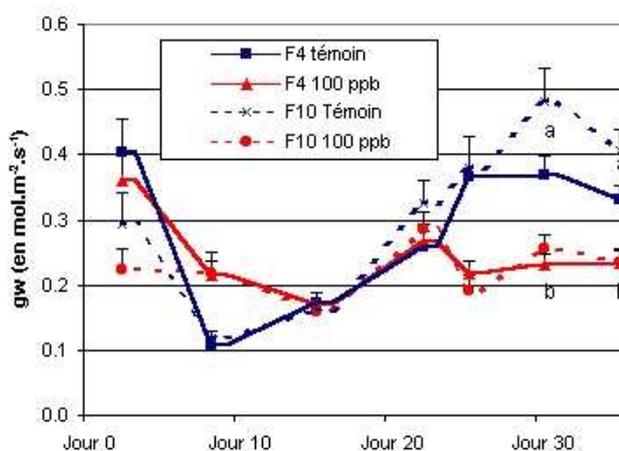


Figure 2.9 : Expérimentation Nancy 2003-2004 : Evolution de la conductance stomatique pour la vapeur d'eau (g_w) chez le peuplier soumis ou non à 100 ppb d'ozone.

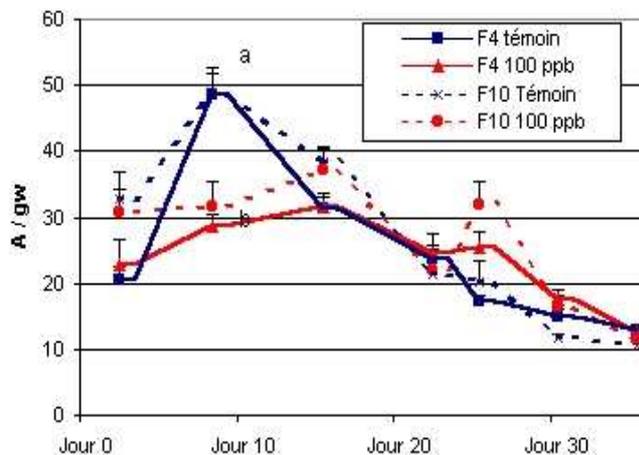


Figure 2.10 : Expérimentation Nancy 2003-2004 : Evolution du rapport A/gw chez le peuplier soumis ou non à 100 ppb d'ozone.

Chez le maïs (C4) : pour la feuille n°5, la figure 2.11 montre trois phases : la première est une baisse de la photosynthèse pour les trois traitements. Avec cependant une très légère différence pour le traitement à 80 ppb, qui semble avoir une assimilation plus faible au bout de 6 jours de fumigation. A partir du 15^{ème} jour les courbes se rejoignent pour se confondre au jour 20. La deuxième phase est une augmentation de l'assimilation du carbone pour les chambres témoin et 40 ppb, mais pas pour celles de 80 ppb. Enfin au cours de la troisième phase, on a de nouveau une chute du jour 23 jusqu'à la fin de l'expérience et les plantes du traitement à 80 ppb semblent avoir une consommation de CO₂ plus faible que les autres.

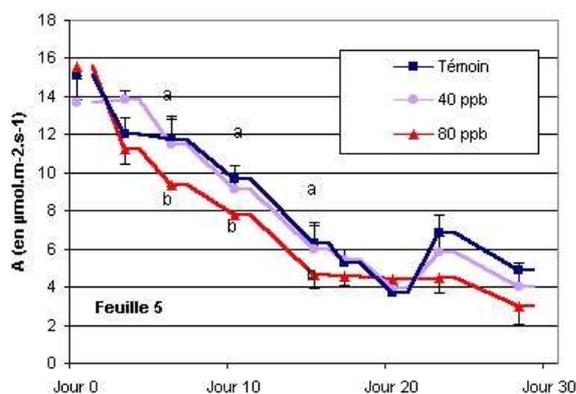


Figure 2.11 : Expérimentation Nancy 2003-2004 : Evolution de l'assimilation de CO₂ (A) chez le maïs soumis à trois niveaux de concentration d'ozone dans l'air (feuille n°5).

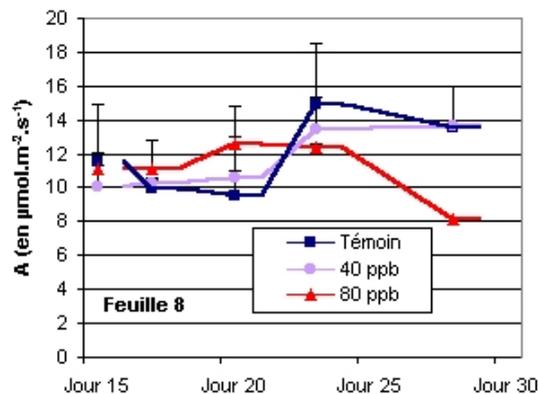


Figure 2.12 : Expérimentation Nancy 2003-2004 : Evolution de l'assimilation de CO₂ (A) chez le maïs soumis à trois niveaux de concentration d'ozone dans l'air (feuille n°8).

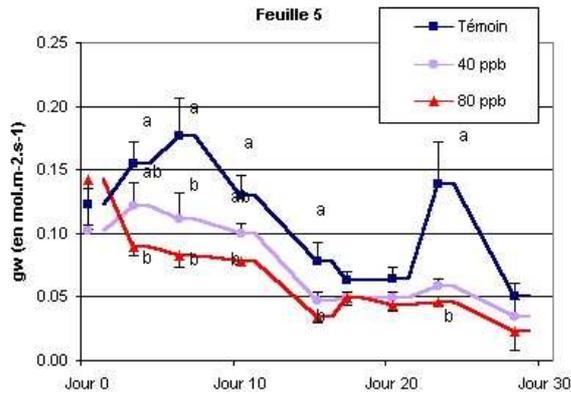


Figure 2.13 : Evolution de la conductance stomatique pour la vapeur d'eau (g_w) de la cinquième feuille de maïs soumise à différentes concentrations en ozone (expérimentation Nancy 2003-2004)

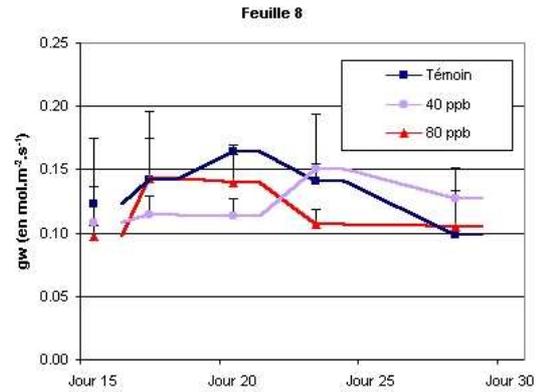


Figure 2.14 : Evolution de la conductance stomatique pour la vapeur d'eau (g_w) de la huitième feuille de maïs soumise à différentes concentrations en ozone (expérimentation Nancy 2003-2004)

Pour la feuille 8 (**Figure 2.12**), on observe des valeurs à peu près constantes au début, avec également une augmentation de l'assimilation pour le témoin et le 40 ppb, au 20^{ème} jour, suivi d'une légère baisse à partir du 23^{ème} jour. A la fin du traitement la photosynthèse dans les chambres à 80 ppb en ozone chute de façon plus importante. Les mesures de PPFd effectuées régulièrement au niveau des feuilles au cours de l'expérimentation indiquent que la diminution de l'assimilation du carbone est due à une baisse de la quantité de lumière reçue au niveau des feuilles. En effet au cours de l'expérience, le maïs se développe et envahit les chambres. La remontée de la photosynthèse du 20^{ème} jour est due à un éclaircissement, réalisé par le prélèvement et le sacrifice de plants de maïs destinés aux mesures enzymatiques. Ensuite, l'assimilation diminue de nouveau car les maïs continuent leur croissance. Ceci confirme que la chute de l'assimilation est due en grande partie à la baisse de la luminosité. Néanmoins on observe une baisse de la photosynthèse chez les plants les plus exposés à l'ozone, et cela pour les deux feuilles.

Tout au long de la manipulation, la conductance stomatique de la feuille 5 (**Figure 2.13**) est plus faible chez les plants ozonés, alors qu'au début il n'y a pas de différence entre les traitements. On retrouve également l'effet lumière, chez les témoins dès que la lumière devient plus forte (jour 20) avec une augmentation de la conductance. Cette augmentation ne se retrouve pas chez les plants soumis à l'ozone. On ne perçoit pas de différences entre les traitements pour la feuille 8 (**Figure 2.14**).

Le rapport assimilation sur conductance (**Figures 2.15 et 2.16**), nous montre pour la 5^{ème} feuille qu'il est plus important pour les traitements 40 ppb et 80 ppb d'ozone. Pour la feuille 8 on ne voit pas de différence. Cela nous montre que l'ozone affecte plus la conductance stomatique que l'assimilation en elle-même chez les feuilles 5, alors que chez les feuilles 8 aucun effet sur la conductance n'est décelé.

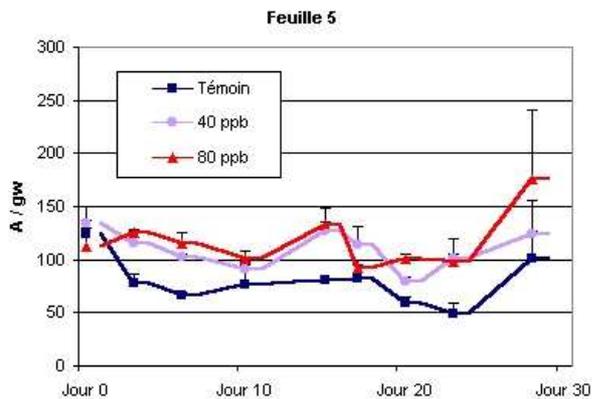


Figure 2.15 : Evolution du rapport A/g_w de la cinquième feuille de maïs soumise à différentes concentrations en ozone (expérimentation Nancy 2003-2004).

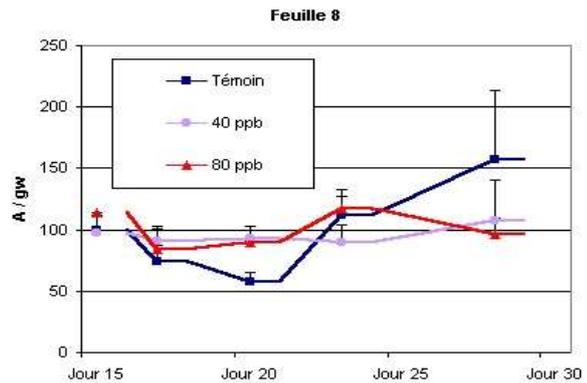


Figure 2.16 : Evolution du rapport A/g_w de la huitième feuille de maïs soumise à différentes concentrations en ozone (expérimentation Nancy 2003-2004).

Chez les plantes en C4 la conductance stomatique est plus basse que celle des C3. Ceci leur procure un avantage vis à vis des polluants car ceux-ci pénètrent moins facilement dans la plante. L'ozone provoque en plus la fermeture des stomates, même chez les C4, ce qui en fait des plantes encore plus résistantes. Or chez le maïs on observe quand même une diminution de la photosynthèse pour une concentration d'ozone de 80 ppb. Cette concentration n'est pas irréaliste et elle est atteinte régulièrement en été dans notre pays. Cette diminution de la photosynthèse est-elle due uniquement à la baisse de la conductance stomatique ou à des dommages au niveau des pigments et des enzymes impliquées dans la photosynthèse?

2.3.2.1.2 Effets de l'ozone sur la photosynthèse des plantes de type C3 (Blé) (expérimentations Grignon 2002-2004)

L'objectif principal était de caractériser la réponse des paramètres photosynthétiques du blé à une exposition de courte durée (quelques jours) à des niveaux d'ozone réalistes (100 ppb), simulant ainsi un épisode de pollution à l'ozone typique des conditions de l'Ile-de-France. L'originalité de cette étude réside également dans le choix d'étudier la réponse de plantes adultes (stade épiaison), en analysant la réponse à l'ozone des feuilles directement impliquées dans les processus de remplissage des grains. Les expérimentations ont été menées sur 4 cultures successives de plants de blé d'hiver (*Triticum aestivum*, variété Soissons). Les plantes ont été exposées à l'ozone au moment où les feuilles atteignaient le stade adulte (apparition de la ligule). Les mesures ont été effectuées sur les feuilles de rang 13 (feuille drapeau), 12 et 11 (en les numérotant par ordre d'apparition). Selon les cultures, les plantes étaient alors âgées de 60 à 80 jours.

La **figure 2.17** présente les effets de l'ozone sur la réponse de la photosynthèse à la lumière et sur la photosynthèse maximale des trois feuilles du blé concernées par le remplissage de l'épi. L'exposition à l'ozone, bien que d'une durée plus courte que dans le cas de l'expérimentation menée à Nancy, se traduit également par une réduction du niveau de photosynthèse maximale des feuilles.

Des résultats comparables ont été obtenus en condition de plein champ (expériences de fumigation au champ Grignon 2003 et 2004) : l'effet principal de l'ozone est de réduire

significativement la photosynthèse des feuilles étandard, à la fois par l'intermédiaire d'une réduction de la conductance stomatique et par une réduction des paramètres photosynthétiques des feuilles.

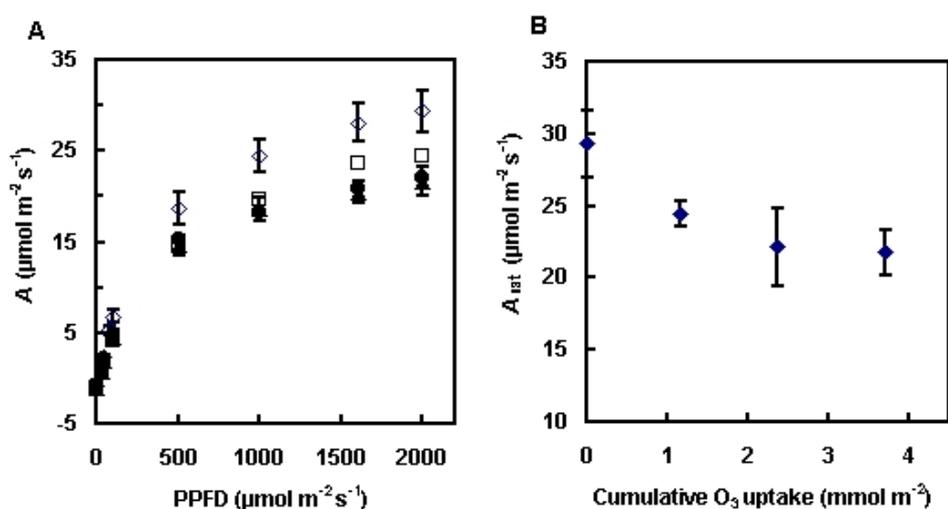


Figure 2.17. Effet de l'ozone (A) sur la réponse de la photosynthèse de la feuille drapeau du blé (feuille n°13) à la lumière, (B) sur la valeur de la photosynthèse maximale correspondante en fonction du flux d'ozone absorbé par la feuille. Les mesures sont effectuées une ou deux journées après l'arrêt de la fumigation. Les losanges vides correspondent aux plantes témoin (non exposées à l'ozone), les carrés vides les plantes exposées 7 heures par jour à 100 ppb pendant 3 jours, les cercles pleins les plantes exposées pendant 5 jours, les triangles les plantes exposées pendant 8 jours. (Expérimentation Grignon 2002-2004)

2.3.2.1.3 Conclusions

Les résultats obtenus à Grignon et Nancy indiquent que des niveaux d'exposition à l'ozone relativement modestes et assez représentatifs des situations que l'on peut rencontrer en différentes régions de France provoquent des diminutions significatives de la photosynthèse foliaire, tant chez les espèces en C3 (Blé, Peuplier) que chez les espèces en C4 (maïs). Les observations de Nancy montrent que cette réduction de photosynthèse peut s'expliquer soit par un effet direct de l'ozone sur la conductance stomatique, soit par un effet sur les mécanismes photosynthétiques, soit un double effet.

La suite du travail a consisté à analyser les courbes de réponse de la photosynthèse foliaire à la concentration interne en CO_2 pour quantifier l'importance des effets de l'ozone sur les processus photosynthétiques, essentiellement à travers l'étude des impacts sur les caractéristiques photosynthétiques des feuilles V_{cmax} et J_{max} .

2.3.2.2 Effets sur les caractéristiques photosynthétiques des feuilles

2.3.2.2.1 Comparaison des effets de l'ozone sur les caractéristiques photosynthétiques des feuilles de plantes de type C3 (Peuplier) et C4 (Maïs) (expérimentation Nancy 2003-2004)

Chez le peuplier, les graphiques nous montrent les valeurs du V_{cmax} , du J_{max} et R_d au début et en fin d'expérience (Figures 2.18 et 2.19). On constate qu'au début de l'expérience il n'y a

pas de différence entre les plants. Par contre en fin d'expérience, le V_{cmax} et le J_{max} sont plus faibles chez les plants ozonés. La respiration diurne (R_d) quant à elle n'est pas affectée par l'ozone.

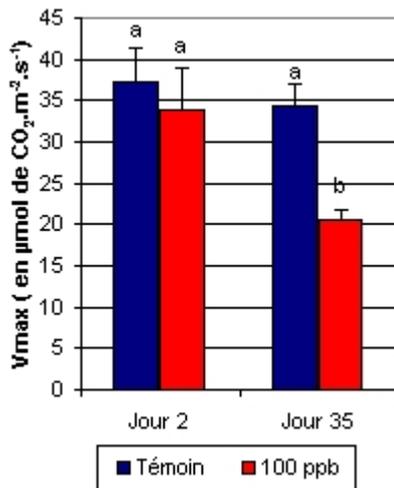


Figure 2.18 : Evolution du paramètre V_{cmax} chez le peuplier soumis à 100 ppb d'ozone (expérimentation Nancy 2003-2004)

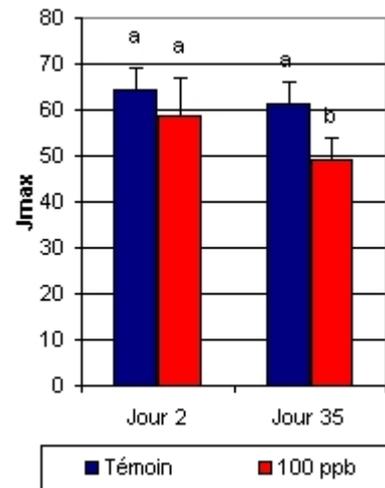


Figure 2.19 : Evolution du paramètre J_{max} chez le peuplier soumis à 100 ppb d'ozone (expérimentation Nancy 2003-2004)

Chez le maïs, Nous n'avons pas eu le temps de calculer les vitesses maximales de carboxylation (V_{cmax}) et les flux maximaux d'électrons (J_{max}), car il nous manque les modèles de calcul pour les plantes en C4. Par contre nous avons tracé les courbes A/C_i et elles nous permettront quand même de comparer deux paramètres entre eux (Figure 2.20). En effet, la pente à l'origine nous indique l'efficacité de la carboxylation et le plateau atteint pour les fortes concentrations intracellulaires en CO_2 représente la photosynthèse maximale que peut effectuer la feuille. On peut donc observer que l'efficacité de carboxylation est plus importante pour les plants témoins, elle est plus faible pour les plants soumis à 40 ppb d'ozone et elle encore plus basse pour les plants sous 80 ppb d'ozone. On remarque également que la photosynthèse maximale est plus faible pour les plants soumis à l'ozone.

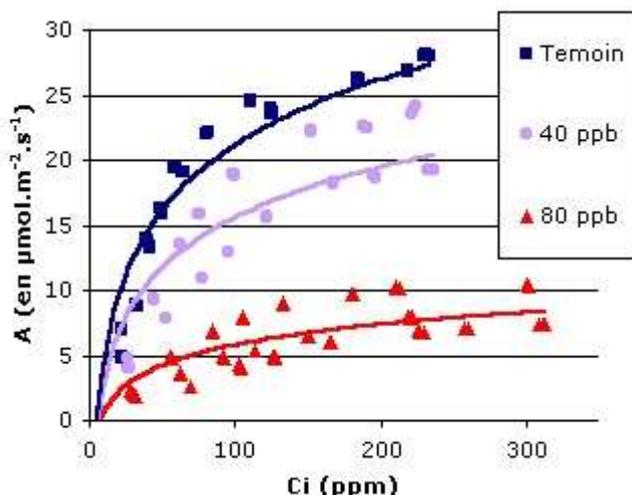


Figure 2.20 : Expérimentation Nancy 2003-2004 : Evolution de l'assimilation de CO_2 (A) en fonction de la concentration interne en CO_2 (C_i) chez le maïs soumis à trois niveaux de concentration d'ozone dans l'air (feuille n°5, jour 30).

2.3.2.2.2 Effets de l'ozone sur les caractéristiques photosynthétiques des feuilles de blé (plantes de type C3) (expérimentation Grignon 2002-2004)

Les paramètres V_{cmax} , J_{max} et V_{TPU} des feuilles de blé subissent des réductions significatives sous l'effet de l'ozone (figures 2.21, 2.22, 2.23). Le paramètre V_{TPU} représente la vitesse d'utilisation des trioses phosphate : il rend compte d'une éventuelle diminution de la valeur de la photosynthèse qui se produit parfois pour des fortes valeurs de la concentration interne en CO_2 (C_i). Les caractéristiques photosynthétiques de la feuille drapeau (directement sous l'épi) sont significativement supérieures à celles des deux autres feuilles. Pour pouvoir comparer les effets de l'ozone sur ces trois types de feuilles, les valeurs de V_{cmax} , J_{max} et V_{TPU} ont été exprimées en pourcentage des valeurs obtenues chez les plantes témoins (non exposées à l'ozone).

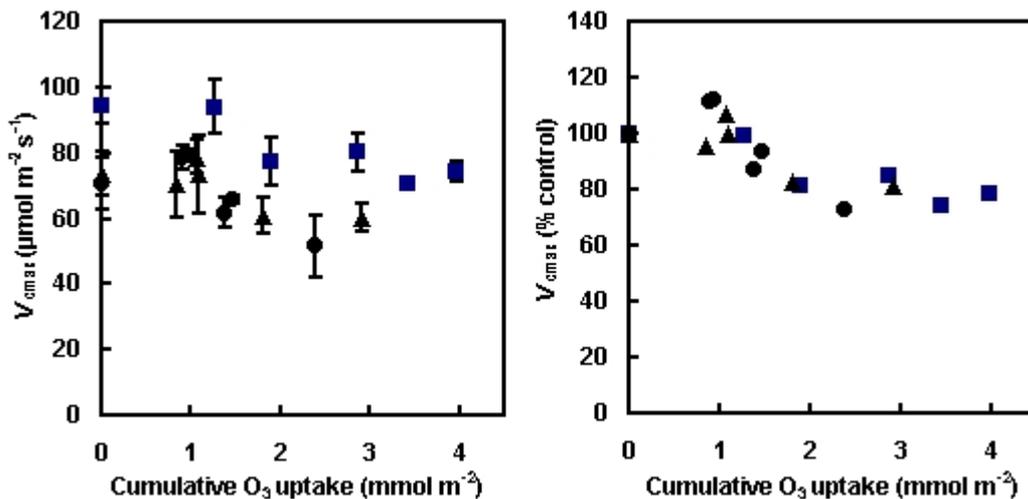


Figure 2.21. Effet de l'ozone sur le paramètre photosynthétique foliaire V_{cmax} des trois dernières feuilles du blé (Expérimentation Grignon 2002-2004). A gauche, valeurs mesurées, à droite, valeurs exprimées en pourcentage du V_{cmax} des feuilles témoin. Les carrés pleins correspondent aux feuilles drapeau (13^e feuille), les triangles, les feuilles de rang 12, les cercles, les feuilles de rang 11.

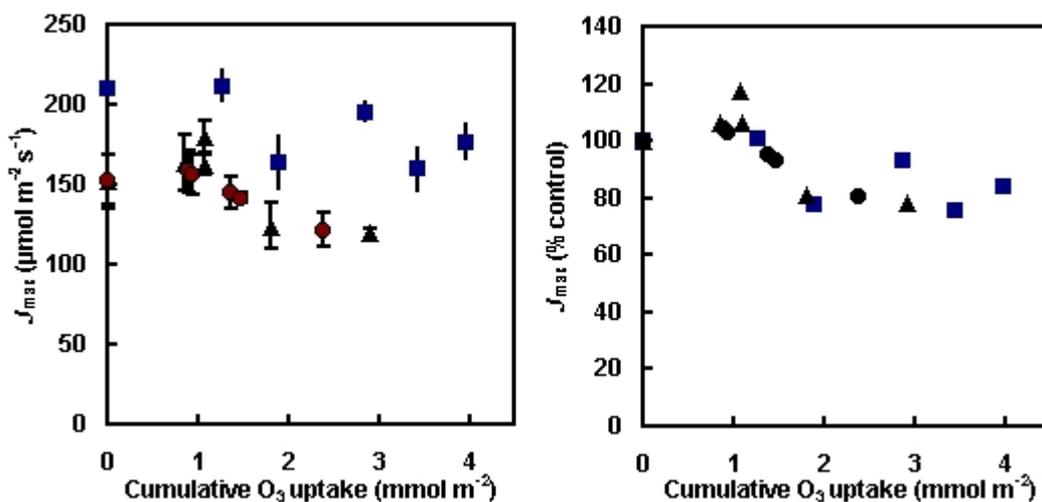


Figure 2.22. Effet de l'ozone sur le paramètre photosynthétique foliaire J_{max} des trois dernières feuilles du blé (Expérimentation Grignon 2002-2004). A gauche, valeurs mesurées, à droite, valeurs exprimées en pourcentage du J_{cmax} des feuilles témoin. Les carrés pleins correspondent aux feuilles drapeau (13^e feuille), les triangles, les feuilles de rang 12, les cercles, les feuilles de rang 11.

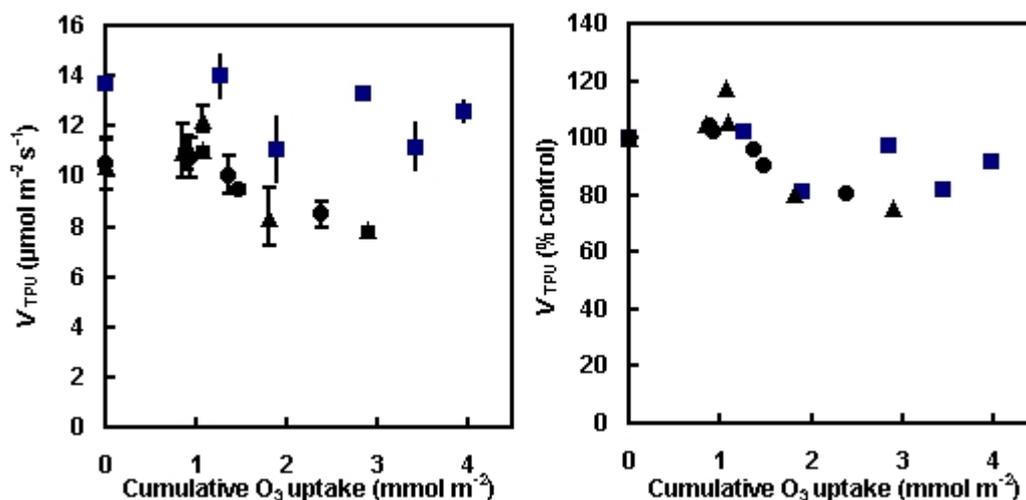


Figure 2.23. Effet de l’ozone sur le paramètre photosynthétique foliaire V_{TPU} des trois dernières feuilles du blé (Expérimentation Grignon 2002-2004). A gauche, valeurs mesurées, à droite, valeurs exprimées en pourcentage du V_{TPU} des feuilles témoin. Les carrés pleins correspondent aux feuilles drapeau (13^e feuille), les triangles, les feuilles de rang 12, les cercles, les feuilles de rang 11.

Les trois paramètres V_{cmax} , J_{max} et V_{TPU} évoluent de la même manière en fonction de la dose d’ozone absorbée par la feuille : ceci indique que des mécanismes de régulation contrôlent probablement les valeurs prises par ces caractéristiques photosynthétiques. Les courbes de réponse observées indiquent que l’ozone ne semble pas avoir d’effet sur ces paramètres tant qu’un seuil (estimé à environ 1.5 mmol.m^{-2}) n’est pas dépassé. Au-delà de ce seuil, les caractéristiques photosynthétiques subissent une réduction qui s’atténue pour tendre vers une valeur égale à environ 80% de celle des plantes non exposées à l’ozone. Cette valeur plateau dépend probablement de la concentration en ozone de l’air. Des expériences complémentaires sont donc nécessaires pour mieux analyser les courbes de réponse des paramètres photosynthétiques du blé à la dose d’ozone absorbée. Comme à Nancy, les résultats obtenus ne montrent pas d’effet de l’ozone sur la respiration à la lumière (Rd) .

2.3.2.2.3 Conclusions

Les résultats des expérimentations menées à Nancy et à Grignon indiquent que les réductions de photosynthèse induites par l’ozone chez les plantes en C3 peuvent (au moins en partie) s’expliquer par des réductions significatives des paramètres photosynthétiques (notamment V_{cmax}), même pour des niveaux d’exposition à l’ozone très modestes. Chez le maïs (plante de type C4), les caractéristiques photosynthétiques foliaires semblent également affectées par l’ozone.

L’étape suivante du travail a consisté à analyser l’origine biochimique de ces réductions de photosynthèse.

2.3.3 Effets de l'ozone sur les pigments associés aux processus photosynthétiques et impacts sur les enzymes-clés de la photosynthèse : Rubisco et PEPc

2.3.3.1 Effets sur les pigments associés aux processus photosynthétiques

2.3.3.1.1 Pigments photosynthétiques du maïs (expérimentation Pau 2002)

L'extraction et la quantification des pigments photosynthétiques foliaires ont été réalisées chez la feuille de rang 5 prélevée sur les jeunes plants de l'expérimentation 1 (en chambre à ciel ouvert à Montardon, voir Annexe 1) et chez la feuille de rang 10 prélevée sur les plants plus âgés de l'expérimentation 2. La chlorophylle a, la chlorophylle b et les caroténoïdes, extraits à l'obscurité, à 4°C, à l'aide d'un mélange hydro-acétonique, ont été dosés par spectrophotométrie. Les teneurs calculées d'après les équations de Lichtenthaler (1987) ont été exprimées en µg de pigment par cm² de feuille extraite.

S'agissant de l'expérimentation 1, il a été possible de constater que l'ajout d'ozone dans l'atmosphère était capable d'accélérer de façon spectaculaire la sénescence des feuilles de rang inférieur (**Fig. 2.24**). Après 33 jours d'exposition (après la levée), les feuilles de rang 2 sont totalement sèches dans les atmosphères enrichies de 40, 60 et 80 ppb d'O₃ alors qu'encore vertes, elles commencent seulement à jaunir en atmosphère de référence. L'observation des feuilles 3 à 8 démontre (i) que le jaunissement induit par l'ozone progresse de l'extrémité distale vers la base de la feuille et (ii) que les gradients de symptômes sont très structurés en fonction du temps d'exposition (plus le rang d'une feuille est élevé, plus elle est apparue tardivement, moins elle a été exposée à l'ozone et plus son apparence est proche de celle d'une feuille témoin) et de la concentration en ozone.

Ainsi l'analyse pigmentaire de la feuille 5 montre très clairement que l'ozone est capable de faire chuter, de façon sensiblement similaire, la teneur en chlorophylle a ($p < 0,001$), en chlorophylle b ($p < 0,001$) et en caroténoïdes ($p < 0,001$) des feuilles (**Tab. 2.3**). Plus précisément, un ajout de 20 ppb d'ozone à l'atmosphère de référence suffit à inférer une chute significative des pigments photosynthétiques d'environ 15% qui va croissante chaque fois que 20 ppb d'O₃ supplémentaires sont rajoutés. Cependant le lien étroit qui existe entre chute pigmentaire et concentration en O₃ n'est plus valable au-delà d'une certaine concentration en ozone. Ainsi l'atmosphère enrichie de 80 ppb d'ozone n'induit pas davantage de chute pigmentaire que celle enrichie de seulement 60 ppb d'ozone.

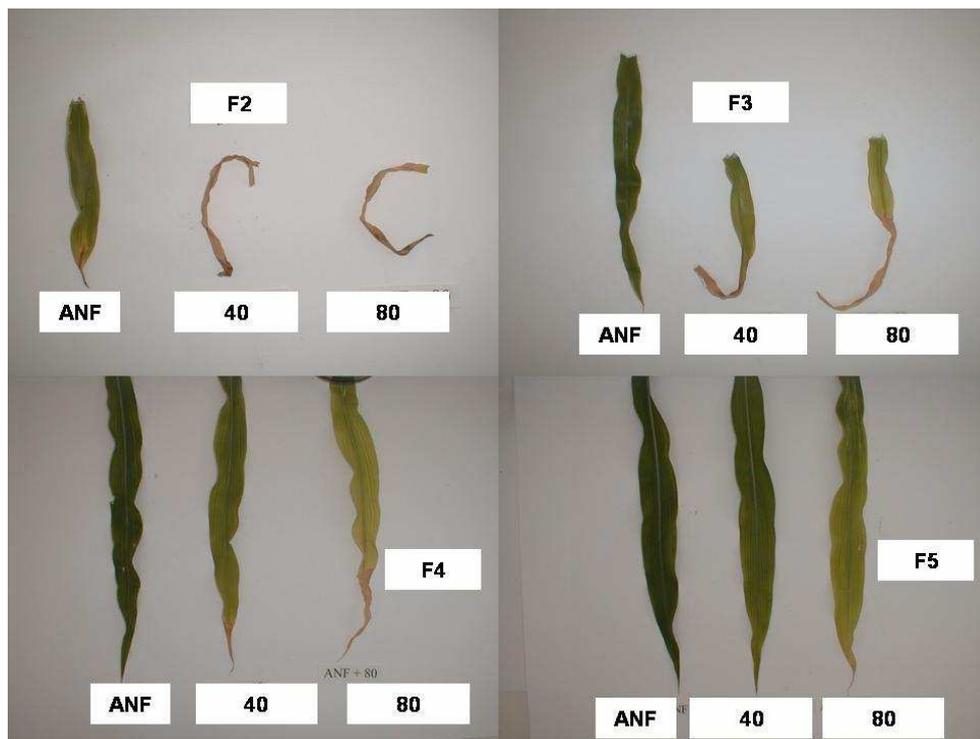


Figure 2.24 : Expérimentation 1 (Pau 2002). Symptômes foliaires observés sur les feuilles de maïs 2, 3, 4 et 5 prélevées dans les différentes atmosphères. ANF, 40, 80 correspondent respectivement aux atmosphères Air Non Filtré, Air Non filtré enrichi de 40 et 80 ppb d'ozone.

Les feuilles de rang inférieur, qui possèdent naturellement une durée de vie moins importante que les feuilles de rang supérieur, constituent donc des modèles pertinents pour étudier l'accélération de la sénescence induite par l'ozone dans le cadre d'une expérimentation de fumigation relativement courte.

		ANF	20	40	60	80	ANOVA
Chlorophylle a	$\mu\text{g.cm}^2$	34,23±0,83	29,22±3,37	22,78±3,68	15,12±2,16	16,87±2,87	***
	Variation	référence	-15%	-33%	-56	-51%	
	NK	a	b	c	d	d	
Chlorophylle b	$\mu\text{g.cm}^2$	13,41±0,45	11,59±0,95	9,79±1,77	7,93±0,9	8,45±0,91	***
	Variation	référence	-14%	-27%	-41%	-37%	
	NK	a	b	c	d	d	
Caroténoïdes	$\mu\text{g.cm}^2$	7,38±0,31	6,31±0,75	5,05±0,59	3,53±0,47	3,54±0,68	***
	Variation	référence	-15%	-32%	-52%	-52%	
	NK	a	b	c	d	d	

Tableau 2.3 : Teneurs en chlorophylles a, b et caroténoïdes des feuilles 5 issues de l'expérimentation 1 et prélevées dans les différentes atmosphères. Les teneurs (moyenne \pm écart type, n=6) sont exprimées en $\mu\text{g.cm}^2$ de feuille. Pour chaque atmosphère, les variations de teneur en pigment, exprimée en %, sont calculées par rapport à l'atmosphère Air Non Filtré (Référence). Résultats de l'ANOVA : *** = P < 0,001. Les moyennes identifiées par les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes au seuil 5% d'après le test de Newman et Keuls (NK). ANF, 20, 40, 60, 80 correspondent respectivement aux atmosphères Air Non Filtré, Air Non filtré enrichie de 20, 40, 60 et 80 ppb d'ozone.

S'agissant de l'expérimentation 2, les chlorophylles a, b ainsi que les caroténoïdes totaux ont été dosés dans la feuille de rang 10. Cette feuille qui a poursuivi son développement pendant la période d'exposition ne possédait pas, au moment de la récolte, de symptômes chlorotiques visibles réellement détectables à l'œil nu. Les teneurs en pigments, exprimées en $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ de feuille, sont présentées dans le **tableau 2.4**. Comme dans le cas de la feuille 5, l'ozone a un effet très hautement significatif sur les teneurs foliaires en chlorophylles a ($p < 0,001$) et b ($p < 0,001$). Cependant, cet effet est plus complexe que celui observé dans le cas des feuilles 5 étudiées dans le cadre de la 1^{ère} expérimentation. En effet, il apparaît très nettement que des ajouts modérés d'ozone (+ 20 à + 40 ppb) sont capables de fortement stimuler l'accumulation des chlorophylles alors que des ajouts plus importants (+ 80 ppb) favorisent la chute de leur teneur. Ainsi, par comparaison avec l'atmosphère témoin ANF, un ajout de 40 ppb d'ozone fait augmenter significativement, chez la feuille de rang 10, les teneurs en chlorophylles a et b d'environ 38% et 33% alors qu'un ajout de 80 ppb provoque une perte pour ces mêmes pigments de 24% et 11%. La chlorophylle b paraît moins sensible aux fortes concentrations en ozone. La réponse des caroténoïdes au polluant est similaire à celle observée pour les chlorophylles : comparativement à l'atmosphère témoin (ANF), il existe une stimulation significative d'environ 29% de l'accumulation des caroténoïdes totaux chez les feuilles issues de l'atmosphère ANF+40 alors qu'une perte significative d'environ 26% est constatée en ANF+80.

Par ailleurs, les effets induits sont de même intensité pour chacune des deux classes pigmentaires (chlorophylles et caroténoïdes). En effet, le rapport « chlorophylles totales (a+b) / caroténoïdes totaux » qui est en moyenne de 5,3 en atmosphère témoin ANF n'est pas significativement perturbé par l'augmentation de la concentration en ozone.

		ANF	20	40	60	80	ANOVA
Chlorophylle a	$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^2$	48,30±3,36	55,25±3,51	66,45±7,78	50,34±2,43	36,73±4,55	***
	Variation	référence	+14%	+38%	+4%	-24%	
	NK	c	B	a	bc	d	
Chlorophylle b	$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^2$	15,29±1,08	16,72±1,21	20,34±1,86	16,60±1,18	13,55±1,21	***
	Variation	référence	+9%	+33%	+9%	-11%	
	NK	b	B	a	b	c	
Caroténoïdes	$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^2$	11,98±0,77	12,98±0,68	15,43±1,33	12,46±0,98	8,92±0,96	***
	Variation	référence	+8%	+29%	+4%	-26%	
	NK	b	B	a	b	c	

Tableau 2.4 : Teneurs en chlorophylles a, b et caroténoïdes des feuilles 10 issues de l'expérimentation 2 et prélevées dans les différentes atmosphères. Les teneurs (moyenne \pm écart type, $n=6$) sont exprimées en $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ de feuille. Pour chaque atmosphère, les variations de teneur en pigment, exprimée en %, sont calculées par rapport à l'atmosphère Air Non Filtré (Référence). Résultats de l'ANOVA : *** = $P < 0,001$. Les moyennes identifiées par les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes au seuil 5% d'après le test de Newman et Keuls (NK). ANF, 20, 40, 60, 80 correspondent respectivement aux atmosphères Air Non Filtré, Air Non filtré enrichie de 20, 40, 60 et 80 ppb d'ozone.

2.3.3.1.2 Comparaison des impacts de l'ozone sur les chlorophylles du Peuplier et du Maïs (expérimentation Nancy 2003-2004)

Les teneurs en chlorophylles totales ont été mesurées juste avant les mesures de photosynthèse sur les mêmes feuille, au moyen d'un chlorophyll-meter (SPAD) étalonné par des dosages biochimiques des chlorophylles au DMSO.

Chez le peuplier (C3), la teneur en pigments chlorophylliens augmente très légèrement jusqu'au jour 16 puis elle commence à baisser au jour 26 (Figure 2.25). La concentration en chlorophylles est plus forte dans les feuilles plus âgées (F10), mais il n'y a pas de différences entre les peupliers témoins et les peupliers soumis à de l'ozone. Sauf pour la feuille 10 et seulement au 15^{ème} jour, la valeur pour les plants fumigés est plus importante que celle des témoins.

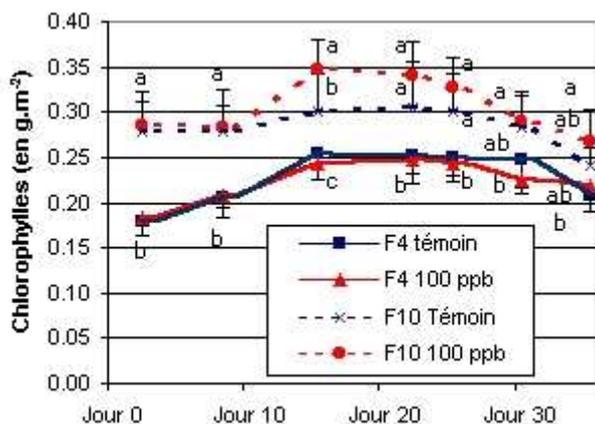


Figure 2.25 : Expérimentation Nancy 2003-2004 : Evolution de la teneur en chlorophylles totales des feuilles de peupliers exposés ou non à 100 ppb.

Chez le maïs : au niveau de la feuille 5, on constate au cours de l'expérience que la teneur en chlorophylles totales augmente légèrement dans les chambres témoins, qu'elle reste constante dans les chambres à 40 ppb d'ozone et qu'elle baisse dans les chambres à plus 80 ppb (Figure 2.26). Dans les chambres à 80 ppb la différence avec les chambres témoin est significative à partir du 17^{ème} jour, pour les chambres à 40 ppb la différence est significative à partir du jour 20. Plus la concentration en ozone est forte plus la teneur en chlorophylle est faible

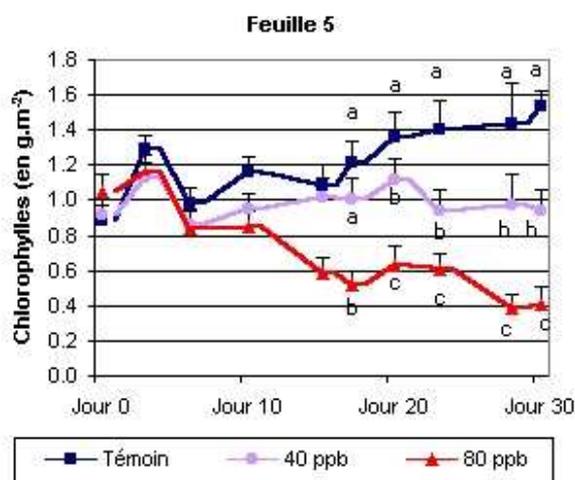


Figure 2.26 : Evolution des teneurs en chlorophylles totales de la feuille 5 du maïs au cours de l'exposition à différents niveaux d'ozone de l'air (expérimentation Nancy 2003-2004)

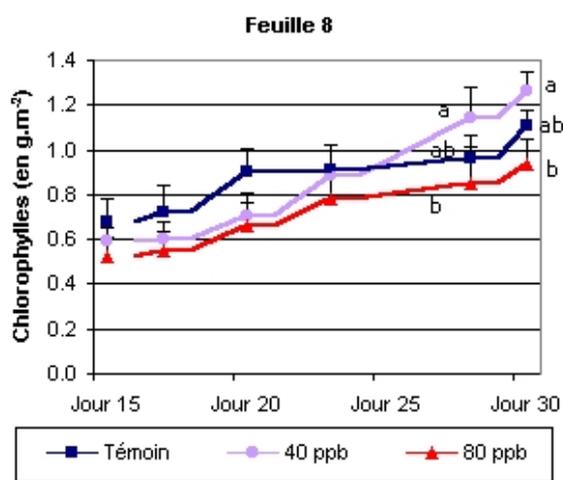


Figure 2.27 : Evolution des teneurs en chlorophylles totales de la feuille 8 du maïs au cours de l'exposition à différents niveaux d'ozone de l'air (expérimentation Nancy 2003-2004)

Pour la feuille 8, la quantité de chlorophylles est identique dans toutes les chambres et elle augmente au cours de l'expérience (Figure 2.27). On remarque que les deux derniers points des chambres à 40 ppb augmentent plus rapidement que les points des autres chambres et on a une différence avec les chambres à 80 ppb, mais pas avec les chambres témoin.

2.3.3.1.3 Impacts de l'ozone sur la sénescence apparente du blé (expérimentation Grignon 2002-2004)

L'exposition des plantes à 100 ppb pendant 6 heures par jour pendant 3, 5 ou 8 jours n'a pas d'effet significatif sur la teneur en chlorophylle des feuilles mesurée un ou deux jours après la fumigation (**figure 2.28**). Le délai entre la fumigation et la mesure des teneurs en chlorophylles était trop court pour que des effets puissent être observés.

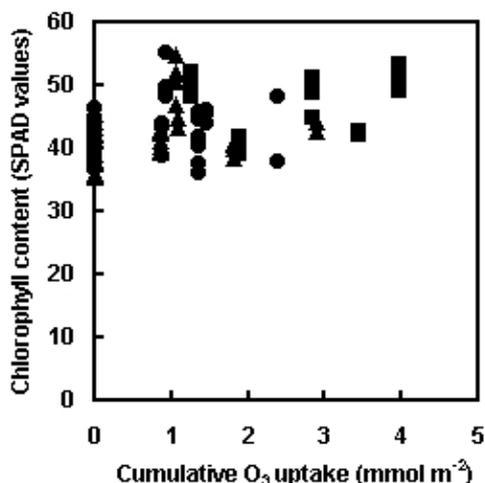


Figure 2.28 : Expérimentation Grignon 2002-2004 : teneur en chlorophylles totales des feuilles de blé 1 ou 2 jours après l'exposition à l'ozone.

Un suivi de la sénescence apparente des feuilles a également été effectué au moyen de photographies des feuilles et un traitement numérique des images permettant de distinguer la surface verte de la surface jaune de chaque feuille (**fig. 2.29**). Cette étude a conduit à la conclusion que les fumigations à l'ozone n'ont pas eu d'effet significatif sur la sénescence foliaire apparente du blé, mais cette étude très simple ne permet pas de savoir si les processus biochimiques et physiologiques de la sénescence ont été différents entre les traitements. L'absence d'effet sur la surface verte n'est en effet pas une preuve suffisante pour conclure à une absence d'effet sur la sénescence au sens physiologique du terme.

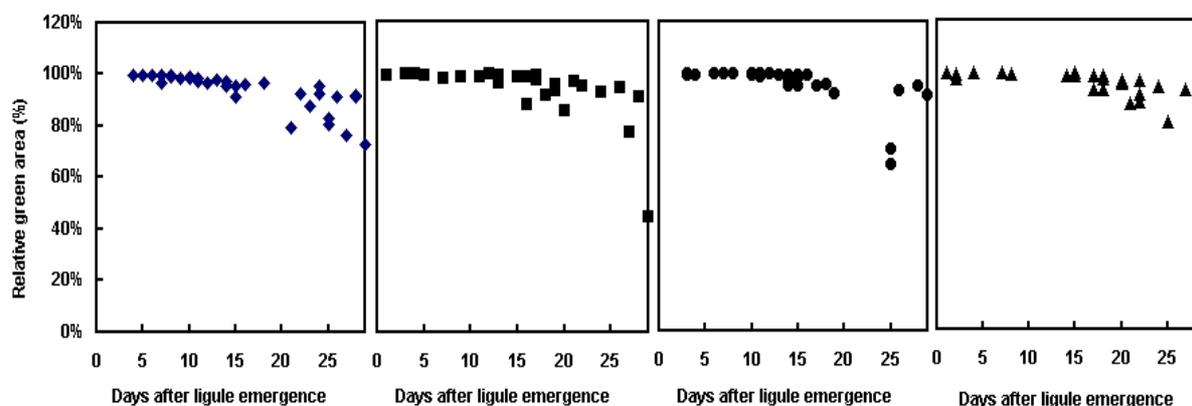


Figure 29 : Evolution du pourcentage de surface verte des feuilles de blé au cours du temps après (de gauche à droite) 0, 3, 5 ou 8 jours de fumigation à 100 ppb d'ozone à raison de 6h d'exposition par jour (expérimentation Grignon 2002-2004)

2.3.3.1.4 Conclusions

Les résultats obtenus à Pau et à Nancy sur les jeunes feuilles indiquent que l'exposition à l'ozone accélère la sénescence du maïs. Les analyses pigmentaires mettent en évidence des différences entre les types métaboliques C3 et C4.

Apparemment, de faibles expositions à l'ozone accroissent la teneur en chlorophylles des feuilles de rang 8 du maïs, alors qu'elles provoquent une légère diminution de cette teneur chez les feuilles de rang 5 et les feuilles des plantes en C3. Ceci indique que l'ozone pénètre bien dans les feuilles de maïs malgré les faibles valeurs de conductance stomatique mesurées. Ainsi, le maïs ne serait pas aussi tolérant que les précédentes études ne le laissaient paraître. Il se pourrait même qu'il soit plus sensible que le peuplier, car pour une même quantité de polluant absorbée, il subit davantage de dommages.

Chez les plantes en C3, l'ozone provoque une diminution de la teneur en chlorophylle des feuilles, ce qui devrait se traduire par une diminution du paramètre J_{max} . L'absence d'accélération de sénescence apparente sur le blé en chambre de culture à Grignon est plutôt en contradiction avec les données disponibles dans la littérature et les observations de terrain. Une explication pourrait être que dans nos conditions expérimentales (fortes teneurs en azote des feuilles et niveaux d'éclairement faibles), l'effet sur les chlorophylles est retardé par rapport aux conditions naturelles.

Des études approfondies visant notamment à comparer le blé et le maïs devraient permettre de mieux comprendre les différences observées entre ces types métaboliques.

2.3.3.2 Effets sur les enzymes clé de la photosynthèse

Compte tenu des différences physiologiques existant entre les espèces C3 et C4, une importante partie du travail a porté sur deux enzymes :

La ribulose 1,5 bisphosphate carboxylase/oxygénase (RubisCo), enzyme chloroplastique de fixation du carbone. C'est l'enzyme primaire de la carboxylation chez les C₃ (blé, peuplier). Chez les C4 (maïs), cette enzyme est présente dans le stroma des chloroplastes des cellules qui composent la gaine périvasculaire, elle est responsable de la carboxylation secondaire autotrophique.

La Phosphoénolpyruvate carboxylase (PEPc), enzyme cytosolique présente dans les cellules mésophylliennes et impliquée dans un shunt de la glycolyse. Cette enzyme est très secondaire chez les C₃ mais est l'enzyme primaire de fixation du carbone (carboxylation) au niveau des cellules mésophylliennes des plantes de type C₄ (maïs).

Au cours des dernières années un comportement métabolique caractéristique a été mis en évidence par l'équipe de Nancy sur plusieurs espèces d'arbres forestiers soumis à une fumigation réaliste par l'ozone (100 à 200 ppb) : diminution de l'activité de la RubisCo et augmentation forte de l'activité d'une autre carboxylase, cytosolique celle-ci, la PEPc. Ainsi, une étude préliminaire sur du peuplier (*Populus tremula x alba*) a permis de montrer que la fumigation par l'ozone entraînait une augmentation d'activité de la PEPc.

C'est pourquoi l'objectif principal du travail mené sur cet axe a été de comprendre les mécanismes modifiés de la fixation du carbone en relation avec les doses absorbées d'ozone en comparant des espèces appartenant aux deux principaux types de plantes, C₃ et C₄.

2.3.3.2.1 Comparaison Peuplier (C3) / maïs (C4) (Expérimentation Nancy 2003-2004)

Chez le peuplier (C3)

RubisCO : Pour les deux rangs de feuilles, l'activité RubisCO baisse au cours de l'expérience, ce qui est dû au vieillissement des feuilles (Figure 2.30). Par contre on remarque que l'activité RubisCO chute plus fortement chez les peupliers ozonés. Pour la feuille 4 ce n'est qu'une tendance, mais pour la feuille 10 la diminution de l'activité des plants traités par rapport à celle des témoins est significativement différente.

PEPc : Pour les témoins, l'activité de la PEPc diminue au cours du temps dans les feuilles matures et elle augmente dans les plus jeunes feuilles (Figure 2.31). Dans les deux cas, au bout de 35 jours, on observe une stimulation importante de l'activité PEPc chez les plants soumis à l'ozone. L'activité PEPc augmente d'un facteur trois par rapport au témoin.

Rapport PEPc sur RubisCO : chez les plants témoins, il augmente légèrement en fin d'expérience, ce qui est normal puisque l'activité RubisCO baisse (Figure 2.32). Par contre pour les peupliers soumis à 100 ppb d'ozone, on observe une augmentation du rapport qui est beaucoup plus forte que celle des témoins, ce qui est normal car l'activité de la RubisCO diminue un peu et celle de la PEPc augmente.

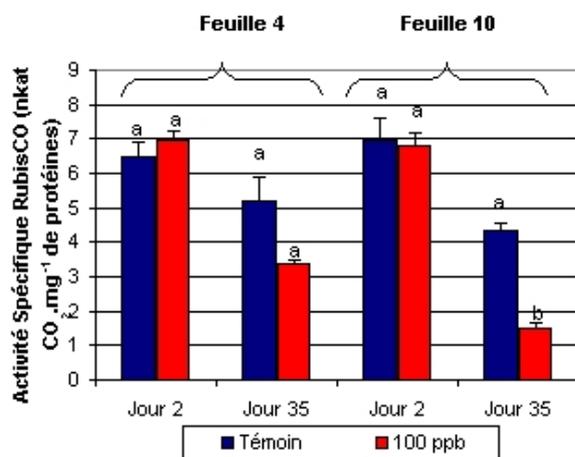


Figure 2.30 : Expérimentation Nancy 2003-2004 : variation de l'activité Rubisco chez les feuilles 4 et 10 du peuplier après 2 et 35 jours de fumigation à 100 ppb.

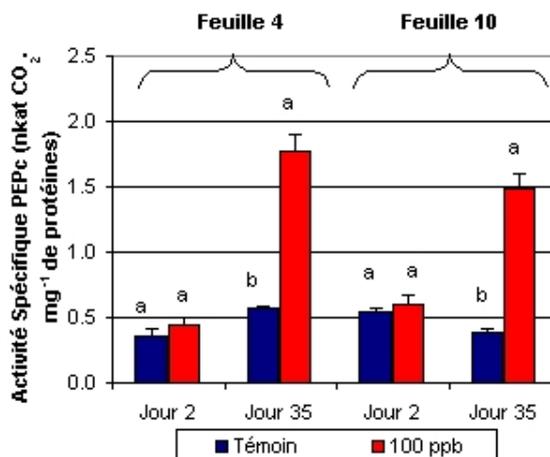


Figure 2.31 : Expérimentation Nancy 2003-2004 : variation de l'activité PEPc chez les feuilles 4 et 10 du peuplier après 2 et 35 jours de fumigation à 100 ppb.

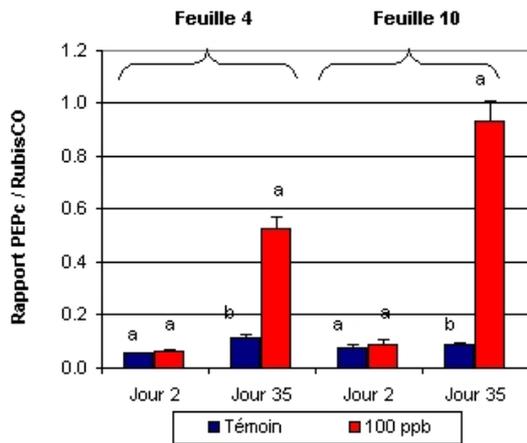


Figure 2.32 : Expérimentation Nancy 2003-2004 : variation du rapport des activités PEPc/RubisCO chez les feuilles 4 et 10 du peuplier après 2 et 35 jours de fumigation à 100 ppb.

Ainsi, chez le peuplier l’ozone a un effet néfaste sur l’activité RubisCO et provoque une augmentation de la PEPc.

Chez le maïs (C4)

RubisCO : On observe une légère augmentation de l’activité RubisCO au fur et à mesure que les feuilles 5 et 8 vieillissent (**Figures 2.33 et 2.34**). L’activité RubisCO de la feuille 5 commence à être plus faible que celle des plants sans traitement ozone, au bout de 20 jours pour les plants des chambres à 80 ppb d’ozone et au bout de 30 jours pour les plants à 40 ppb. En ce qui concerne la feuille 8 seule l’activité dans les chambres à 80 ppb est plus faible que celle des chambres témoins.

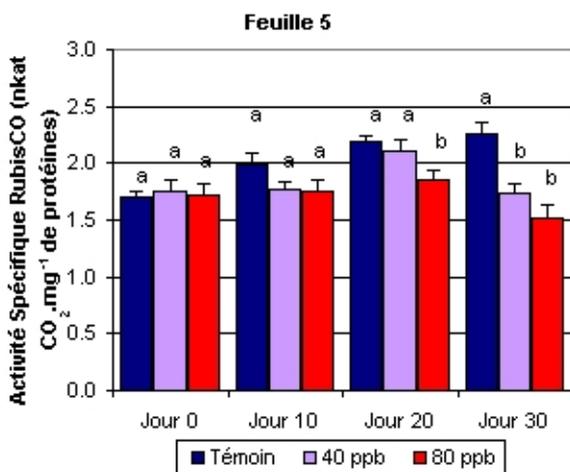


Figure 2.33 : Variation de l’activité RubisCO de la feuille 5 du maïs au cours de l’exposition à différents niveaux d’ozone de l’air (expérimentation Nancy 2003-2004)

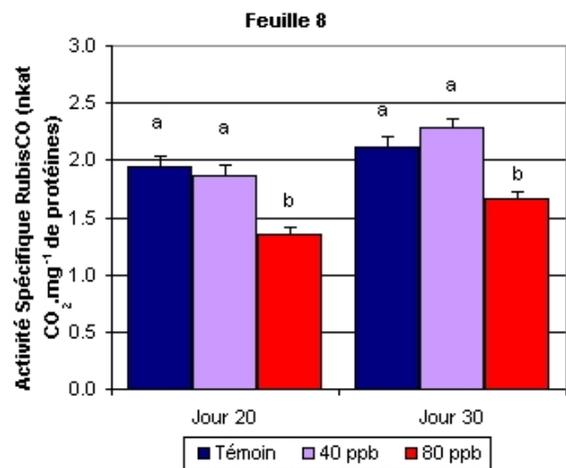


Figure 2.34 : Variation de l’activité RubisCO de la feuille 8 du maïs au cours de l’exposition à différents niveaux d’ozone de l’air (expérimentation Nancy 2003-2004)

PEPc : L’activité PEPc diminue avec le vieillissement des feuilles (**Figures 2.35 et 2.36**). Pour la feuille numéro 5, on remarque une baisse de l’activité PEPc entre les témoins et les plants à 80 ppb dès le 10^{ème} jour. Et à partir du jour 30, il y a également cette baisse d’activité entre les plants témoins et les plants soumis à 40 ppb. Avec la feuille 8, la chute d’activité entre témoins et 80 ppb ne se fait qu’à partir du jour 30 et on ne perçoit pas de différence entre témoins et 40 ppb.

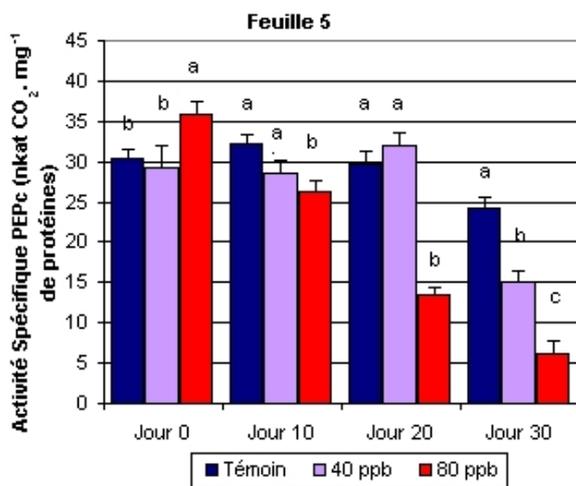


Figure 2.35 : Variation de l'activité PEPc de la feuille 5 du maïs au cours de l'exposition à différents niveaux d'ozone de l'air (expérimentation Nancy 2003-2004)

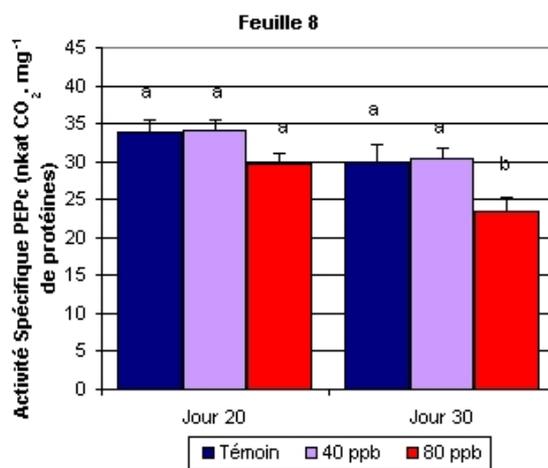


Figure 2.36 : Variation de l'activité PEPc de la feuille 8 du maïs au cours de l'exposition à différents niveaux d'ozone de l'air (expérimentation Nancy 2003-2004)

Ainsi, chez le maïs, l'ozone provoque une baisse importante de l'activité PEPc et une baisse moindre de l'activité RubisCO.

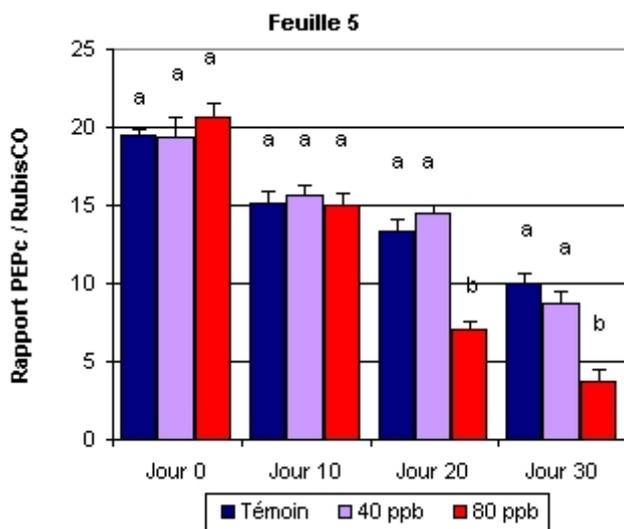


Figure 2.37 : Variation du rapport des activités PEPc/RubisCO de la feuille 5 du maïs au cours de l'exposition à différents niveaux d'ozone de l'air (expérimentation Nancy 2003-2004)

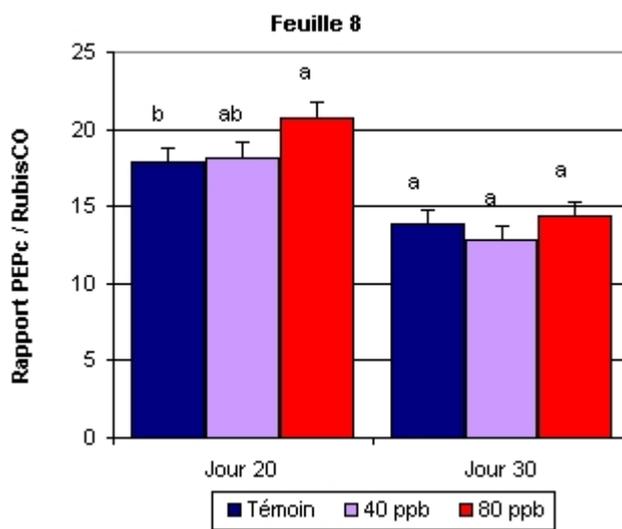


Figure 2.38 : Variation du rapport des activités PEPc/RubisCO de la feuille 8 du maïs au cours de l'exposition à différents niveaux d'ozone de l'air (expérimentation Nancy 2003-2004)

2.3.3.2.2 Analyse des effets de l'ozone sur les activités PEPc et RubisCO du maïs (Expérimentation Montardon 2002)

Le détail des techniques utilisées est présenté en annexe 1.

L'ozone est, à certaines concentrations, capable d'induire une réduction significative des activités spécifiques de carboxylation de la Rubisco et de la PEPc chez la feuille 5 comme chez la feuille 10 (tableaux 2.5).

		Expérimentation 1 : feuille 5					
		ANF	20	40	60	80	ANOVA
Activité PEPc (nKat/mg de protéines totales)		37,36±11,51	33,85±8,91	38,63±3,85	27,78±2,52	25,48±4,54	*
	Variation	référence	-9%	+3%	-26%	-32%	
	ANOVA	a	ab	a	ab	b	
Teneur en PEPc (%)		15,93±3,29	14,53±1,48	15,06±2,94	10,93±1,82	9,42±2,60	***
	Variation	référence	-9%	-5%	-31%	-41%	
	ANOVA	a	a	a	b	b	
Activité Rubisco (nKat/mg de protéines totales)		2,27±0,27	2,63±0,32	2,39±0,36	1,74±0,27	1,77±0,17	***
	Variation	référence	+15%	+5%	-23%	-22%	
	ANOVA	a	a	a	b	b	
Teneur en Rubisco (%)		32,24±2,89	28,82±3,01	30,73±4,97	22,76±1,20	22,15±2,24	***
	Variation	référence	-11%	-5%	-29%	-31%	
	ANOVA	a	a	a	b	b	

		Expérimentation 2 : feuille 10					
		ANF	20	40	60	80	ANOVA
Atmosphères		60,70±22,38	70,68±12,07	52,27±14,57	50,32±6,81	31,13±5,97	***
	Variation	référence	+16%	-14%	-17%	-49%	
	ANOVA	a	a	a	a	b	
Teneur en PEPc (%)		12,99±2,58	15,69±2,33	15,35±2,43	14,28±2,59	11,13±2,98	*
	Variation	référence	+21%	+18%	+10%	-14%	
	ANOVA	ab	a	a	ab	b	
Activité Rubisco (nKat/mg de protéines totales)		2,44±0,33	2,73±0,28	2,43±0,14	2,22±0,19	1,96±0,33	***
	Variation	référence	+12%	-1%	-9%	-20%	
	ANOVA	ab	a	ab	bc	c	
Teneur en Rubisco (%)		37,29±2,90	40,84±5,73	44,66±6,44	43,53±4,45	34,61±6,61	*
	Variation	référence	+9%	+20%	+17%	-7%	
	ANOVA	ab	ab	a	a	a	

Tableaux 2.5 : Activités et teneurs relatives (en pourcentage des protéines précipitées au sulfate d'ammonium) de la PEPc et de la Rubisco (moyenne ± écart type, n=6) mesurées dans les extraits protéiques des feuilles 5 et 10 prélevées dans les différentes atmosphères. ANF, 20, 40, 60, 80 correspondent respectivement aux atmosphères Air Non Filtré, Air Non filtré enrichie de 20, 40, 60 et 80 ppb d'ozone. Les variations d'activité et de teneurs sont calculées par rapport à l'atmosphère Air Non Filtré (Référence). Résultats de l'ANOVA : * = P < 0,05, *** = P < 0,001. Les moyennes identifiées par les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes au seuil 5% d'après le test de Newman et Keuls.

Chez les deux feuilles, l'activité de la Rubisco a tendance à être légèrement stimulée par un ajout de 20 ppb d'O₃ avant d'être réduite par les atmosphères les plus riches en ozone. Quelle que soit la feuille (5 ou 10) les ordres de grandeur de ces variations demeurent les mêmes : la

stimulation constatée en ANF+20 est légèrement supérieure à 10% alors que la réduction maximum d'activité mesurée en ANF+80 est de l'ordre de 20%. Cette réduction significative d'activité n'existe, chez la feuille 10, qu'en ANF+80 alors qu'elle est également mesurée chez la feuille 5 en ANF+60. Ce résultat n'est pas surprenant dans la mesure où il a déjà été montré que les atmosphères ANF+60 et ANF+80 induisaient, chez la feuille 5, des réductions pigmentaires de même amplitude.

Au regard des feuilles 5 et 10, il apparaît assez clairement que seules les variations d'activité de Rubisco supérieures à 20% peuvent s'expliquer par des variations de teneurs relatives en Rubisco. Ainsi dans le cas de la feuille 5, les chutes d'activité enregistrées en ANF+60 et ANF+80 peuvent s'expliquer par des diminutions de teneurs en Rubisco d'amplitude comparable. Les distorsions que connaît la relation teneur / activité pour les variations les plus faibles peuvent s'expliquer de différentes manières. Elles pourraient traduire (i) des limites méthodologiques dans la mesure où ces faibles variations correspondraient à nos incertitudes de travail et/ou (ii) l'idée selon laquelle une enzyme présente n'est pas nécessairement active dans la mesure où l'activité peut être régulée par des facteurs non enzymatiques internes ou externes et/ou par d'autres enzymes pouvant elles même être sous la dépendance de ces mêmes facteurs. De tels phénomènes de régulation seraient alors susceptibles de moduler finement l'activité de l'enzyme indépendamment des modifications de synthèse et/ou de dégradation qui ajusteraient la réponse dans le cas de contraintes environnementales plus fortes. Ainsi, l'étude de l'activité de la Rubisco activase, elle aussi soumise au polluant, pourrait peut être permettre d'élucider les faibles variations d'activité mesurées.

Quoi qu'il en soit, la réduction d'activité (-20%) mesurée chez la feuille 10 prélevée en ANF+80 ne peut être attribuée à une altération oxydative de la structure de l'enzyme : les valeurs d'absorbance enregistrées en ANF+80 restent beaucoup trop faibles (proche du seuil de détection) pour pouvoir témoigner avec sécurité d'une augmentation réelle du nombre de groupements carbonyle sur l'enzyme (Fig. 2.39).

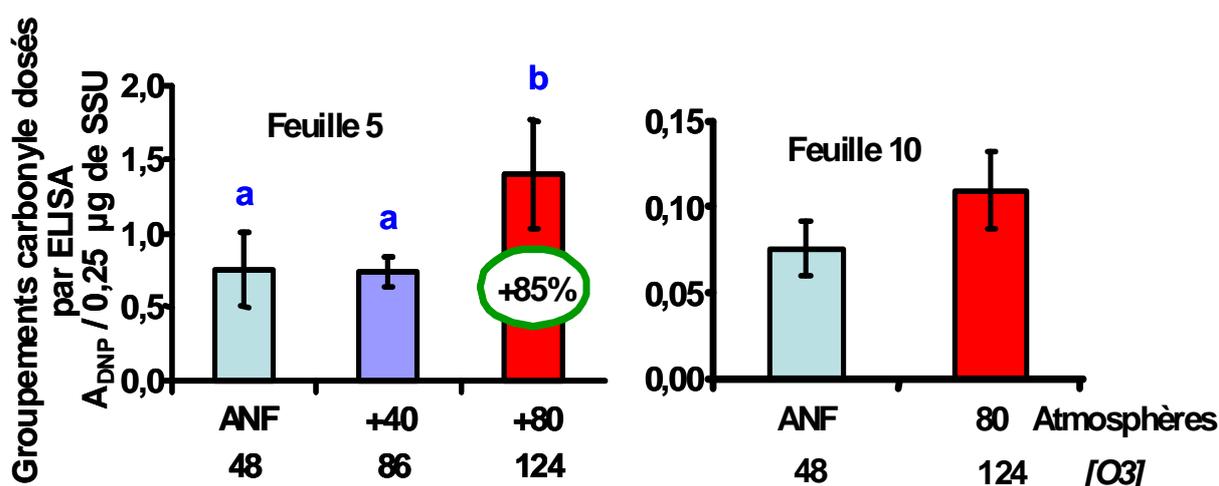


Figure 2.39 : Altération oxydative de la petite sous-unité de la Rubisco (DO_{DNP}) pour une unité arbitraire (0,25 µg) de SSU (valeurs moyennes \pm écart-type, $n=6$) dans le cas de la feuille 5 issue de l'expérimentation 1 et de la feuille 10 issue de l'expérimentation 2. ANF, 40, 80 correspondent respectivement aux atmosphères Air Non Filtré, Air Non filtré enrichie de 40 et 80 ppb d'ozone. (Expérimentation Pau 2002)

L'étude de la feuille 5 montre qu'une réduction d'activité comparable (-22%) peut néanmoins être accompagnée d'une augmentation statistiquement significative du nombre de groupements carbonyle présents sur l'enzyme (**Fig. 2.39**). La comparaison entre ces deux situations ne plaide pas en faveur d'une relation de cause à effet entre altération oxydative et perte d'activité. En revanche, ce résultat renforce l'idée, suggérée chez le haricot (Leitao *et al.* 2003), selon laquelle l'altération oxydative de la Rubisco est un événement tardif qui révèle l'existence de désordres métaboliques importants toujours associés à la présence de symptômes foliaires visibles. S'ils peuvent être envisagés chez la feuille 5 de l'atmosphère ANF+80 au vu de son aspect général et de sa pigmentation, de tels désordres ne sont pas d'actualité chez la feuille 10 qui, à l'œil nu, ne paraissait pas avoir souffert outre mesure d'une augmentation de 80 ppb d'ozone. Même si l'analyse pigmentaire a démontré par la suite que l'œil nu n'était pas l'outil le plus performant pour détecter une légère perte pigmentaire, force est de constater qu'en ANF+80 la chute pigmentaire mesurée chez la feuille 5 était très supérieure à celle enregistrée chez la feuille 10.

Si l'activité spécifique de la Rubisco mesurée en ANF est identique chez les feuilles 5 et 10 (environ 2,3 nkat.mg⁻¹ de protéines), pour cette même atmosphère témoin, l'activité de la PEPc est quant à elle supérieure de 60% chez la feuille 10 comparativement à la feuille 5. La faible activité de carboxylation de la PEPc mesurée chez les feuilles 5 "témoin" peut rendre compte soit d'un processus de sénescence naturel déjà largement engagé soit alors d'un faible potentiel photosynthétique sachant que cette feuille est souvent désignée comme la première feuille réellement autotrophe (autrement dit dont le développement est indépendant des réserves de la graine). Dans tous les cas, les effets de l'ozone sur l'activité de la PEPc sont davantage marqués chez la feuille 10 : une stimulation d'amplitude comparable à celle mesurée pour la Rubisco est détectée en ANF+20 alors que des réductions d'activité de 14, 17 et 49% sont enregistrées dans les atmosphères enrichies respectivement de 40, 60 et 80 ppb d'O₃. En ANF+80, l'activité de la PEPc des feuilles 10 est deux fois plus réduite que ne l'est celle de la Rubisco. S'agissant de la feuille 5, l'activité de la PEPc demeure insensible aux enrichissements de 20 et 40 ppb d'O₃ alors qu'elle est réduite pour des enrichissements de 60 et 80 ppb d'O₃. Si ces réductions sont supérieures à celles mesurées pour la Rubisco, elles n'en demeurent pas moins inférieures à celles enregistrées pour la feuille 10. Comme pour la Rubisco, les pertes d'activité PEPc supérieures à 20% peuvent s'expliquer, chez la feuille 5, par des chutes de teneurs en enzyme alors que dans le cas de la feuille 10, la relation entre variation d'activité et teneur en enzyme n'est pas toujours très claire même si une fois encore la chute d'activité de 49% enregistrée en ANF+80 pourrait s'expliquer, au moins en partie, par une chute de teneur en enzyme.

2.3.3.2.3 Conclusions

Les données obtenues à Nancy sur le peuplier confirment des résultats déjà connus dans la littérature. Sous l'effet de l'ozone, l'activité RubisCO diminue et l'activité PEPc augmente. On est en droit de se demander si la perte de l'activité RubisCO est compensée par la forte augmentation de la PEPc. En fait il n'est pas du tout prouvé que la PEPc de plantes C3 puisse fonctionner comme celle des C4 en fixant directement le CO₂ atmosphérique. De plus la PEPc discrimine moins le ¹³C que la RubisCO (Farquhar, 1983 ; Roeske et O'Leary, 1984). Or au niveau de la discrimination isotopique on ne remarque pas de différence significative, alors que l'activité PEPc, qui représente en temps normal environ 10 % de l'activité RubisCO, passe sous ozone entre 60 et 90 % de l'activité RubisCO. Si la PEPc des C3 fonctionnait en carboxylase directe suite à un stress du à l'ozone, on aurait vu une différence au niveau du delta ¹³C. La PEPc augmente sous stress oxydatif car on a une activation du processus

respiratoire de dégradation catabolique afin de mettre en place des mécanismes de détoxification.

Chez le maïs, l'ozone provoque également une baisse de l'activité RubisCO. Celle-ci est affectée de 33 à 66% chez les C3, alors qu'elle est réduite de 22 à 33 % pour le maïs (résultats Nancy 2003-2004). Au premier abord, on pourrait penser que le maïs est moins sensible que le peuplier, mais il faut également tenir compte du fait que la conductance stomatique du maïs est plus faible que celle du peuplier. Ainsi, nous avons réalisé des courbes de flux d'entrée de l'ozone dans les plantes (**Figures 2.40, 2.41 et 2.42**). Pour une même dose d'ozone reçue le maïs présente des baisses de photosynthèse et d'activité RubisCo plus importantes que le peuplier. En ce qui concerne la PEPc le contraste est frappant entre une forte augmentation chez le peuplier et une baisse très marquée chez le maïs.

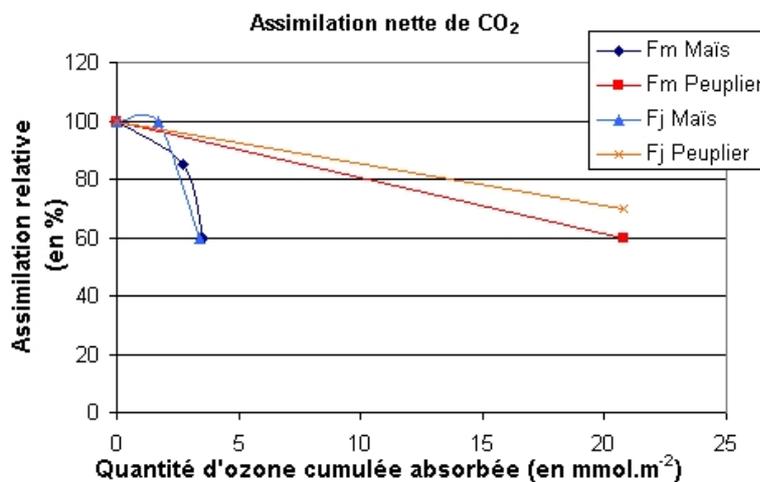


Figure 2.40 : Assimilation nette du maïs et du peuplier en fonction de la dose d'ozone absorbée (expérimentation Nancy 2003-2004)

Néanmoins, dans tous les cas, il semblerait que les fortes concentrations en ozone affectent davantage la PEPc que la Rubisco. Cette observation peut logiquement s'expliquer par la localisation cellulaire et la compartimentation intracellulaire de chacune des enzymes. En effet, la PEPc localisée dans le cytosol des cellules de la couche du mésophylle paraît a priori plus offerte à l'impact de l'ozone que la Rubisco localisée dans les chloroplastes des cellules de la gaine périvasculaire qui sont davantage protégées car entourées elles-mêmes par les cellules de la couche du mésophylle.

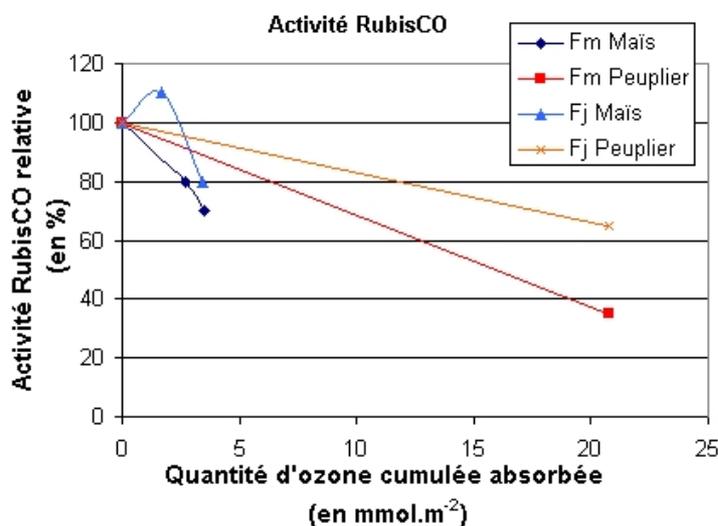


Figure 2.41 : Activités RubisCO du maïs et du peuplier en fonction de la dose d'ozone absorbée (expérimentation Nancy 2003-2004)

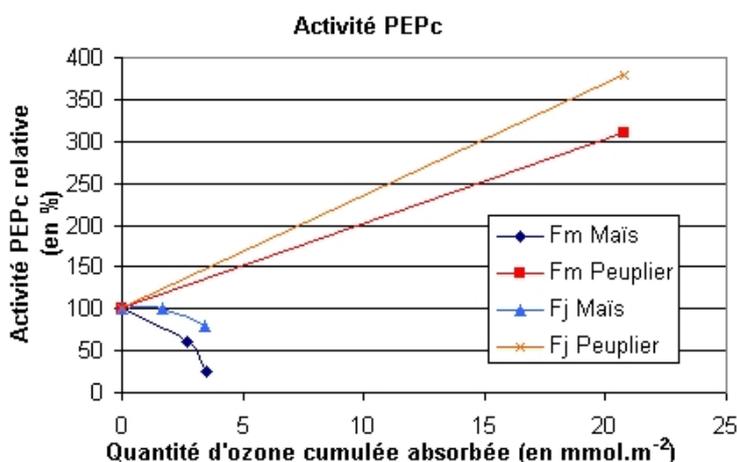


Figure 2.42 : Activités PEPc du maïs et du peuplier en fonction de la dose d'ozone absorbée (expérimentation Nancy 2003-2004)

A notre connaissance, il n'existe pas de littérature spécifique concernant les effets de l'ozone sur le métabolisme photosynthétique C₄. Globalement, durant les expérimentations, les plants de maïs ont plutôt bien résisté aux différentes atmosphères éprouvées, y compris aux atmosphères les plus riches en ozone. Néanmoins, les résultats obtenus au cours de l'expérimentation Pau 2002 montrent que l'ozone, suivant sa concentration, peut stimuler ou ralentir les phases claire et sombre de la photosynthèse (C₄) des feuilles de maïs. Si un effet délétère des fortes concentrations en ozone (ANF+60 et ANF+80) sur la pigmentation foliaire et les activités de PEPc et de Rubisco a pu être détecté chez les feuilles de rang 5 et 10, la stimulation de ces mêmes critères sous l'effet d'un stress modéré à l'ozone vaut surtout pour la feuille 10.

S'il est probable que l'augmentation de la teneur en pigments constatée chez les feuilles 10 dans les atmosphères faiblement enrichies reflète une stimulation de la biosynthèse, la forte réduction constatée à forte concentration d'ozone correspondrait davantage à une destruction oxydative de ces pigments par des espèces actives de l'oxygène issues plus ou moins directement de la décomposition de l'ozone.

La stimulation pigmentaire peut être considérée comme une réponse adaptée au stress à l'ozone dans la mesure où elle pourrait favoriser l'activité de la phase claire et permettre ainsi l'augmentation de synthèse de pouvoir réducteur (NADPH, H⁺) nécessaire au fonctionnement des processus de détoxification et de réparation mis en place par la feuille pour lutter contre les effets néfastes du polluant. A l'opposé, la destruction pigmentaire, en réduisant la performance de la phase claire, peut pénaliser l'ensemble du processus photosynthétique et donc à terme le rendement.

Certaines des variations d'activité de carboxylation que nous avons mesurées pourraient s'expliquer en partie par des variations de teneurs des enzymes concernées. Si la tendance à l'augmentation de la teneur relative en Rubisco et en PEPc peut s'expliquer naturellement par une stimulation de la biosynthèse, la tendance à la diminution observée en ANF+80 peut résulter soit d'une inhibition de la biosynthèse au niveau transcriptionnel et/ou traductionnel soit d'une augmentation du taux de protéolyse. Quoi qu'il en soit, nous avons pu montrer qu'une stimulation de teneur n'est pas toujours suivie d'une stimulation d'activité pas plus d'ailleurs qu'une diminution d'activité est obligatoirement la conséquence d'une chute de teneur. Il est donc évident que d'autres systèmes de régulation (enzymatiques ou non), vraisemblablement sensibles à l'ozone, sont capables de moduler *in fine* l'activité des carboxylases. **Quoi qu'il en soit, compte tenu de nos résultats, il apparaît fort peu**

probable que lorsqu'elle existe, la chute d'activité de la Rubisco puisse être la conséquence d'une altération oxydative de sa structure.

La diminution de l'activité de carboxylation constatée en ANF+80 montre bien que, chez les plantes en C₄ comme chez les plantes en C₃, la performance de la phase sombre peut être réduite par de fortes concentrations en ozone. Par ailleurs, il est important de noter que ces effets ont été observés sur des feuilles de rang 10 pouvant être considérées comme « peu sensibles » à l'ozone dans la mesure où elles n'ont achevé leur croissance qu'après 13 jours d'exposition. Or, il a été montré, chez les plantes en C₃, que durant leur période de croissance les feuilles sont généralement moins sensibles aux effets négatifs de l'ozone. Cette plus grande tolérance pourrait notamment être associée de manière non exclusive à (i) une plus faible pénétration de l'ozone dans les feuilles qui serait due à un appareil stomatique immature, (ii) une synthèse enzymatique importante, (iii) des systèmes antioxydants particulièrement performants. A l'opposé, la stimulation de cette même activité de carboxylation en situation de stress modéré et chronique à l'ozone peut apparaître comme un mécanisme de défense opportun permettant à la plante d'accumuler le carbone organique nécessaire aux processus de réparation.

2.3.4 Conclusions

Le **tableau 2.6** résume une partie des résultats obtenus au cours de ce projet.

L'ozone affecte négativement la photosynthèse du peuplier et du blé (C₃) ainsi que du maïs (C₄). Les résultats obtenus à Pau et Nancy indiquent clairement que la meilleure résistance apparente du maïs à l'ozone ne peut pas s'expliquer par une meilleure aptitude à maintenir une forte activité des enzymes de carboxylation

Le polluant provoque une baisse de la conductance stomatique chez les deux types de plantes. Chez le peuplier, il n'y a pas de changement au niveau de l'efficacité de l'utilisation de l'eau et la fermeture des stomates sous ozone pourrait contribuer à la baisse de l'activité photosynthétique. Comme la conductance stomatique des plantes en C₄ est plus faible que celle des C₃ (notamment celle du peuplier), le maïs (C₄) absorbe moins d'ozone que le peuplier ou le blé pour une même concentration en polluant de l'air.

D'autre part, chez le maïs, l'ozone provoque une augmentation de l'efficacité de l'utilisation de l'eau, puisque le rapport A/g_w augmente. Ainsi, la conductance stomatique du maïs baisse plus que l'assimilation sous l'effet de l'ozone. Compte tenu de la meilleure affinité de la PEPc pour le CO₂ que la Rubisco, le maïs présente une plus forte affinité pour le CO₂, et peut donc mieux résister que le peuplier à une fermeture de ses stomates.

Type métabolique	C3					C4			
	Peuplier (Nancy)		Blé (Grignon)			Maïs (Nancy)			
	Feuilles jeunes	Feuilles adultes	Feuilles adultes			Feuilles jeunes		Feuilles adultes	
Dose cumulée d'ozone (ppm.h)	43,4	43,4	2,1	3,5	5,6	6,5	13	13	25
Dose d'ozone absorbée (mmol.m-2)	20,8	20,8	1,2	2,3	3,7	1,7	3,4	2,7	3,5
Photosynthèse	-30%	-40%	-17% (Amax)	-24% (Amax)	-26% (Amax)	0%	-40%	-15%	-40%
Conductance stomatique	-30%	-40%				+30%	-5%	-30%	-55%
Vc max	-40%		-10%	-20%	-25%				
J max	-20%		-5%	-20%	-25%				
Activité RubisCO	-35%	-65%				+10%	-20%	-20%	-30%
Activité PEPc	+3 fois	+4 fois				0%	-20%	-40%	-75%

Tableau 2.6 : Synthèse des résultats obtenus au cours des expérimentations menées à Nancy et Grignon

2.4 Deuxième partie : Ozone et conductance stomatique : approches nécessaires pour le passage de la feuille au couvert

La première partie de ce rapport montre clairement l'importance de la connaissance de la quantité de polluant absorbée par voie stomatique. Dans la seconde partie, cette question a été traitée à plusieurs niveaux :

une approche simplifiée a permis d'obtenir des valeurs de flux d'ozone cumulé absorbé par les feuilles au cours des diverses expérimentations menées au champ ou en conditions semi-contrôlées

Une approche de modélisation plus fine et plus complète visant à améliorer les connaissances nécessaires pour l'intégration des processus physiques et biologiques impliqués dans les transferts de masse et d'énergie.

Ces études se sont appuyées sur les expérimentations menées en plein champ à Grignon au cours des années 2002 (maïs), 2003 (blé et maïs) et 2004 (blé) (Ces expérimentations sont mentionnées dans le tableau 2.1 de la première partie)

2.4.1 Un modèle simple d'estimation du flux d'ozone absorbé par la végétation

Un modèle simplifié empirique a été développé pour le blé et le maïs. : On considère que la totalité du flux d'ozone pouvant entrer dans la plante par les stomates est absorbé par celle-ci (Laisk et al., 1989). Le flux mesuré ne dépend donc que des concentrations en ozone et de l'ouverture stomatique (g_s). Celle-ci est exprimée d'après la formulation multiplicative de Jarvis (1976) dépendante des facteurs pédo-climatique (fig. 2.43) en y ajoutant une fonction phénologique qui traduit la sénescence naturelle de la plante :

$$g_s = g_{s_{normé}} * f(PAR) * g(VPD) * h(T_a) * Phéno \quad (2.1)$$

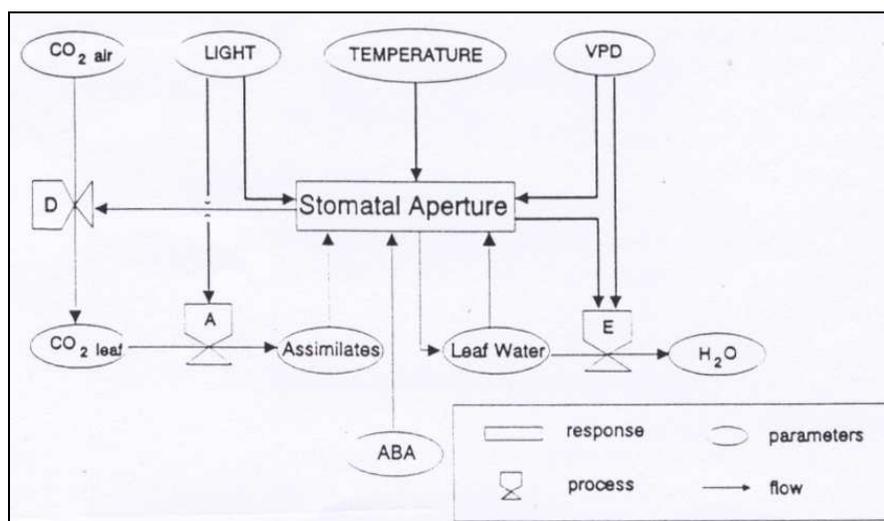


Figure 2.43 : Effets de divers facteurs externes et internes sur la conductance stomatique.

E : évaporation ; **A :** assimilation ; **D :** diffusion ; **ABA :** acide abscissique

Les fonctions f, g et h représentent respectivement les effets du rayonnement (PAR ou R_p), du déficit de saturation entre l'air et la feuille (VPD) et de la température de l'air (T_a).

La fonction rayonnement (R_p) s'écrit :

$$g_s = 1.083 - \text{EXP}(-0.00661 * R_p) \quad (2.2)$$

où R_p est exprimé en $W m^{-2}$ (visible).

La fonction VPD est reprise de Leuning (1995) :

$$g_s = 4,086.10^{-1} \text{EXP}(-6,159.10^{-4} * \text{VPD}) \quad (2.3)$$

Cette valeur de g_s est plafonnée.

La fonction température est croissante linéairement de $0^\circ C$ à $15^\circ C$ et elle garde une valeur maximale jusqu'à $32^\circ C$.

La fonction phénologique est établie ainsi : après la floraison l'indice phénologique diminue de 10% en $250^\circ C \cdot \text{jour}$ puis on entre dans la phase remplissage des grain et l'indice phénologique devient nul après $750^\circ C \cdot \text{jour}$.

Il reste encore à introduire le module de stress hydrique en fonction du contenu en eau du sol mesuré sur 1m de profondeur (**Fig. 2.44**). *Aussi ce modèle simplifié de conductance est validé autour de la floraison (pas de stress hydrique) mais doit tenir compte de la variation du contenu en eau du sol pendant la phase de remplissage des grains. Ainsi entre mars et juin 2003 l'humidité volumique du sol est passé de 40 % à 15 % dans la couche de sol labourée (0-25 cm)*

L'exemple suivant (**fig. 2.45**) donne la valeur de la conductance pour l'ozone à partir de la conductance pour le CO_2 calculée par l'équation 1 pour une journée à partir des données climatiques du jour 146 :

$$g_s(O_3) = g_s(CO_2) * 1.60 / 1.67 \quad (2.4)$$

où 1.6 et 1.67 représentent respectivement les rapports des coefficients de diffusion du CO_2 et de l'ozone à celui de la vapeur d'eau.

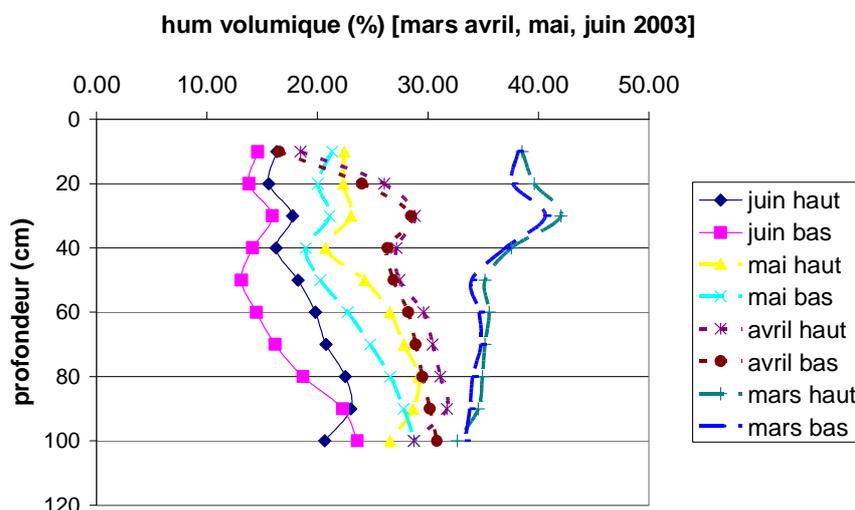


Figure 2.44 : Changement au cours de la saison de végétation de l'humidité volumique par tranche de sol sous la culture de blé en 2003

Sur le plan expérimental, des concentrations contrastées en ozone ont été obtenues en fonction de la distance par rapport à la rampe de fumigation utilisée lors des expérimentations au champ (Grignon 2003 et 2004). Les distances retenues étaient 2m, 4m, 15m et concentration de fond.

Une **base de données** calculant les **conductances et les flux d'O₃** pénétrant dans la plante a été ainsi établie. Ceci permet de comparer différents indicateurs de pollution comme l'indice AOT 40 proposé ou la quantité d'ozone ayant effectivement pénétré dans la plante.

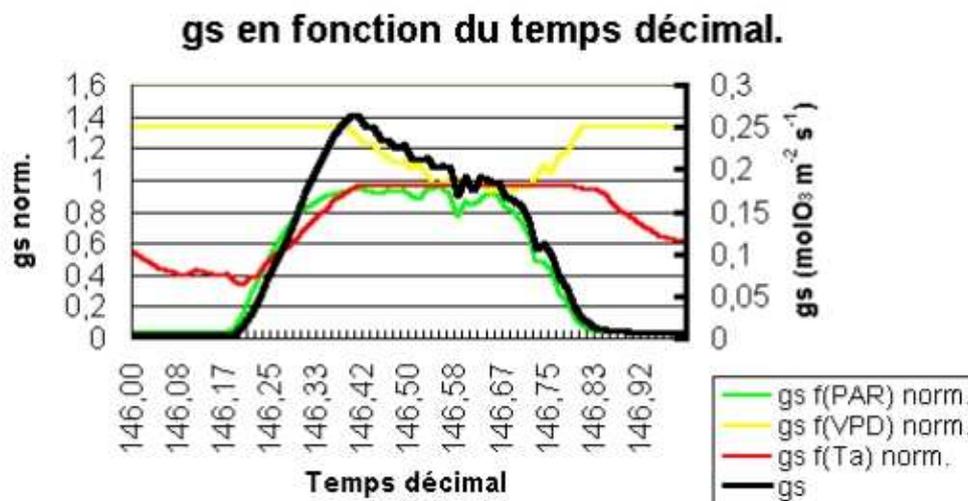


Figure 2.45 : Exemple de résultat obtenu pour la conductance stomatique g_s (146^{ème} jour). La courbe noire représente g_s en fonction du PAR, du VPD, de T_a et de la Phénologie.

A titre d'exemple, les **figures 2.46, 47 et 48** suivantes présentent les valeurs de conductances stomatiques (g_s), de concentration en ozone, et de densité de flux d'O₃ au dessus du couvert de blé pour la journée du 18 Juin 2003

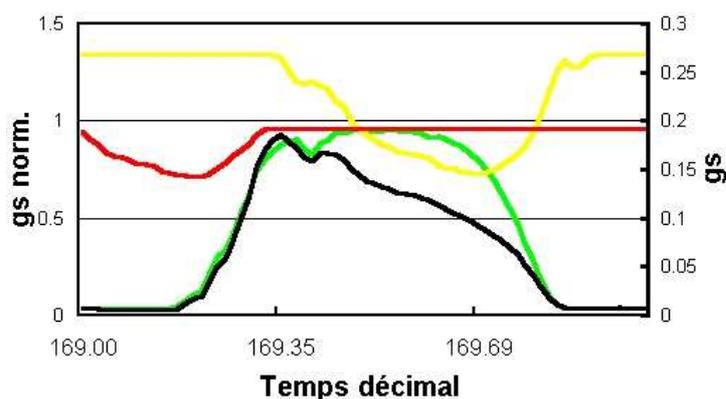


Figure 2.46 : Evolution de la conductance stomatique au cours d'une journée. Les différentes couleurs correspondent aux g_s (en $\text{mol O}_3 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ pour g_s , et sans unité pour les différents g_s normalisées) successivement calculées :

- $g_s, f(\text{PAR}) \text{ norm.}$; ● $g_s, f(\text{VPD}) \text{ norm.}$; ● $g_s, f(\text{Ta}) \text{ norm.}$; ● $g_s, f(\text{PAR}, \text{VPD}, T_a, \text{Phéno})$

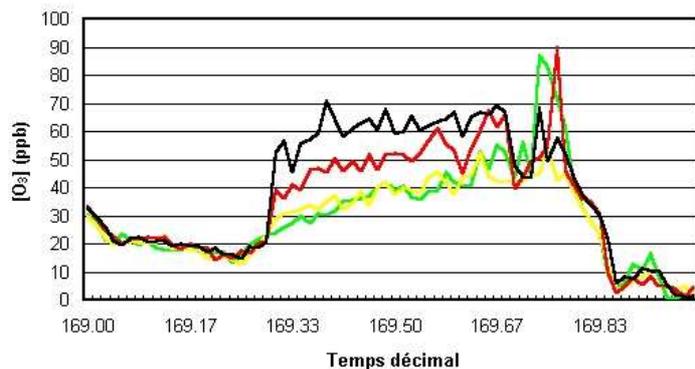


Figure 2.47 : Evolution de la teneur en ozone de l'air à différentes distances de la rampe de fumigation . Les différentes concentrations en ozone (en $\text{nmol}_{\text{O}_3} \text{mol}_{\text{air}}^{-1}$) sont mesurées aux diverses positions des plants par rapport à la rampe :

● $[\text{O}_3]_{\text{Ext.}}$; ● $[\text{O}_3]_{15\text{m}}$;
● $[\text{O}_3]_{4\text{m}}$; ● $[\text{O}_3]_{2\text{m}}$

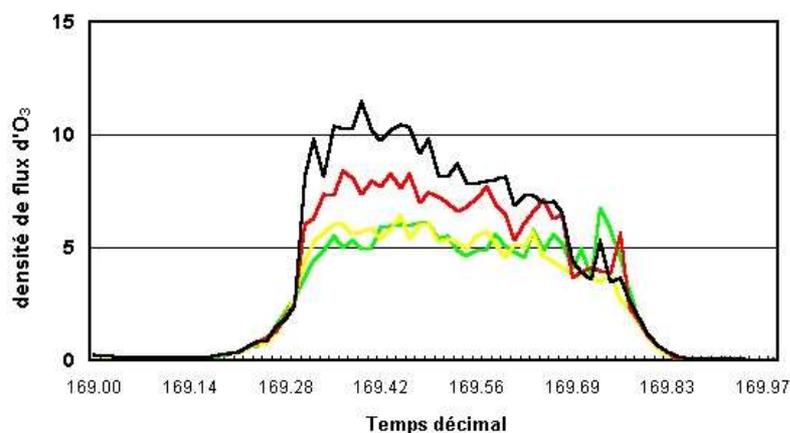


Figure 2.48 : Densités de flux d'ozone (en $\text{nmol}_{\text{O}_3} \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Elles sont également calculées en fonction des différentes positions possibles par rapport à la ligne de fumigation Le code des couleurs reste le même que pour la fig. 2.47.

De la même manière les conductances stomatique pour le CO_2 et l'ozone ont été calculées sur le maïs et appliquées à l'expérimentation de Pau-Montardon 2002. Ceci nous a permis le calcul des flux pour les 2 types de feuille analysés (feuille 5, et feuille 10= feuille de l'épi) (Tableau 2.9).

Flux d' O_3 cumulé exprimé en $\mu\text{mol} (\text{O}_3)$ par m^2 de feuille			
F5		F10	
ANF + 60	ANF + 80	ANF + 60	ANF + 80
3635.33	4316.49	5304.89	5764.95

Tableau 2.9. Flux d'ozone cumulé absorbé par les feuilles du maïs (expérimentation Pau 2002). ANF+60 et ANF+80 représentent deux traitements auxquels 60 et 80 ppb d' O_3 ont été ajoutés.

Conclusion

Cette approche empirique simple a permis d'obtenir des estimations du flux d'ozone absorbé par les feuilles au cours des différentes expérimentations. Ce modèle nécessite maintenant une validation à partir de jeux de données plus importants, ainsi qu'une comparaison avec d'autres modèles existants (notamment le modèle utilisé dans EMEP à l'échelle européenne).

2.4.2 Déterminisme de la conductance stomatique dans un modèle de masse (H₂O, CO₂) et d'énergie

2.4.2.1 Introduction

En France, l'occurrence des pics de pollution atmosphérique par l'ozone dépend de conditions météorologiques particulières anticycloniques, ce qui est souvent corrélé avec des épisodes de sécheresse. Quantifier l'impact de l'ozone nécessite par conséquent de déterminer les régulations biologiques aussi bien à l'échelle de la feuille, où s'effectuent les échanges gazeux, qu'à l'échelle de la parcelle qui modifie le microclimat environnant les plantes. Dans cette partie, nous nous limiterons à l'impact de l'ozone sur les échanges de CO₂ et d'eau, les effets sur la production étant rapportés par ailleurs. Les interactions sont complexes : elles doivent rendre compte de la pénétration de l'ozone à travers les stomates, des modifications de la photosynthèse qui s'ensuit et en retour du rôle de la photosynthèse sur les capacités d'ouverture des stomates. Enfin le passage de la feuille au couvert végétal met en évidence le poids respectif des facteurs limitant la photosynthèse du couvert sous ozone.

Ce passage est réalisé par un modèle de continuum sol-plante-atmosphère couplant les échanges de chaleur, de vapeur d'eau et de gaz carbonique. Dans ce modèle, développé par Tuzet *et al.* (2000), le déterminisme de la conductance stomatique est exprimé à partir d'une optimisation entre les flux d'eau et de gaz carbonique. Le flux d'eau est contrôlé en particulier par la demande climatique, la régulation stomatique et une diffusion radiale de l'eau vers les racines. **Ce modèle est présenté en Annexe 2.**

Cette modélisation couplée des fonctionnements énergétiques et hydriques d'un couvert végétal permet d'obtenir une modélisation de la résistance stomatique en fonction des facteurs du milieu et de l'état hydrique du sol et de la plante.

Dans la formulation du modèle de continuum, un effort tout particulier pour intégrer la spécificité de la photosynthèse des plantes de type C₄ comme le maïs a été réalisé en substituant le modèle de photosynthèse proposé par von Caemmerer (2000) au modèle de type C₃ précédemment utilisé. L'estimation de l'impact se fera par le couplage d'expérimentations en conditions contrôlées (Nancy, 2004) avec les expérimentations au champ (Grignon, 2002).

2.4.2.2 Etude de l'impact de l'ozone sur le maïs

L'application du modèle de photosynthèse des plantes de type C₄ à l'étude de l'impact de l'ozone est délicat puisque certains paramètres foliaires régissant les échanges de CO₂ entre les cellules de la gaine et celles du mésophylle ne sont pas accessibles à l'expérimentation. Des hypothèses doivent être faites quant à l'estimation de ces paramètres.

Le modèle de photosynthèse foliaire utilisé (von Caemmerer 2000) est fondé sur la séparation de 3 types de processus :

la diffusion du CO₂ depuis l'air extérieur jusqu'au sites de carboxylation dans les cellules du mésophylle ainsi que la "fuite" depuis les fortes concentrations dans les cellules de la gaine vers les cellules du mésophylle

le transfert des électrons

les carboxylations (Rubisco dans la gaine et PEP dans le mésophylle)

Le modèle pose comme hypothèse que l'assimilation nette de CO₂ (A) est limitée soit par les carboxylases (A_c), soit par la lumière et le transfert d'électrons (A_j). Dans le modèle, l'assimilation nette est calculée dans les deux situations et le minimum des deux valeurs est retenu.

$$A = \min(A_c, A_j)$$

2.4.2.2.1 Démarche :

Il paraît difficile d'ajuster l'ensemble des paramètres du modèle puisque plusieurs variables jouent sur les paramètres des courbes de photosynthèse en fonction de la concentration en CO₂ dans le cytosol des cellules mésophylliennes (C_m) ou des courbes de photosynthèse en fonction de l'éclairement, caractérisées par leurs pente à l'origine, le plateau et un facteur de convexité.

Pour estimer ces paramètres, nous proposons de procéder par étapes. Dans le premier temps nous nous intéresserons au maïs cultivé au champ qui nous servira de référence. Nous déduirons alors l'impact des chambres de culture puis de l'ozone sur ces paramètres.

Dans le cas du maïs cultivé en plein champ, il nous faut :

Estimer la conductance mésophyllienne (g_m)

- Estimer séparément J_{max} et V_{pr} qui jouent tous les deux sur les plateaux de photosynthèse en fonction de l'éclairement (Q)
- Estimer séparément V_{pmax} et g_s qui jouent tous les deux sur la pente à l'origine des courbes photosynthèse en fonction de C_m
- Enfin, estimer V_{cmax} et valider V_{pr} qui jouent tous les deux sur le plateau des courbes photosynthèse en fonction de C_m

2.4.2.2.2 Résultats

A. En condition de plein champ.

Pour estimer la conductance mésophyllienne (g_m) du maïs nous ne disposons pas de mesures fiables comme chez les C₃ (méthodes isotopiques ou de fluorescence), notre estimation sera fondée pour l'instant sur des considérations anatomiques. Dans le cas d'une graminée C3 comme le blé, Loreto et al.(1992) ont estimé g_m à 0,64 mol m⁻² s⁻¹. Dans les plantes de type C3, le CO₂ traverse trois membranes (membrane de la cellule et la double membrane des chloroplastes) à partir de l'espace intercellulaire jusqu'au lieu de carboxylation (Stroma), alors que pour le maïs, le CO₂ doit traverser une seule membrane. Nous avons estimé que chez le maïs, la conductance à la diffusion du CO₂ depuis l'espace intercellulaire jusqu'au cytosol des cellules du mésophylle, où se fixe le CO₂ par la PEP case, devait être environ trois fois supérieure à celle du blé soit 2 mol m⁻² s⁻¹.

La seconde étape consiste à estimer J_{max} à partir des courbes photosynthèse- éclairement obtenues en plein champ. On suppose pour cela que la carboxylation n'est pas limitante dans ces conditions (**Fig. 2.49**)

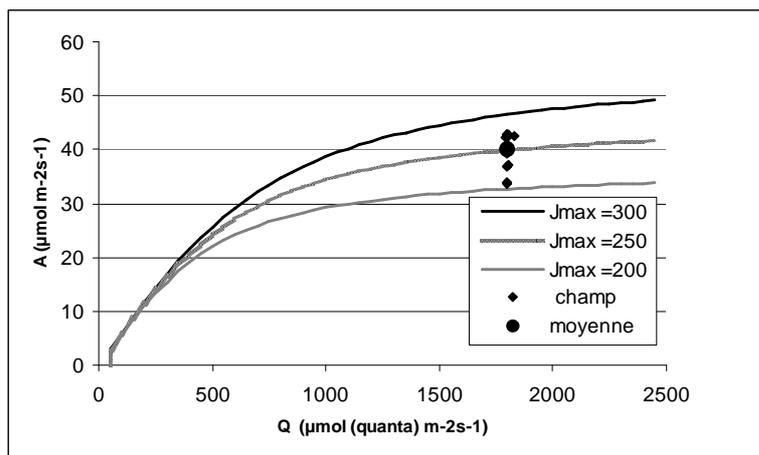


Figure 2.49 : Photosynthèse (A) en fonction de l'éclairement (Q) pour la feuille 10 des plantes de maïs en plein champ, à la concentration de CO₂ mésophyllienne C_m = 75 μbar, la vitesse de carboxylation de la PEP case V_{pmax} = 120 μmol m⁻²s⁻¹ la vitesse de carboxylation de la rubisco V_{cmax} = 60 μmol m⁻²s⁻¹, la vitesse de régénération de la PEP V_{pr} = 200 μmol m⁻²s⁻¹ à la température de 27°C.

En portant la valeur de J_{max} (250 μmol (électrons) m⁻² s⁻¹) ainsi obtenu, nous pouvons calculer la valeur de V_{pmax} permettant l'ajustement des courbes photosynthèse/C_m (**Fig. 2.50**).

Pour déterminer V_{cmax} nous utiliserons les données de la littérature : les mesures de fractionnement isotopiques indiquent que le rapport de la "fuite" de CO₂ (L) sur la fixation par la PEPcase (V_p) est proche de 20%, ce qui conduit à un rapport V_{pmax}/ V_{cmax} de 2 et à une conductance de la gaine (g_s) de 6 mmol m⁻² s⁻¹.

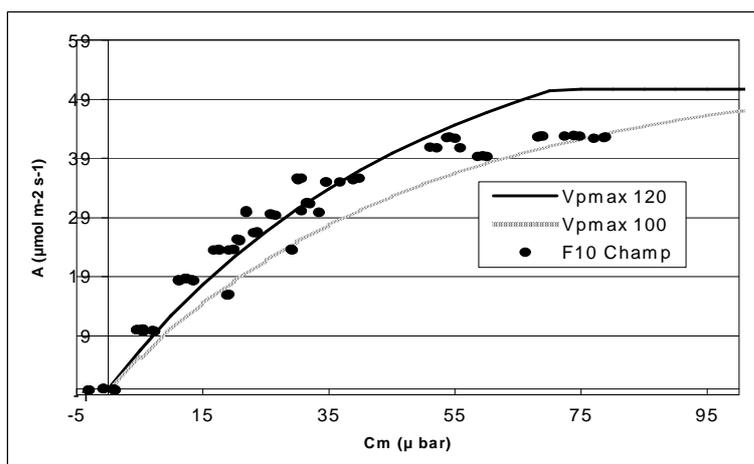


Figure 2.50 : Photosynthèse (A) en fonction de la pression partielle de CO₂ dans le mésophylle C_m pour la feuille 10 des plantes de maïs en plein champ, à l'éclairement saturant Q = 1800 μmol (quanta) m⁻²s⁻¹, la vitesse de transport des électrons J_{max} = 250 μmol (électrons) m⁻²s⁻¹, la vitesse de régénération de la PEP V_{pr} = 200 μmol m⁻²s⁻¹, la conductance mésophyllienne g_m = 2 mol m⁻²s⁻¹ et la conductance des cellules de la gaine g_s = 6 mmol m⁻²s⁻¹, à la température de 27°C.

B. Plantes cultivées en conditions contrôlées (Chambres, Nancy 2004)

Par rapport au plein champ les chambres climatisées modifient profondément les conditions de culture particulièrement l'éclairement de croissance plus faible provoque une diminution de la quantité d'azote dans la plante. Ceci va se répercuter sur l'ensemble des protéines foliaires. Notre démarche ici consistera à mesurer J_{max}, puis à supposer que les autres paramètres sont affectés par le même rapport de J_{max}. Comme J_{max} est diminué de 20% nous obtenons le **tableau 2.10**. En confrontant les valeurs ainsi obtenues aux courbes expérimentales obtenues sur la feuille 8, on se rend compte qu'un meilleur ajustement serait obtenu pour un V_{cmax} de 35 μmol m⁻² s⁻¹ (**fig. 2.50**).

	Paramètres de la feuille 10 des plantes du champ	Paramètres de la feuille 08 des plantes témoin
$J_{max} \mu \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$	250	210
$V_{pmax} \mu \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$	120	100
$V_{cmax} \mu \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$	60	50
$g_m \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$	2	1,66
$g_s \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$	6	5

Tableau 2.10 : Estimation des paramètres photosynthétiques des feuilles de maïs (feuille 8) cultivés en chambre de culture (Expérimentation Nancy 2004) à partir des mesures faites au champ. Les paramètres ont été calculés en se basant sur l'hypothèse qu'ils sont tous réduits dans les mêmes proportions que J_{max} .

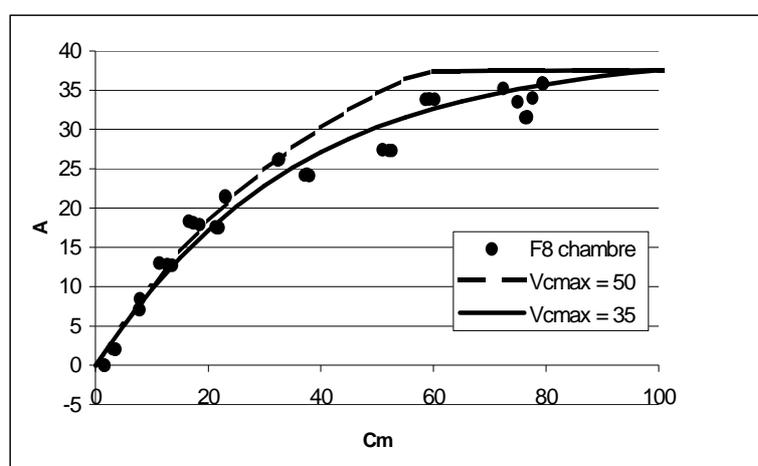


Figure 2.51 : Photosynthèse (A) en fonction de la pression partielle de CO₂ dans le mésophylle C_m pour la feuille 8 des plantes témoin de maïs en chambre, à l'éclairement saturant $Q = 1800 \mu \text{mol (quanta) m}^{-2} \text{s}^{-1}$, la vitesse de transport des électrons $J_{max} = 210 \mu \text{mol (électrons) m}^{-2} \text{s}^{-1}$, la vitesse de régénération de la PEP $V_{pr} = 200 \mu \text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, la conductance mésophyllienne $g_m = 1,66 \text{ mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ et la conductance des cellules de la gaine $g_s = 5 \text{ mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, à la température de 27°C.

C. Impact de l'ozone sur les paramètres de la photosynthèse du maïs.

Pour modéliser l'impact de l'ozone sur la photosynthèse des plantes ayant subi un traitement d'ozone de 80ppb, nous ferons trois hypothèses préalables selon que les processus en jeu sont proches (cellules du mésophylle), où éloignés (cellules de la gaine) de la source de l'ozone.

En supposant que les cellules mésophylliennes du maïs subissent les mêmes transformations que les cellules mésophylliennes du blé sur l'effet de l'O₃, la conductance mésophyllienne diminue du même rapport que celle du blé qui est de 3 à 5 fois. La conductance mésophyllienne pour le CO₂ de la culture du blé, passe de 0,68 mol m⁻² s⁻¹ (Loreto et al., 1992) à 0,15 mol m⁻² s⁻¹ (Mc Kee et Long, 2001) pour le blé traité en 80 ppb d'ozone. Cette réduction de diffusivité s'explique par l'épaississement de la membrane des cellules mésophylliennes. Comme chez le blé g_m est réduit au quart de sa valeur, nous conserverons le même rapport pour le maïs, soit un g_m de 0,4 mol m⁻² s⁻¹.

L'effet de l'ozone sur la Rubisco n'est pas significatif. La Rubisco est protégée à cause de sa localisation plus interne (dans les chloroplastes des cellules de la gaine), ce qui est confirmé par les activités carboxylases de la Rubisco (cf. mesures foliaires des expérimentations de Pau 2002 et Nancy 2004). De même nous considérons que g_s n'est pas affecté.

J_{max} est affecté mais moins que le V_{pmax} .

Par ailleurs, la valeur minimale de V_{pmax} / V_{cmax} égale 1 (von Caemmerer et Furbank, 1999, von Caemmerer, 2000).

Pour une concentration en CO_2 dans les cellules du mésophylle supérieure à 170 μbar le transport d'électrons devient limitant (Plateau de la courbe **figure 2.52** pour le traitement de 80 ppb) si J_{max} est fixé à 120 μmol (électrons) $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, ce qui indique une diminution de 57%. Cette valeur est probable puisque dans ce cas les deux limitations soit par la carboxylation, soit par le transport d'électrons sont proches l'une de

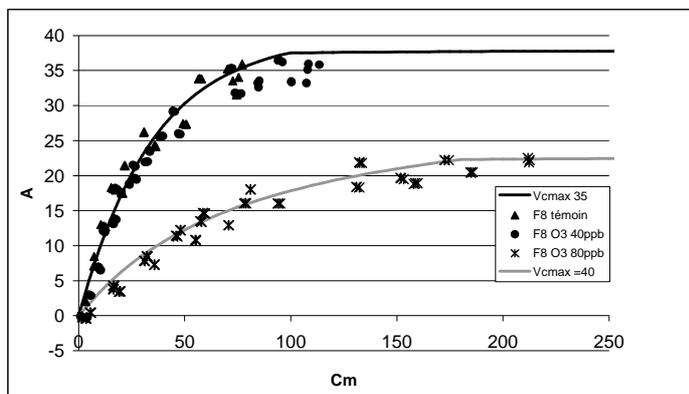


Figure 2.52 : Photosynthèse (A) en fonction de la pression partielle de CO_2 dans le mésophylle C_m pour la feuille 08 des plantes de maïs cultivés en chambre climatisée à l'éclairement saturant $Q = 1800 \mu\text{mol}$ (quanta) $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, la vitesse de régénération de la PEP $V_{\text{pr}} = 200 \mu\text{mol} \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ à la température de 27°C.

- ▲ Feuilles témoin
- Feuilles traitées à l'ozone avec une concentration de 40 ppb
- x Feuilles traitées à l'ozone avec une concentration de 80 ppb
- modèle pour la feuille témoin
- - - - - modèle pour la feuille exposée à 80 ppb d'ozone

D. Intégration à l'échelle du couvert

Dans le cadre de ce travail, la partie la plus délicate à mettre en œuvre a été l'adaptation au couvert végétal du modèle de photosynthèse développé à l'échelle de la feuille. Ce sont, en particulier, les grandeurs telles que les vitesses maximum de carboxylation de la rubisco (V_{cmax}) et de la PEP carboxylase (V_{pmax}) et le transport maximum d'électrons (J_{max}) qu'il faut paramétrer à l'échelle du couvert. Ces grandeurs dépendent du contenu en azote des feuilles et de la pénétration du rayonnement dans le couvert. Un travail effectué par De Pury et Farquhar en 1997 a montré que pour une végétation mono-couche, la distinction des feuilles à l'ombre et au soleil est un moyen simple pour obtenir une meilleure évaluation de ces grandeurs. Mais la mise en œuvre de cela n'a pu être faite pour l'instant et seules des relations empiriques ont été utilisées.

Une première confrontation modèle - mesure a été effectuée à partir d'un jeu de données obtenu sur une parcelle de maïs à Grignon en 2002 dans le cadre du projet **BIOPOLLATM**). Les résultats obtenus pour le flux de chaleur sensible et de chaleur latente et le flux de CO_2 sont représentés sur la **figure 2.53**. Ces premiers résultats semblent plutôt encourageants, mais un travail plus approfondi doit être effectué sur le modèle car de la paramétrisation à l'échelle du couvert des grandeurs V_{cmax} , V_{pmax} et J_{max} dépend la limitation de la photosynthèse soit par les enzymes (Rubisco et PEPc), soit par la lumière et le transfert d'électrons.

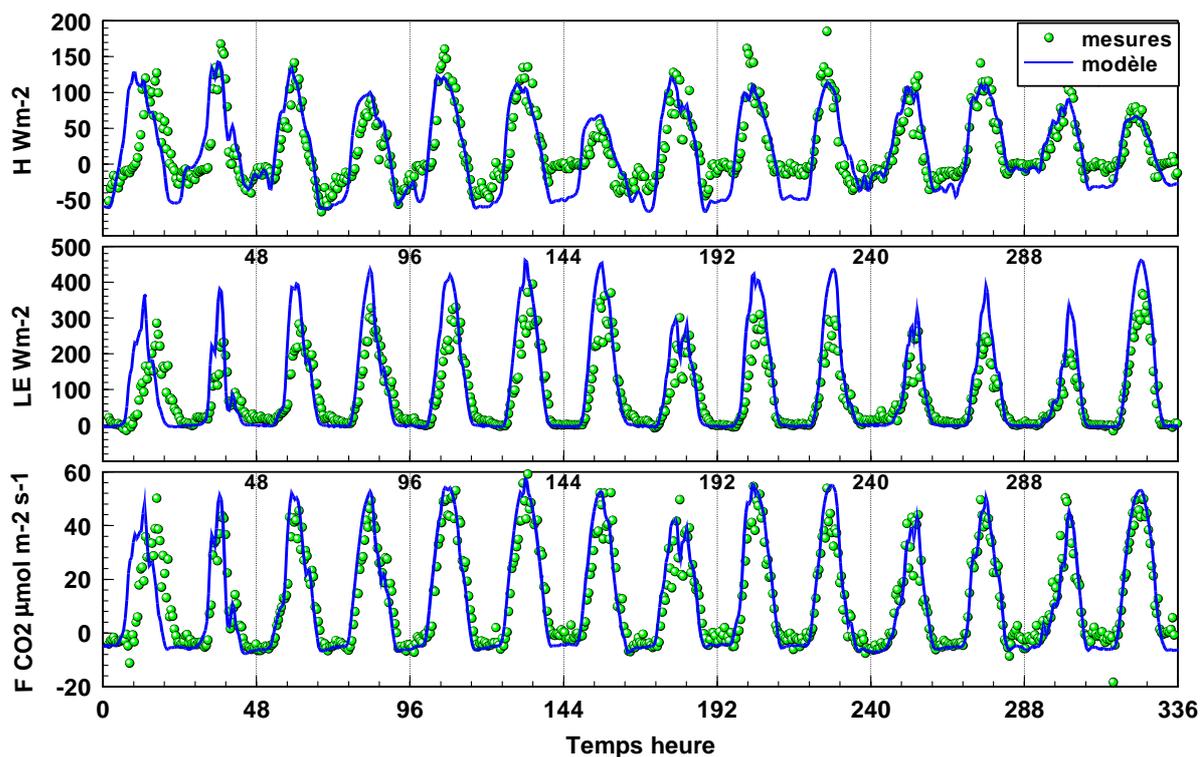


Figure 2.53. Comparaison entre les résultats expérimentaux et les résultats du modèle pour le flux de chaleur sensible H , le flux de chaleur latente LE et le flux de CO_2 F_{CO_2} .

2.4.2.2.3 Conclusion : impact de l'ozone sur les échanges gazeux foliaires du maïs

Le modèle de photosynthèse des plantes de type C4 rend compte de manière satisfaisante des mesures à l'échelle foliaire. Son application à l'impact de l'ozone sur la fixation de carbone est réalisée avec des hypothèses simples pour lever les incertitudes entre les paramètres affectés.

A partir des données expérimentales, nous avons pu déterminer les paramètres de la photosynthèse des feuilles de la culture de maïs. Ces résultats nous ont permis d'estimer les paramètres de la photosynthèse pour les plantes soumises à des différentes concentrations d'ozone. Il apparaît que :

- La concentration en ozone de 40 ppb (concentration du fond de l'atmosphère), n'affecte pas les paramètres de la photosynthèse des feuilles de maïs.
- La concentration en ozone de 80 ppb (concentration proche de celles atteintes dans les milieux périurbains) affecte les activités des différents tissus foliaire avec des degrés différents selon la protection des tissus à la diffusion de l'ozone.

Ainsi, l'ozone affecte plus les paramètres de la photosynthèse des cellules du mésophylle (la conductance mésophyllienne du CO_2 , moins l'activité de la PEP case et moins encore le transport des électrons), mais n'affecte pas ou affecte faiblement les paramètres de la photosynthèse des cellules de la gaine (V_{cmax} et g_s) plus internes. Ces résultats sont concordants avec les résultats obtenus par les analyses biochimiques précédentes.

Pour quantifier plus précisément l'effet de l'ozone sur les paramètres de la photosynthèse, il faut compléter ces résultats préliminaires par d'autres validations sur d'autres feuilles et sur d'autres années.

Les résultats de cette modélisation montrent que l'impact de l'ozone à l'échelle foliaire porte autant sur la diffusion du CO₂ que sur la carboxylation par la PEP case.

A l'échelle du couvert les résultats de la modélisation semblent indiquer un poids prépondérant des limitations de la photosynthèse par l'éclairement. Cela reste à confirmer par la répétition des études expérimentales menées à l'échelle d'un champ de maïs.

2.4.3 Conclusions : ozone et conductance stomatique

Les deux approches de modélisation présentées ici nécessitent d'être complétées par des jeux de données supplémentaires.

L'intérêt de la première approche est de fournir un outil simple de calcul du flux d'ozone absorbé par les feuilles. Cet outil est relativement facile à paramétrer, et permet de calculer un flux d'ozone absorbé à partir d'informations facilement disponibles (données météorologiques de base). Il pourrait être utile pour mener des collaborations au niveau Européen dans le cadre des programmes de l'UNECE (recherches de relations empiriques entre ozone absorbé et rendements des cultures suffisamment robustes pour pouvoir être utilisées à l'échelle du continent Européen). Cette démarche pourra être complétée par les travaux conduits sur les modèles d'échanges végétation-atmosphère tels que SurfAtm (partie 3).

La seconde approche présente une intégration très complète des processus : elle peut donc permettre d'analyser de façon très fine les effets de l'ozone sur le fonctionnement du couvert, notamment dans le cas d'une interaction ozone-sécheresse. Ce genre de modèle nécessite de savoir quantifier un grand nombre de paramètres physiologiques. La poursuite de ce travail préliminaire passe donc par de nouvelles expérimentations permettant à la fois d'acquérir les jeux de données nécessaires à sa validation et de vérifier les hypothèses du modèle.

Cependant, ces deux approches ne permettent pas pour le moment de prendre en compte les effets directs de l'ozone sur la conductance stomatique. Des études écophysiologiques plus fines restent donc nécessaires pour mieux comprendre le partage entre les effets directs et indirects (via la photosynthèse) de l'ozone sur la conductance stomatique.

2.5 Troisième partie : Modélisation des effets de l'ozone sur la production des cultures

2.5.1 Constitution de bases de données expérimentales en plein champ

Déterminer l'impact réel des polluants atmosphériques sur les cultures bute sur une difficulté majeure : l'impossibilité constitutive d'obtenir un témoin naturel non exposé, toutes choses égales par ailleurs. Pour étudier l'effet d'expositions variées à l'ozone, la plupart des études ont donc recouru à une artificialisation plus ou moins poussée du milieu, s'éloignant ainsi plus ou moins des conditions réelles de production. Si les résultats obtenus de cette manière sont très significatifs, il nous est cependant apparu nécessaire de développer des références en conditions les plus proches possibles des conditions agricoles, d'une part pour corroborer ou préciser en situation les résultats déjà obtenus et d'autre part pour combler les déficits de connaissance sur certains aspects, et notamment sur les effets à long terme sur l'accélération de la sénescence foliaire. Le développement sur la station de Grignon d'un nouveau dispositif de fumigation en plein champ sans modification du microclimat (Cf. partie 4) nous a permis d'avancer de manière significative sur ces aspects. Côté cultures, nous avons retenu le blé et le maïs pour leur représentativité au sein de la sole française et leur différence de métabolisme photosynthétique (C3 et C4) pouvant induire une différence de sensibilité. Outre le suivi de croissance et la mesure du rendement final, des mesures de photosynthèse et un suivi de la sénescence foliaire ont été réalisés à chaque fois.

2.5.2 Expérimentations

2.5.2.1 Expérimentations réalisées

Expérimentation blé 2003

L'expérimentation blé 2003 correspondait à la première mise en place du nouveau dispositif de fumigation. Pour des raisons de coût et de budgets non encore disponibles, nous ne disposions alors que d'un prototype très sommaire et nous n'avons suivi que 3 traitements expérimentaux pour le blé : un témoin seulement soumis à l'exposition naturelle relativement élevée cette année-là, un traitement ayant subi un faible enrichissement par rapport à ces conditions (+1600 ppb.heure AOT 40) et un traitement ayant subi un enrichissement élevé (+3730 ppb.heure AOT 40) mais néanmoins réaliste par rapport aux épisodes de pollution naturelle (concentrations inférieures à 120 ppb). La parcelle a par ailleurs été conduite de façon typique par rapport aux pratiques culturales régionales.

Expérimentation maïs 2003

La mise au point du système sur le blé ayant donné satisfaction, celui-ci a ensuite été transféré sur une parcelle de maïs voisine. Cependant la sécheresse exceptionnelle de l'été 2003 a entraîné un dessèchement prématuré de la culture avant que les traitements ozone n'aient pu produire une différenciation suffisamment marquée de la culture. Nous n'en parlerons donc plus dans la suite du rapport.

Expérimentation blé 2004

Grâce à l'appui du département « Environnement – Agronomie » de l'INRA, un nouveau dispositif complet de fumigation, plus long et plus puissant a été construit durant l'hiver 2003-2004. Associé au premier prototype et grâce à un fonctionnement bidirectionnel avec un

secteur de vent de 90°, nous avons pu couvrir l'ensemble des directions de façon à moins dépendre de cet aléa. Quatre distances à la rampe principale et deux au premier prototype nous ont permis de croiser des doses allant de +1000 à +6000 ppb.heure en AOT 40 par rapport au témoin avec 4 variétés représentatives de la sole française et 2 régimes de nutrition azotée. Pour pallier le problème survenu l'année précédente, la parcelle était en outre pourvue d'irrigation.

Côté problèmes à signaler, seuls 3 des 4 secteurs ont été pourvus en vent. Par ailleurs, des problèmes de maladies telluriques (piétin échaudage) et de fuites survenues sur la nouvelle rampe ont condamné certains traitements çà et là.

Expérimentation maïs 2004

Les 2 rampes ont ensuite été transférées sur une parcelle de maïs voisine munie elle aussi de l'irrigation et croisant 2 cultivars avec 3 régimes de nutrition azotée, mais la panne simultanée des 2 analyseurs d'ozone utilisés associée à des délais de réparation démesurés de la part du fabricant en période de vacance estivale devait là encore finalement annuler cette expérimentation en cours de route.

2.5.2.2 Principaux résultats

Séquence typique de fumigation

Nous avons reporté dans le graphique ci-dessous (**figure 2.54**) la séquence de fumigation correspondant au 27 juin du secteur de vent ouest de l'expérimentation blé en 2004.

On observe que la nuit les valeurs de tous les capteurs sont confondues avec celles des témoins (le dispositif de fumigation n'est pas opérationnel puisqu'il est contrôlé notamment par les valeurs de rayonnement). Au lever du jour et après séchage de la rosée, le système se met en fonctionnement et l'on constate une stratification très nette des points en fonction des distances à la rampe malgré les irrégularités dues aux fluctuations de vent, l'enrichissement s'étageant de +10 ppb à 6m à +80 ppb à 2m en moyenne.

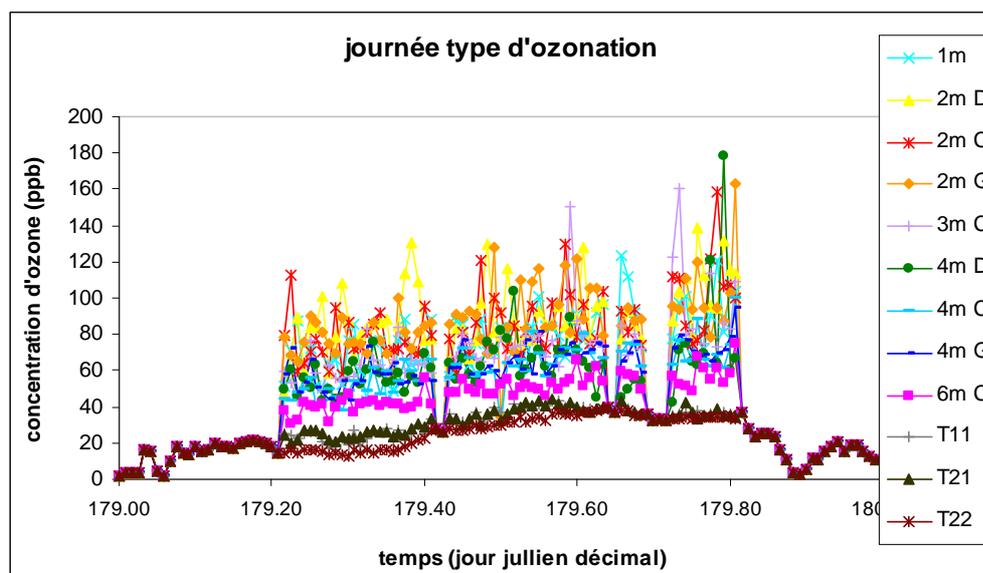


Figure 2.54. Concentrations d'ozone mesurées au sommet du couvert végétal au cours d'une journée. Les courbes représentent les mesures réalisées à différentes distances de la rampe de fumigation (1m, 2m, 4m et 6m) et à différentes positions : centrale (c), côté gauche (g) ou droit (d) de la rampe. Les courbes T11, T21 et T22 représentent les concentrations en ozone mesurées en dehors de la zone d'influence de la rampe.

Effets sur la photosynthèse à l'échelle foliaire

La fumigation au champ provoque des réductions de photosynthèse très sensibles (figure 2.55). Les plantes les plus exposées au polluant sont celles qui sont situées le plus près de la rampe et sous les vents dominants. Il existe quelques différences variétales, mais celles-ci restent encore à interpréter.

L'analyse des relations photosynthèse-conductance (figures 2.56 et 2.57) montre que celles-ci sont complexes. En effet, la photosynthèse des plantes exposées à de faibles niveaux d'ozone décroît, sans que la conductance stomatique semble affectée. Par contre, les forts niveaux d'exposition à l'ozone conduisent à une réduction simultanée de la photosynthèse et de la conductance. Ces différences peuvent s'interpréter par des effets combinés sur la sénescence et la photosynthèse, la réduction de la photosynthèse étant elle-même une étape des processus de sénescence qui se mettent en place dans la feuille.

Quoi qu'il en soit, ces effets observés sur la fixation du carbone sont suffisamment marqués pour provoquer des impacts sur la production et le rendement de la culture.

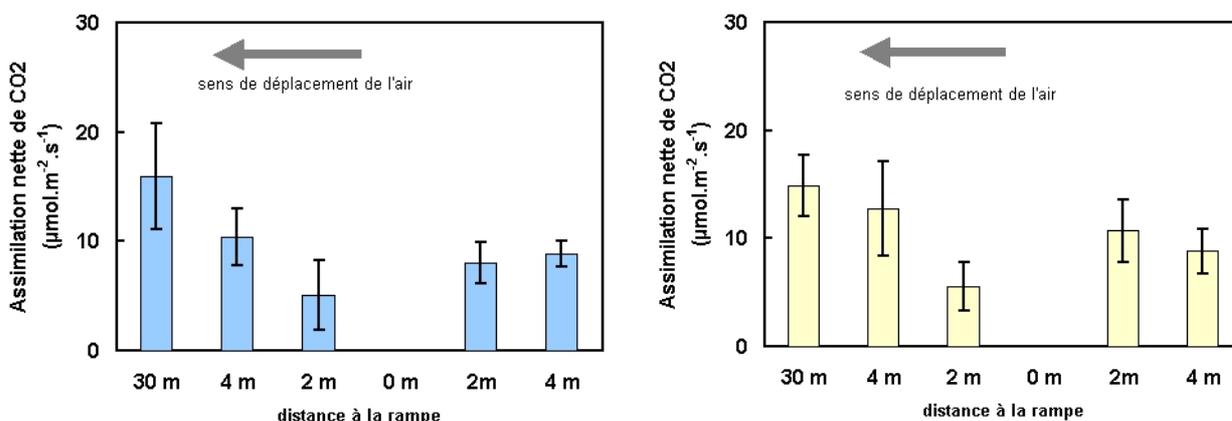


Figure 2.55. Photosynthèse nette maximale des feuilles étendard (n°1) du blé (variété Soisson à gauche, Isangrain à droite) exposées à différents niveaux d'ozone en fonction de leur distance à la rampe de fumigation et des vents dominants. Expérimentation Grignon 2004, données du 25 juin.

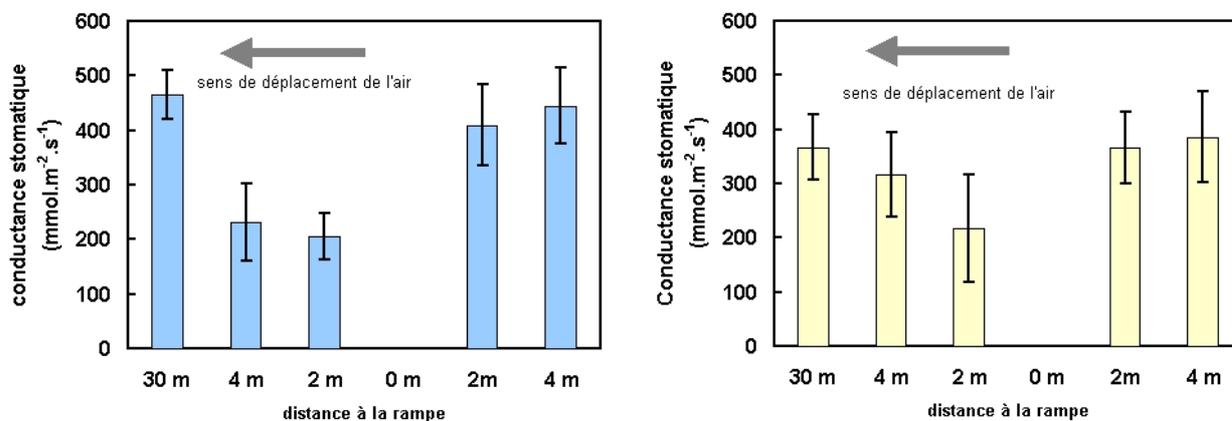


Figure 2.56. Conductance stomatique des feuilles étendard (n°1) du blé (variété Soisson à gauche, Isangrain à droite) exposées à différents niveaux d'ozone en fonction de leur distance à la rampe de fumigation et des vents dominants. Expérimentation Grignon 2004, données du 25 juin.

Pertes de rendement en fonction des AOT 40

Nous avons replacé sur la **figure 2.58** l'ensemble des rendements observés sur les variétés non touchées par la maladie en 2004 et les rendements de 2003 en fonction de l'AOT 40 par rapport à la relation proposée par Fuhrer et al. (1997) et en fixant le rendement du témoin à 110 qx (la relation de Fuhrer est proposée en valeurs relatives du rendement obtenu en l'absence d'ozone).

Si les points de 2004 sont assez dispersés (on a reporté les données des placettes individuelles, c'est-à-dire 3 répétitions par traitement) et ceux de 2003 légèrement en dessous de la courbe en raison du stress hydrique, on observe une assez bonne concordance entre les pentes rendant compte de l'effet de l'ozone. Cela est assez rassurant si l'on tient compte que ces résultats ont été établis dans des conditions assez différentes.

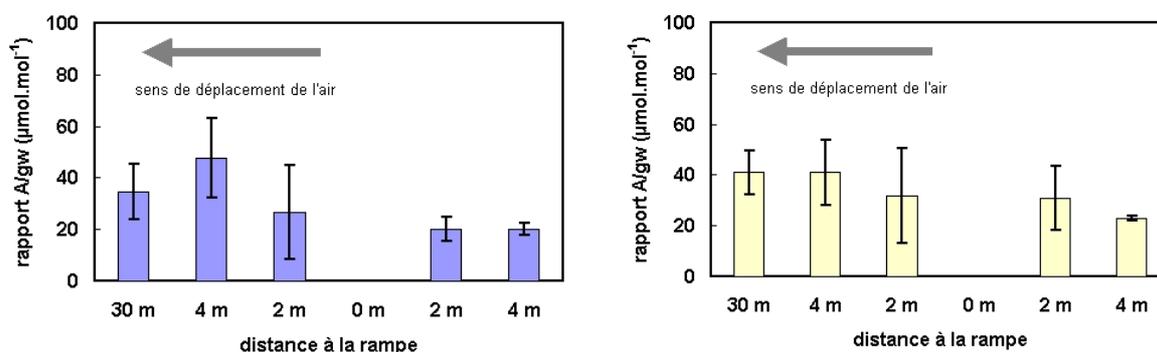


Figure 2.57. Rapport Photosynthèse/Conductance stomatique des feuilles étendard ($n^{\circ}1$) du blé (variété Soisson à gauche, Isangrain à droite) exposées à différents niveaux d'ozone en fonction de leur distance à la rampe de fumigation et des vents dominants. Expérimentation Grignon 2004, données du 25 juin.

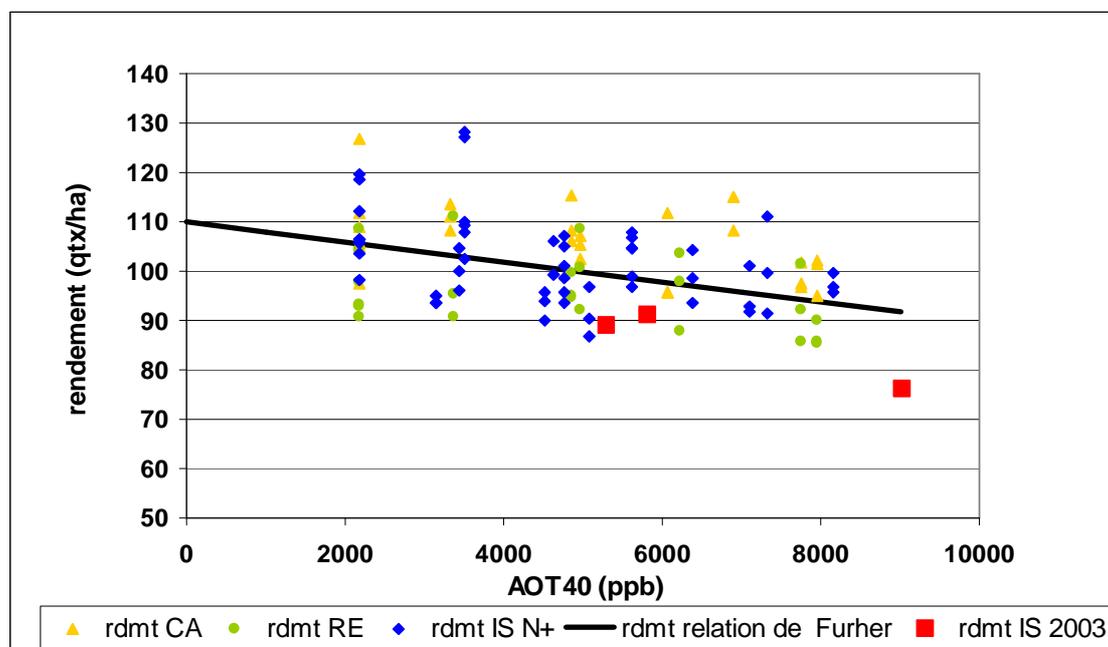


Figure 2.58. Relations entre les rendements en grains de trois variétés de blé situés à différentes distances de la rampe de fumigation et l'indice d'exposition à l'ozone AOT40 correspondant. Expérimentations Grignon 2003 et 2004

Effets sur la dynamique de sénescence foliaire

Le suivi fin des pourcentages de surface verte des feuilles 1 et 2 nous permet de reconstituer les évolutions des dynamiques de sénescence foliaire en fonction de l'exposition à l'ozone. Celles-ci nous ont ensuite permis de calculer les durées de vie de ces feuilles en fonction des doses d'ozone et ce pour chaque variété. Nous avons reporté ces valeurs dans la **figure 2.59** pour les 2 variétés les plus contrastées, Isangrain et Récital, qui tendent à montrer qu'il existerait une sensibilité variétale à ce paramètre.

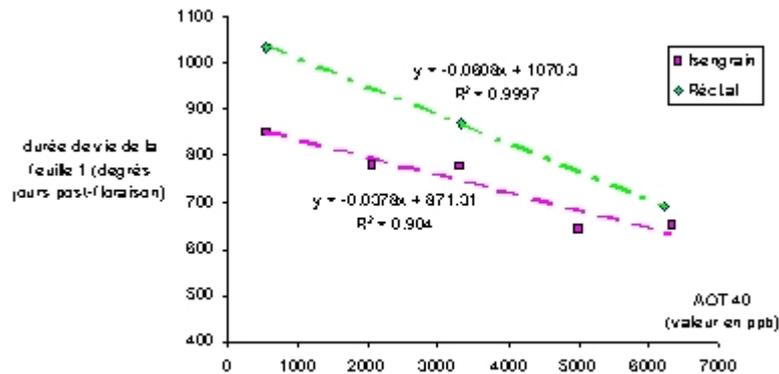


Figure 2.59. Relations entre l'indice d'exposition à l'ozone AOT40 et la durée de vie de la feuille étendard (feuille n°1) de deux variétés de blé, Isangrain (■) et Récital (◆). Expérimentations Grignon 2004

Ces diminutions de durée de vie des feuilles sont bien évidemment à l'origine de manques à gagner pour la production photosynthétique. Dans la **figure 2.60** nous avons reporté les rendements théoriques calculés en tenant compte de ces pertes sèches en fonction de rendements réellement observés pour les différents traitements dont nous disposions. On observe que même si la qualité de l'ajustement est faible, les points se répartissent bien selon une droite quasi identique à $Y=X$ montrant par là que l'accélération de la sénescence foliaire permet d'expliquer la majeure partie des pertes de rendement constatées.

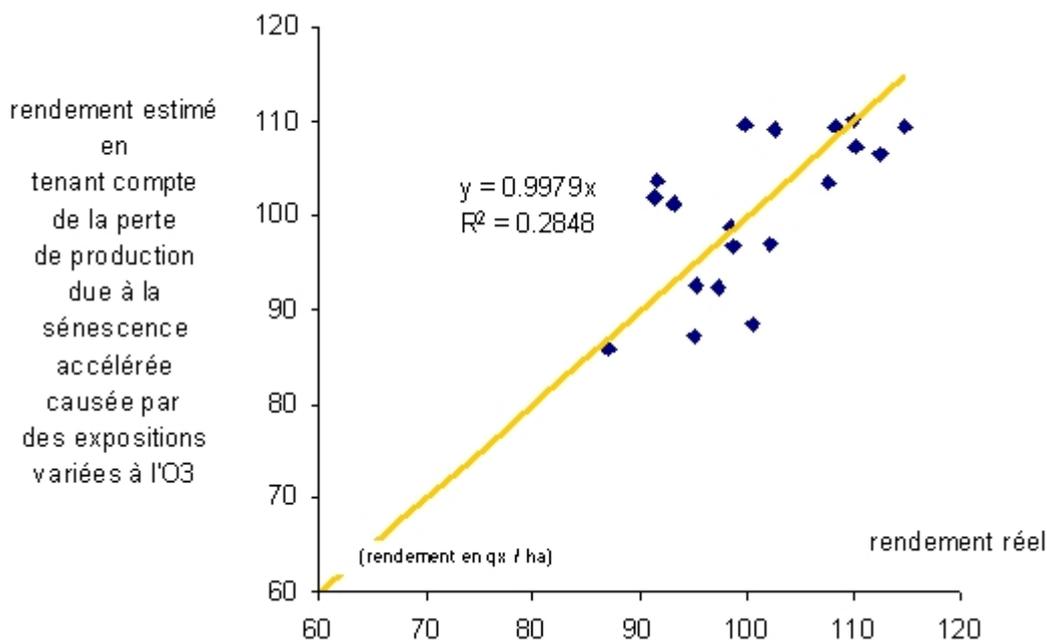


Figure 2.60. Relations entre le rendement réel du blé exposé à différents niveaux d’ozone et le rendement estimé en ne tenant compte que des effets de l’ozone sur la sénescence foliaire.

2.5.3 Introduction d’un module de contrainte ozone dans un modèle de culture

Comme expliqué dans le projet, le modèle de culture retenu est CERES. La première étape a consisté à introduire un module de photosynthèse plus détaillé pour permettre une prise en compte plus mécaniste des effets de l’ozone. Ce module a été à la fois stratifié verticalement, pour tenir compte du fait que les différentes feuilles sont exposées à des flux entrants d’ozone différents suivant leur position dans le couvert, et en même temps décomposé en vitesse de carboxylation et vitesse de transport des électrons selon le formalisme de Farquhar très utilisé à l’échelle de la feuille.

Nous avons ensuite validé ce nouveau modèle à la fois en fonction de l’ancienne version et des données expérimentales de suivi de biomasse : le résultat est présenté dans la **figure 2.61** pour l’année 2004, et on peut considérer la validation comme satisfaisante puisque le modèle se trouve toujours à l’intérieur de la gamme des points expérimentaux et très proche de la valeur moyenne.

La deuxième étape a consisté à établir une relation d’impact de l’ozone sur les différents paramètres de la photosynthèse à partir du travail de thèse de S.Lebard au sein de l’UMR EGC et de la bibliographie. Plusieurs fonctions ont en effet été proposées, mais elles présentaient l’inconvénient de recourir à des paramétrages très différents suivant les auteurs et les expérimentations concernées. En recourant à une approche plus conceptuelle (analyse différentielle), nous avons pu développer un nouveau formalisme permettant d’aligner tous les points (**figure 2.62**, graphe de gauche), et donc de prédire avec une bonne précision ($R^2 = 0.94$ cf graphe de droite) la réduction de la vitesse de carboxylation en fonction du flux entrant d’ozone.

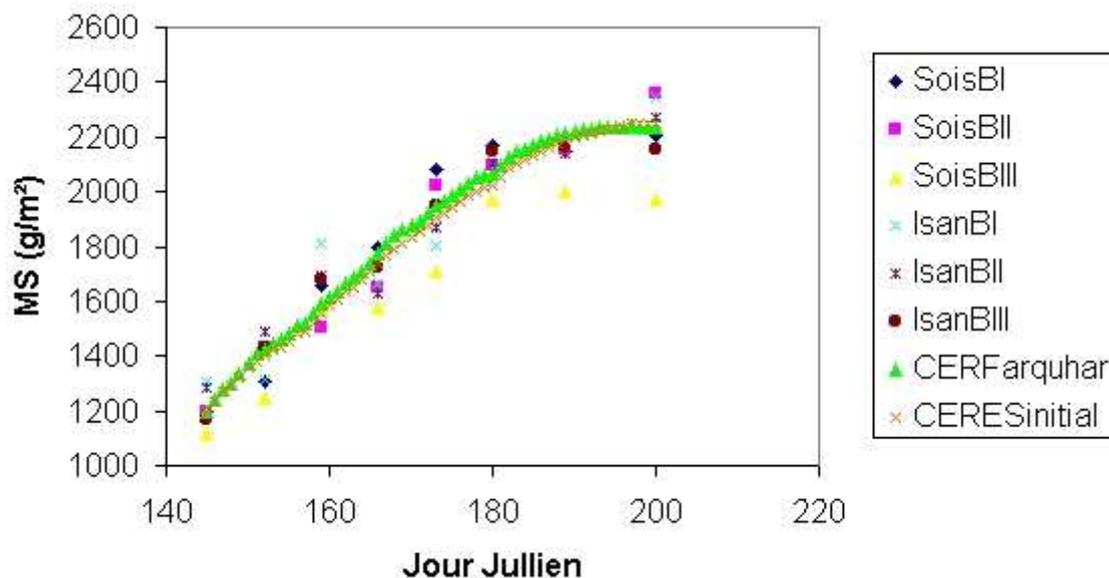


Figure 2.61. Production de matière sèche observée et prédite par deux versions du modèle CERES : la version « classique » (en jaune) et une nouvelle version intégrant une modélisation de la photosynthèse fondée sur l'approche dite « de Farquhar ».

Enfin, le nouveau modèle avec contrainte ozone a été validé sur les données des expérimentations au champ, à la fois à l'échelle foliaire (**figure 2.63**) sur les mesures de conductance et de photosynthèse et à l'échelle du peuplement sur les mesures de biomasse.

L'étape suivante consistera à faire tourner le modèle obtenu sur une série climatique et de mesures de concentrations en ozone sur un ensemble de sites (par exemple réseau AIRPARIF) pour évaluer par une étude fréquentielle les pertes de rendement régionales en fonction de la distance à un site de pollution tel que l'agglomération parisienne.

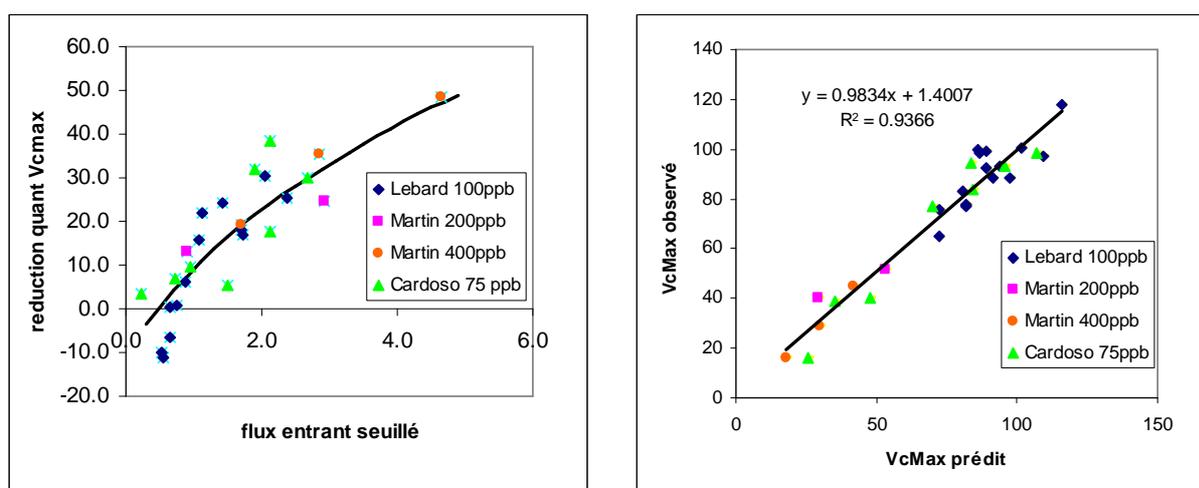


Figure 2.62. Impact du flux d'ozone absorbé par la feuille sur le paramètre V_{cmax} : à gauche, relation entre le flux d'ozone absorbé et les valeurs de V_{cmax} observées (points) ou modélisée (courbe). A droite, relation entre V_{cmax} prédit par le modèle et le V_{cmax} observé.

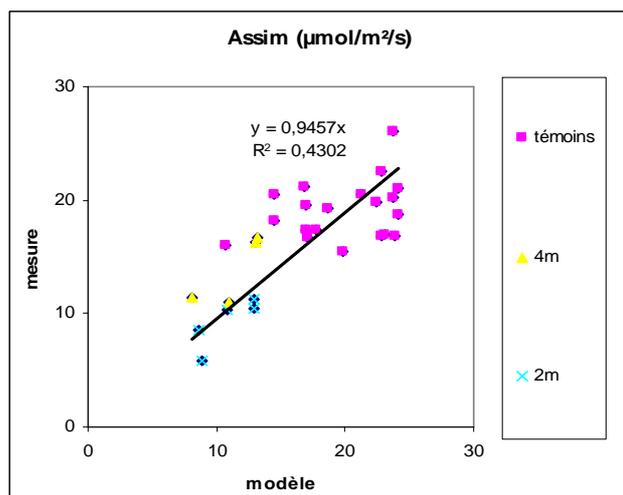


Figure 2.63. Relation entre la photosynthèse mesurée au champ sur des feuilles de blé exposées à différents niveaux d’ozone (en fonction de la distance à la rampe de fumigation) et la photosynthèse prédite par le modèle.

2.5.4 Conclusions

Les expérimentations de terrain et l’approche de modélisation réalisée montrent que l’on peut prédire les principaux effets de l’ozone sur le rendement du blé en prenant en compte l’impact du polluant sur la sénescence foliaire et sur la photosynthèse. Cette conclusion rejoint les observations des études physiologiques. Si l’effet sur la photosynthèse semble être prépondérant en conditions contrôlées, il apparaît que c’est plutôt l’effet sur la réduction des surfaces foliaires vertes qui joue un rôle majeur dans les conditions de plein champ. La diminution de la capacité photosynthétique fait partie des événements qui se déroulent lors des processus de sénescence. Il est donc possible que les conditions contrôlées soient moins favorables que celles du champ à une sénescence rapide et complète de la feuille. Ainsi, la phase transitoire de réduction de photosynthèse est observable de façon très sensible en conditions contrôlées, alors que son poids reste faible au champ compte tenu de l’augmentation rapide du rapport parties sèches/parties vertes de la feuille.

Néanmoins, les résultats obtenus en conditions contrôlées (impact de l’ozone sur le paramètre V_{cmax} , expérimentation Grignon 2002-2004) ont pu être utilisés pour élaborer un modèle d’impact de l’ozone sur la photosynthèse. L’intégration de ce modèle de photosynthèse au modèle de production CERES, donne des résultats encourageants.

Dans l’avenir, le couplage d’un modèle simple comme CERES « ozone » avec un modèle simple de dépôt comme « SURFATM » (cf partie 3) pourra permettre de disposer d’un outil opérationnel et efficace de prédiction des impacts du polluant à l’échelle régionale.

Une approche similaire et d’ores et déjà engagée sur le maïs. Cependant, nous avons vu que la modélisation des impacts de l’ozone sur les plantes en C4 n’est pas aussi aisée que dans le cas du blé.

2.6 Références citées dans la partie 2

- Alonso R., Elvira S., Castillo F.J. et Gimeno B.S. 1999. Antioxidative defense and photoprotection in *Pinus halepensis* induced by mediterranean conditions and ozone exposure. *Free Radical Research*, 31:59-65.
- Black V. J., Black C. R., Robert J. A. et Stewart C. A. 2000. Impact of ozone on reproductive development of plants. *New Phytol.*, 147:421-447.

- Bonte et Dizengremel 1993. Rapport Académie des Sciences "Ozone et propriétés oxydantes de la troposphère", Lavoisier TecDoc, 30:215-238.
- Bradford M.M. 1976. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Anal. Biochem.*, 72, 248-254.
- Dizengremel P. 2001. Effects of ozone on the carbon metabolism of forest trees. *Plant Physiol. Bioch.*, 39:729-742.
- Dizengremel P., Gerant D., Petrini M., Afif D., Cornu S., Morabito D. et Sehmer L. 1993. Effet de l'ozone sur la nutrition carbonée des arbres forestiers. In Actes du colloque : Pollutions atmosphériques à l'échelle locale et régionale, décembre 1993. Ademe, CNRS, Ministère de l'environnement. Cachan (France) : 281-282.
- Dreyer E., LeRoux X., Montpied P., Daudet F.A. & Masson F. (2001) Temperature response of leaf photosynthetic capacity in seedlings from seven temperate tree species. *Tree Physiology*, 21, 223-232.
- Farage P. K. et Long S. P. 1999. The effect of O₃ fumigation during leaf development on photosynthesis of wheat and Pea: An in vivo analysis. *Photosynth. Res.*, 59:1-7.
- Farquhar G. D. et Richards R. A. 1982. On the relationship between carbon isotope discrimination and the intercellular carbon dioxide concentration in leaves. *Aust. J. Plant Physiol.* 9:121-137.
- Fontaine V., Pelloux J., Podor M., Afil D., Gérant D., Grieu P., et Dizengremel P. 1999. Carbon fixation in *Pinus Halepensis* submitted to ozone. Opposite response of ribulose -1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase and phosphoenolpyruvate carboxylase. *Physiol. Plantarum*, 1054, 187-192.
- Fontaine V., Cabane M., Dizengremel P. 2003. Regulation of phosphoenolpyruvate carboxylase in *Pinus halepensis* needles submitted to ozone and water stress. *Physiologia Plantarum*, 117:445-452.
- Grünhage L., Jäger H. J., Haenel H. D., Löpmeier F. J. et Hanewald K. 1999. The european critical levels for ozone : improving their usage. *Environmental Pollution*, 105:193-173.
- Haagen-Smit A. J., Darley E. F., Zaitlin M., Hull H. et Noble W. 1952. Investigation on injury to plants from air pollution in the Los Angeles area. *Plant Physiol.*, 27:18-34.
- Heagle A. S., Kress L. W., Temple P. J., Kohut R. J., Miller J. E. et Heggstad H. E. 1988. Ozone dose- yield response relationships. In Assessment of Crop Loss from Air Pollutants, Heck W. W., Taylor O. C. et Tingey D. T ed., Elsevier Applied Science, London, New York, 141-179.
- Heagle A. S. 1989. Ozone and crop yield. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 27:397-423.
- Junqua M., Biolley J. P., Pie S., Kanoun M., Duran R. et Goulas P. (2000). In vivo occurrence of carbonyl residues in *Phaseolus vulgaris* proteins as a direct consequence of a chronic ozone stress. *Plant Physiol. Biochem.*, 38:853-861.
- Kanoun M., Goulas P., Bassères A et Biolley J.-P. 2002. Ozone-induced oxidation of Rubisco : from an ELISA quantification of carbonyls to putative pathways leading to oxidizing mechanisms, *Funct. Plant Biol.*, 29, 1357-1363.
- Leitao L., Goulas P. et Biolley J.P. 2003. Time-course of Rubisco oxidation in beans (*Phaseolus vulgaris* L.) subjected to a long-term ozone stress. *Plant Sci.*, 165, 613-620.
- Le Thiec D. et Manninen S. 2003. Ozone and water deficit reduced growth of aleppo pine seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry.*, 41:55-63.
- Lichtenthaler H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids : Pigments of photosynthetic Biomembranes, *Method enzymol.*, 148, 350-382.
- Lütz C., Anegg S., Gerant D., Alaoui-Sosse B., Gérard J. et Dizengremel P. 2000. Beech trees exposed to high CO₂ and to simulated ozone levels. Effects on photosynthesis, chloroplast components and leaf enzyme activities. *Physiologia Plantarum*, 109:252-259.
- Marengo A., Nedelec P., Pages J. P. et Macaigne M. 1992. Long term evolution of ozone at the mid latitudes of the northern hemisphere, European Geophysical Society : XVII General Assembly (Session OA-10), 6-10 April 1992, Edinburgh.
- Miller P. R., Parmeter J. R., Taylor O. C. et Cardiff E. A. 1963. Ozone injury to the foliage of *Pinus ponderosa*. *Phytopathology*, 53:1072-1076.

- Miller J. E. 1988. Effects on photosynthesis, carbon allocation and plant growth associated with air pollutant stress. In Assessment of Crop Loss from Air Pollutants, Heck W.W., Taylor O.C. et Tingey D.T ed., Elsevier Applied Science, London, New York, 287-314.
- Pell E. J., Eckardt N. et Enyedi A. J. 1992. Timing of ozone stress and resulting status of ribulose biphosphate carboxylase / oxygenase and associated net photosynthesis, *New Phytol.*, 120:397-405.
- Pell E. J., Schlangnhauser C. D. et Arteca R. N. 1997. Ozone-induced oxidative stress: Mechanisms of action and reaction. *Physiol. Plantarum*, 100:264-273.
- Pelloux J., Jolivet Y., Fontaine V., Banvoy J. et Dizengremel P. 2001. Changes in Rubisco and Rubisco activase gene expression and polypeptide content in *Pinus halepensis* Mill. subjected to ozone and drought. *Plant Cell Env.*, 24:23-132.
- Reichenauer T. G., Goodman B. A., Kosteki P. et Soja G. 1998. Ozone sensitivity in *Triticum durum* and *T. aestivum* with respect to leaf injury, photosynthetic activity and free radical content. *Physiol. Plantarum*, 104:681-686.
- Rennenberg H., Polle A. et Reuther M. 1997. Role of ozone in forest decline on Wank Mountain (Alps). In: Forest Decline and Ozone – A comparison of Controlled chamber and Field experiments. Ecological Studies 127 (Sandermann, Wellburn et Heath eds.), Springer. pp.135-162
- Sandermann H., Wellburn A. R. et Heath R. L. 1997. Forest Decline and Ozone. Ecological Studies, 52, Springer, Berlin, New York, pp. 400.

3 Echanges de polluants végétation-atmosphère

3.1 Contexte

Les émissions et les dépôts de polluants au sein des écosystèmes sont des étapes majeures du devenir des polluants atmosphériques. Les écosystèmes naturels, et en particulier agricoles, représentent en effet la source principale d'ammoniac atmosphérique (95% en France, CITEPA, 2002), de protoxyde d'azote (65%), de méthane (60%) et de pesticides, et des sources significatives d'oxydes d'azote (10-15%) et de composés organiques volatils biogènes (COVB) (Simpson et al., 1999). Les sources primaires sont ici essentiellement les sols, que le processus d'émission soit d'origine physico-chimique (ammoniac, pesticides) ou microbiens (N_2O , NO_x , CH_4). Cependant la végétation elle-même peut aussi être une source, en particulier d'ammoniac, d'oxydes d'azote ou de composés organiques volatils. A l'inverse, les écosystèmes représentent un puits important pour l'ozone (de l'ordre de 25%, Acad. Sciences, 1993), le SO_2 , le NO_2 et les particules (Cellier et al., 2004). Dans ce cas, la plante est souvent le lieu principal des dépôts, même s'il convient de ne pas négliger le sol.

Comme nous l'avons mentionné dans le texte de la proposition du projet **BIOPOLLATM**, les travaux sur les émissions de polluants depuis les sols sont conduits dans le cadre d'autres projets de recherche. Nous nous sommes donc focalisés essentiellement sur les échanges entre un couvert végétal (incluant le sol et la végétation) et l'atmosphère, avec un accent plus particulier sur les dépôts.

Les échanges de polluants entre un couvert végétal résultent d'un ensemble de processus complexes dans lesquels le sol, la plante, l'atmosphère et le microclimat jouent chacun un rôle important (voir figure 3.1).

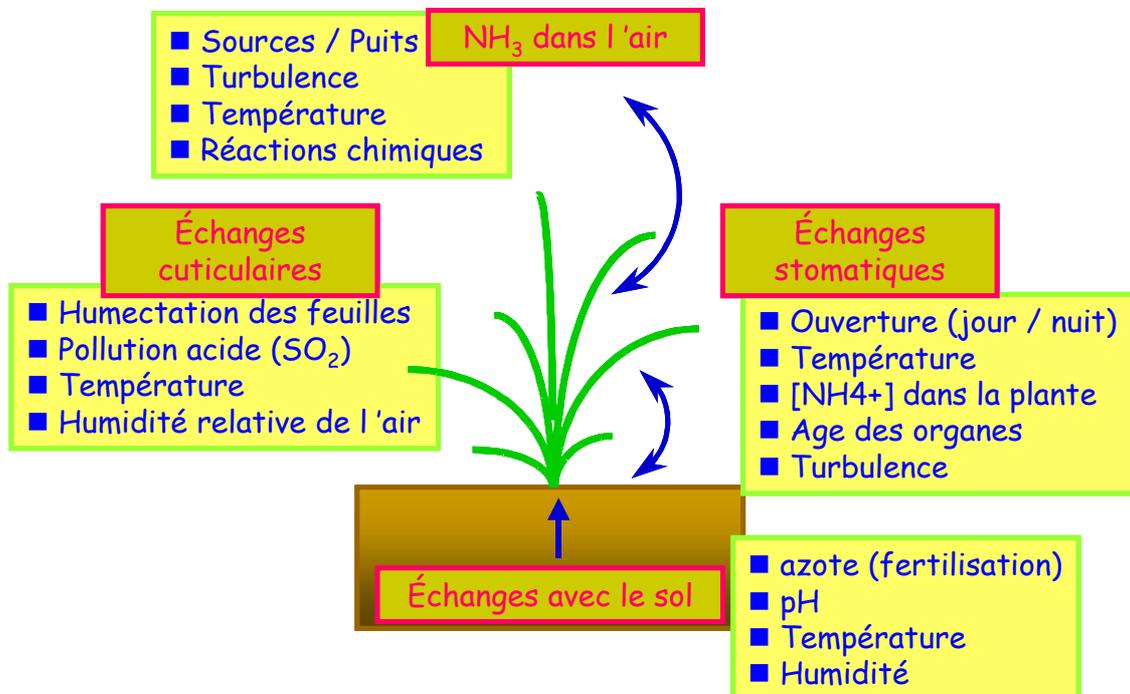


Figure 3.1 : Principaux processus et variables impliqués dans les échanges d'ammoniac entre une plante et l'atmosphère. Ce schéma général pourrait aisément être transposé à d'autres polluants (d'après David, 2002)

En dehors des émissions d'origine microbienne, le sol - qui est un arrangement complexe d'éléments minéraux, de matière organique, d'eau et d'air - influence les dépôts principalement par le biais de ses caractéristiques physiques et chimiques. Sa teneur en eau et matière organique peuvent être une source de variabilité importante. La plante intervient, elle, (1) par le biais de sa structure physique (les couverts végétaux peuvent représenter des surfaces développées très importantes et variables selon les écosystèmes), (2) par la nature de sa surface (cuticules, stomates, écorces) et (3) par le biais de son métabolisme. Sur ce dernier point, on est amené à introduire la notion de point de compensation (Baldocchi et al., 1987 ; Sutton et al., 1995) qui traduit la concentration en polluant dans la plante et donc son potentiel d'émission et de dépôt. Les conditions météorologiques interviennent, quant à elles, sur le transfert convectif entre le couvert végétal et l'atmosphère et sur les conditions d'échange au niveau de la végétation : le rayonnement contrôle en grande partie la conductance stomatique, alors que la température joue fortement sur le point de compensation. L'humidité de l'air est, quant à elle, connue pour influencer fortement le dépôt sur les surfaces externes de la végétation (Sutton et al., 1995 ; Van Hove et Anema, 1996), mais également la conductance stomatique (Burkhardt et al., 2001).

Compte tenu de la multiplicité de ces effets et de leurs interactions, il est illusoire de se contenter d'approches expérimentales pour expliquer les échanges et établir des relations prédictives. Seule une approche mécaniste permet d'évaluer les échanges et leurs facteurs de contrôle et d'introduire dans les modèles atmosphériques une description et une quantification de ces échanges sur les échelles de temps pertinentes (heure, journée). Pour simuler les échanges végétation-atmosphère de polluants, il est donc essentiel de travailler autour d'un modèle capable d'intégrer ces différents effets et les interactions entre facteurs et mécanismes. Pour prendre en compte ces effets respectifs du sol, de la plante et des conditions météorologiques, nous avons choisi comme cadre d'analyse un modèle d'échanges sol-végétation-atmosphère (modèle SVAT), basé sur une description des échanges sous forme de réseaux de résistances par analogie avec les transferts d'électricité. Ce type de modèle est très largement employé dans le domaine de l'analyse des échanges de vapeur d'eau, CO₂ et divers polluants (voir par exemple Baldocchi et al., 1987 ; Monteith et Unsworth, 1990 ; Nemitz et al., 2000) car il permet une formalisation claire et quantifiable des échanges en prenant en compte à des niveaux comparables les processus et facteurs liés à l'atmosphère, à la plante et au sol. Ce type de modèle est également largement employé comme interface entre l'atmosphère et la surface dans les modèles atmosphériques (Carson et al., 1982 ; Noilhan et Planton, 1989). Dans le cadre de **BIOPOLLATM**, nous avons mis au point un modèle couplant les échanges de polluant au bilan d'énergie du couvert végétal. Ce modèle, appelé SurfAtm est pour l'instant adapté aux cas de l'ammoniac et de l'ozone. Ce travail comprenait d'une part la conception et la validation du modèle lui-même (partie 3.2) et d'autre part un travail sur les paramétrisations des différentes résistances impliquées (partie 3.3). Ces travaux de modélisation se sont appuyés sur des séries longues de mesures des flux *in situ*, sur des dispositifs mis en place dans le cadre de **BIOPOLLATM** à Grignon (cultures agricoles) et Bordeaux (forêt de Pins) (partie 4.1).

Il convient également de souligner ici que ce travail de modélisation des échanges est central dans le projet **BIOPOLLATM**, puisqu'il se trouve à l'interface entre le volet « Ecophysiologie » et le volet « Spatialisation ». Il a, en effet, des implications fortes sur le volet « Ecophysiologie » puisque les modèles d'échanges développés ici, sont ou seront utilisés pour estimer les quantités d'ozone réellement absorbées par la végétation. Ces modèles d'échanges font en effet la part entre dépôts sur le sol, sur la surface externe de la végétation et l'absorption de polluant par la végétation. De la même manière, ce modèle SVAT est destiné à faire l'interface avec les travaux conduits à une échelle supérieure. Il

devrait permettre d'affiner les calculs de dépôts sur les surfaces naturelles (et leur variabilité selon les écosystèmes et les conditions météorologiques) dans les modèles de chimie atmosphérique, et donc notre connaissance de la contribution (positive ou négative) des écosystèmes naturels à la pollution de l'air. En outre, l'utilisation conjointe de modèles de prévision de la qualité de l'air, de modèles SVAT et de modèles d'impact (cf partie 2.3) permettra une estimation spatialisée des impacts. Les travaux conduits dans le cadre de *BIO POLL ATM* n'ont toutefois pas encore abordé cette dimension.

3.2 Une approche générique des échanges de polluants entre une surface naturelle et l'atmosphère

Notre objectif était de mettre au point un modèle générique de polluants entre un couvert végétal et l'atmosphère à l'échelle locale en conditions homogènes, à savoir celle d'une parcelle agricole (typiquement 1 ha à 1 km²). Les échanges sont considérés comme unidimensionnels, selon la verticale. Par « générique », nous entendons un modèle aussi général que possible, qui puisse, avec le même formalisme, être adapté à plusieurs polluants et couvert végétaux dans des conditions de sol et de climat diverses. Ce modèle doit donc posséder des paramétrisations de ces différents facteurs de variation. Il doit aussi, pour cela, prendre en compte les principaux processus et les principales voies de dépôts et émissions de polluants (sol-végétation, cuticule-stomate, métabolisme de la plante, ...).

Un point-clef a été de trouver le meilleur compromis entre une description réaliste et complète des principaux mécanismes et compartiments impliqués et un caractère opérationnel, sachant que ce modèle est destiné à (1) analyser la variabilité des émissions et dépôt et identifier les principales sources de variation, (2) calculer les quantités de polluants réellement absorbée par la végétation en vue d'estimer un impact et (3) être une interface végétation-atmosphère dans un modèle de chimie atmosphérique. Pour cela, nous avons pris l'option d'un modèle à deux couches, l'une représentant la végétation, l'autre le sol, couplant les échanges de polluant et les échanges d'énergie. La modélisation de ces échanges d'énergie permet d'établir certains coefficients d'échange et des variables d'équilibre (température, humidité) nécessaires pour le calcul des dépôts de polluants. Il était essentiel de prendre en compte de manière explicite le sol et la végétation séparément car les processus de dépôt et d'émissions de polluants peuvent être de nature très contradictoire entre ces deux compartiments de l'environnement. Nemitz et al. (2000) ont par exemple mis en évidence des relations complexes au sein d'un couvert de colza, où des parties de la végétation et le sol sont émetteurs d'ammoniac alors que d'autres parties de la plante l'absorbent. Des modèles plus complexes peuvent être des outils précieux d'analyse (Raupach, 1989 ; Loubet, 2000) mais sont réservés à des spécialistes et ne peuvent être couplés à des modèles atmosphériques en raison de leur complexité et lourdeur de calcul.

Le développement du modèle SurfAtm (Personne et Loubet, 2003), établi sur la base d'une approche à résistances, distingue donc le sol et la végétation. Cette approche permet de quantifier les trois voies d'échanges (stomatiques, cuticulaire et sol) à partir des données climatiques, d'une mesure de concentration à la hauteur de référence et d'une description simplifiée de la structure du couvert. A ce stade du projet *BIO POLL ATM*, il a été mis au point pour deux polluants majeurs : l'ammoniac et l'ozone. L'intérêt du premier est que les dépôts sont fortement contrôlés par le métabolisme de la plante (azote dans la plante, qui détermine en grande partie le point de compensation), d'une part, et le microclimat d'autre part (température et humidité de surface, en particulier). L'ozone, quant à lui, a été choisi en raison de son impact fort sur le métabolisme des plantes et sur l'importance qu'il prend dans la problématique de la pollution de l'air et de ses impacts sur la santé et les écosystèmes. Ce sont

également ces différentes considérations qui ont présidé à son choix pour le travail sur l'impact des polluants sur le fonctionnement et la production des plantes (partie 2).

3.2.1 Description du modèle SURFATM – cas de l'ammoniac

Le développement initial de SurfAtm a été effectué sur la base de travaux menés par l'INRA-EGC sur les échanges d'ammoniac. C'est ce premier modèle qui est présenté ci-dessous. Sous l'hypothèse que les échanges entre un couvert et l'atmosphère se décomposent selon trois voies principales– le sol, la voie stomatique, la voie cuticulaire – , le modèle est construit en distinguant chacune de ces voies. Un schéma résistif (figure 3.2) permet de représenter le niveau « végétation » qui intègre les échanges stomatiques et les échanges cuticulaires et le niveau « sol » qui intègre les processus liés à l'émission et au dépôt du sol. Dans le modèle « SurfAtm-NH₃ », le couplage entre le modèle de transfert de masse et de bilan d'énergie est un point clé du modèle en raison de l'importance de la température et de l'humidité des surfaces pour l'établissement des valeurs des résistances de surface et le point de compensation. En outre, on sait qu'on peut considérer que les processus d'échanges entre les surfaces sol/végétation et l'atmosphère sont similaires pour tous les gaz, ce qui permet d'adapter facilement certaines résistances calculées pour la vapeur d'eau ou le CO₂ au cas des polluants.

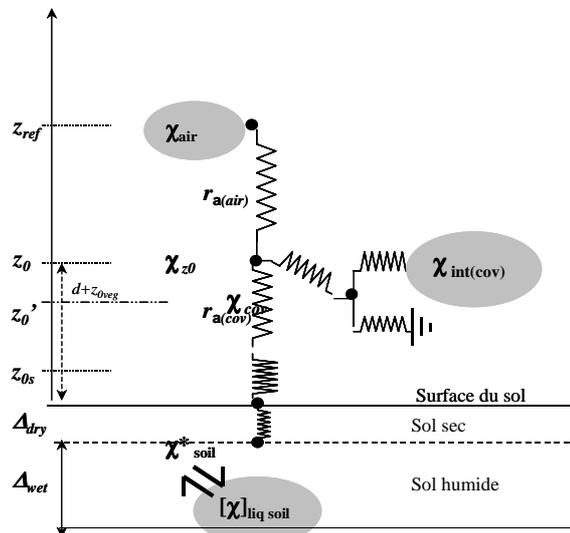


Figure 3.2 : schéma d'échange sol-végétation-atmosphère à deux couches utilisé dans le modèle SurfAtm. La signification des symboles est explicitée dans le texte.

Le modèle de bilan d'énergie est fondé sur les travaux de Choudhury et Monteith (1988), lequel est couplé au schéma d'échange d'ammoniac proposé par Nemitz et al (2000). Pour la simulation des échanges d'ammoniac, la paramétrisation adoptée est détaillée dans Milford et al. (2001) et Personne et al. (en préparation). Elle est évidemment spécifique à l'ammoniac.

Le schéma résistif permet de quantifier les échanges sous condition que les résistances au transfert entre chacun des points soient déterminées. Les résistances au transfert qui sont présentées dans la figure 3.2 sont la résistance aérodynamique ($r_{a(air)}$), la résistance dans le couvert (résistance turbulente de z_{0sol} à z'_{0} , $r_{a(cov)}$), la résistance de couche limite du sol ($r_{b(cov)}$), la résistance moyenne de couche limite des feuilles ($r_{b(soil)}^{\chi}$), la résistance stomatique (r_{stom}^{χ}) et la résistance cuticulaire r_{cut} .

Les résistances $r_{a(air)}$ et $r_{a(cov)}$ sont indépendantes du composé étudié, alors que les résistances $r_{b(cov)}^\chi$ et $r_{b(soil)}^\chi$, et, r_{soil}^χ et r_{Stom}^χ sont fonctions de la diffusivité moléculaire du gaz étudié. On introduira donc pour l'ammoniac par le biais des rapports de diffusivités moléculaires D les corrections suivantes pour les flux qui ne sont pas turbulents

$$(\mathfrak{R}_{NH_3} = \frac{D_{NH_3}}{D_{H_2O}})$$

$$\begin{cases} r_{b(cov)}^{NH_3} = (\mathfrak{R}_{NH_3})^{-2/3} \times r_{b(cov)}^{vap} \\ r_{b(soil)}^{NH_3} = (\mathfrak{R}_{NH_3})^{-2/3} \times r_{b(soil)}^{vap} \end{cases} \quad (3.1a)$$

et

$$\begin{cases} r_{Stom}^{NH_3} = (\mathfrak{R}_{NH_3})^{-1} \times r_{Stom} \\ r_{soil}^{NH_3} = (\mathfrak{R}_{NH_3})^{-1} \times r_{soil}^{vap} \end{cases} \quad (3.1b)$$

Pour un autre gaz, on remplacera D_{NH_3} par la diffusivité moléculaire du gaz considéré.

Pour la résistance cuticulaire, il existe peu de références disponibles, mais la plupart prennent comme principale variable explicative l'humidité relative de l'air. Une diminution de la résistance bien avant la saturation traduit le fait que le dépôt cuticulaire est accéléré bien avant que de la rosée ne soit visible sur la surface du couvert végétal, en raison de la forte influence des phénomènes de solubilité, d'adsorption d'eau à la surface et d'interactions chimiques en phase liquide à la surface (Sutton et al. 1995 ; Flécharde et al., 1998). Ces paramétrisations sont adaptées pour l'ammoniac mais elles demeurent spécifiques à chaque type de composé étudié. Nous avons utilisé les relations de Sutton et al. (1998) qui expriment cette résistance comme une décroissance exponentielle de l'humidité relative. Il y aurait encore beaucoup de travail à faire sur la détermination de cette résistance cuticulaire. Nous espérons pouvoir améliorer ces relations par des mesures en chambre de fumigation (voir partie 4) où les conditions microclimatiques peuvent être contrôlées tout en mesurant les flux de dépôt.

Un autre paramètre-clef de ce modèle est le point de compensation stomatique $\chi_{int}^{NH_3}(cov)$. Pour l'ammoniac, il est fonction de la concentration en azote ammoniacal ($NH_3 + NH_4^+$) et du pH de l'apoplasme, ainsi que de la température. Le point de compensation est fonction de l'équilibre acido-basique NH_4^+/NH_{3aq} en phase aqueuse et de l'équilibre de Henry et s'exprime comme suit :

$$\chi_{int}^{NH_3}(cov) = K_{NH_3}^{25^\circ C} \times K_{AB_NH_3}^{25^\circ C} \times \exp\left(\frac{H_{AB_NH_3}^0 + H_{vap_NH_3}^0}{R} \cdot \left(\frac{1}{298.15} - \frac{1}{T_{cov}^K}\right)\right) \times \frac{[NH_4^+]}{[H^+]_{cov}} \quad (3.2)$$

- $K_{NH_3}^{25^\circ C}$ et $K_{AB_NH_3}^{25^\circ C}$ sont les constantes de solubilité de NH_3 [sans unité] et de dissociation de NH_4^+ en NH_3 [mol/l]

- $H_{vap_NH_3}^0$ et $H_{AB_NH_3}^0$ sont les enthalpies libres pour la vaporisation de NH_3 [kJ/mol] et pour l'équilibre acido-basique $NH_4^+ - NH_3$ [kJ/mol]

- T_{cov}^K est la température des feuilles exprimée en Kelvin.

Dans cette approche, on sera amené à introduire le paramètre Γ , égal au rapport NH_4^+/H^+ qui représente un potentiel d'émission régi par l'équilibre acido-basique dans la plante et indépendant de la température. Le couplage du modèle d'échange et du modèle de bilan d'énergie permet de calculer les températures des surfaces de feuilles et de sol, lesquels sont les variables-clés pour déterminer les points de compensation des feuilles.

Les points de compensation (notés $\chi_{\text{int}}^{\text{NH}_3}$), calculés au niveau des feuilles (indice *cov*) et au niveau du sol (indice *soil*), peuvent être interprétés comme des concentrations internes établies à un instant donné. Ils vont piloter les échanges entre chacun des niveaux suivant les gradients de concentration entre ces niveaux. Ces gradients seront fonction du niveau de concentration extérieur, du niveau de nutrition azoté de la plante (Γ) et de la température. Cette dernière peut faire passer d'une situation de dépôt à une situation d'émission au cours d'un même jour.

3.2.2 Résultats – validation de Surf atm

Le modèle Surf atm-NH₃ a été testé sur un jeu de données recueilli au cours du projet GRAMINAE (Sutton et al 2002). L'intérêt de ce jeu de données réside dans la combinaison des situations représentées au cours de la période de mesures : c'est une prairie qui a été fauchée (29/05) puis sur laquelle une fertilisation azotée a été apportée quelques jours après (6/06). On a donc observé des échanges sur un couvert développé (avant fauche) et ras, avec une proportion de sol visible importante, puis des émissions depuis le fertilisant (ammonitrate). Ceci donne un ensemble de situations propices au test d'un modèle générique impliquant diverses configurations de végétation, des conditions météorologiques très variées et des états physiologiques de la plante très différenciés.

On remarquera sur la figure 3.3 que l'écart de température entre l'air et les surfaces (sol et végétation) peut approcher les 10°C ce qui renforce la nécessité de déterminer les températures des surfaces pour la modélisation du point de compensation. En effet, pour un composé comme l'ammoniac, une augmentation de 5°C induit un doublement du point de compensation (Sutton et al., 1995) et donc une modification sensible des gradients entre l'air et la surface considérée. Une variation de température du sol ou de la végétation au cours de la journée pourra faire passer le point de compensation d'une valeur inférieure à la concentration atmosphérique à une valeur supérieure, et donc les échanges d'une situation de dépôt à une situation d'émission. En outre, on peut voir que la température de la végétation n'est pas uniforme, et notamment que les feuilles basses, parfois sénescentes et moins bien « ventilées » ont une température supérieure à celle des feuilles supérieures du couvert. Quant à la température de la surface du sol (non montrée sur la figure 3.3, elle peut être bien supérieure à celle des feuilles basses). De plus, les amplitudes de température (qui peuvent atteindre 25-30°C sur une journée : voir par exemple les 9, 10 et 13 juin) s'accompagnent de variations inverses d'humidité relative et donc de la résistance et du dépôt cuticulaires. L'intérêt de bien reproduire les températures des surfaces et l'humidité de l'air au sein du couvert végétal est donc majeur pour ce type de composé. Mais ce serait également le cas pour de nombreux autres polluants.

Le modèle Surf atm-NH₃ permet de reproduire avec une précision meilleure que 2°C les températures des surfaces du sol (litière de feuilles) et de la végétation (voir figure 3.3). Les résultats de la simulation avec Surf atm-NH₃ donnent une température de végétation (T_{cov}) qui se situe systématiquement entre les mesures des températures de feuilles en bas du couvert et au sommet du couvert, les feuilles basses ayant une température plus élevée que les feuilles du haut lorsque la végétation est rase (feuilles proches du sol surchauffé). Sur la figure 3.3, on peut constater que les températures de feuilles modélisées sont plus proches des mesures de température mesurées au sommet du couvert.

Le couplage entre la température modélisée par le modèle de bilan d'énergie et le modèle d'échange de polluants permet de reproduire les flux d'ammoniac au dessus du couvert (figure 3.4a), que ce soit en condition de végétation dense où les flux sont faibles (flux de dépôts inférieur à $80 \text{ ng.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ du 14 au 29 mai) ou en condition de végétation rase après apport de fertilisants (après le 6 juin). Dans cette dernière situation, l'émission depuis le sol est la composante la plus forte même si l'on peut distinguer un flux d'absorption par la végétation (figure 3.4a). La figure 3.4b représente l'évolution du potentiel d'émission du sol et du couvert qui permet de reproduire la cinétique d'évolution du flux au dessus du couvert sur la période entière de l'expérimentation.

Les figures 3.5a et 5b représentent, d'une part un zoom sur certaines périodes (avant la fauche pour la figure 3.5a et après la fertilisation pour la 3.5b), d'autre part la décomposition du flux total au dessus du couvert en ses différentes composantes « sol » et « végétation ».

On peut voir sur la figure 3.5a que la comparaison modèle-mesure est raisonnable. Les ordres de grandeur sont respectés ainsi que les dynamiques journalières sauf peut être après le 26 mai sur la prairie non fauchée. On ne peut toutefois espérer faire beaucoup mieux compte tenu de la faiblesse des flux (quelques $\text{ng/m}^2/\text{s}$ ou g/ha/j). Sur la période post-fertilisation la correspondance est bien meilleure. En terme de décomposition des flux, on voit bien que l'essentiel du flux est une absorption par la végétation dans la première période. Le flux d'émission du sol est faible, avec quelques émissions correspondant à des périodes chaudes. Au cours de la deuxième période par contre (figure 3.5b), le flux est principalement contrôlé par les émissions depuis le sol, en pratique le fertilisant (granulés d'ammonitrate). Les flux d'émissions sont beaucoup plus importants que les dépôts de la figure 3.5a, mais on peut voir que la végétation capte une fraction non négligeable (environ 10%) du flux d'émission depuis le sol. Cette fraction serait beaucoup plus importante si la fertilisation avait été faite sur une culture plus développée, par exemple une ou deux semaines plus tard.

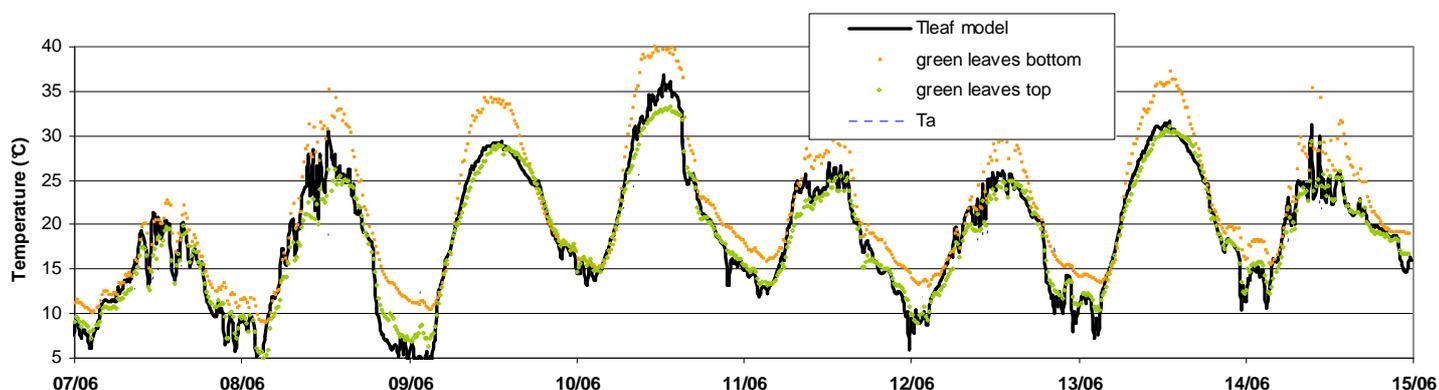
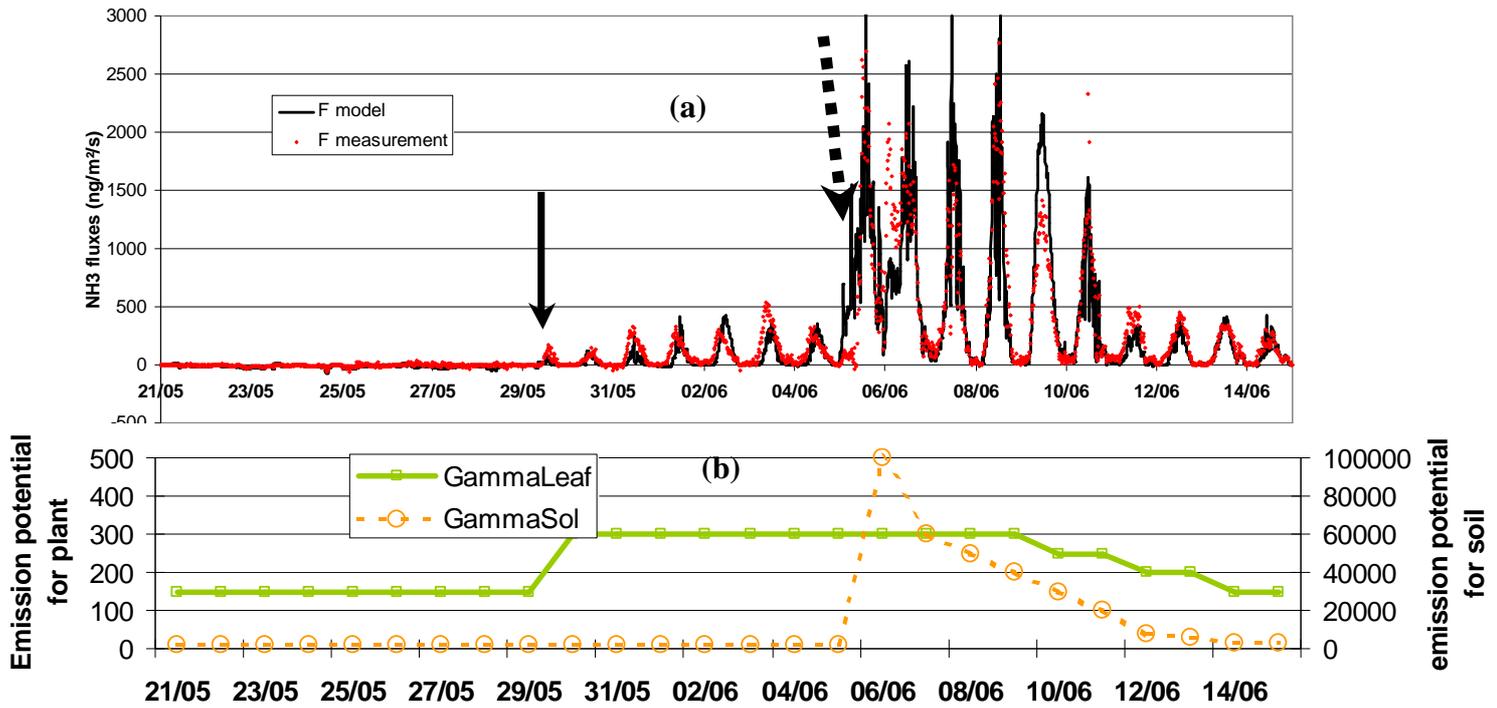


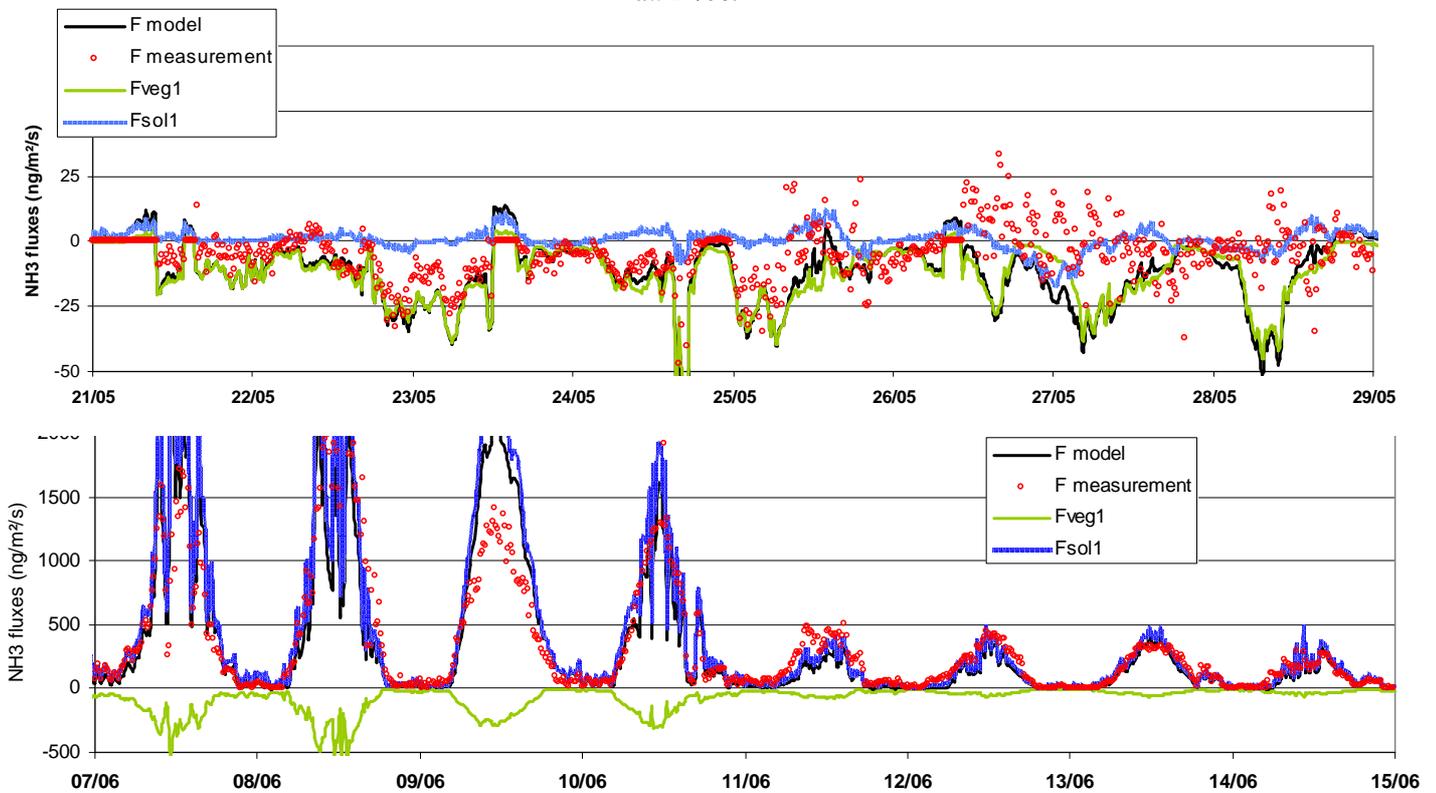
Figure 3.3 : dynamique des températures de l'air et de la végétation mesurées et simulée sur la période ciblée (7 juin - 15 juin).



Figures 3.4a et 4b :

a : Comparaison du flux mesuré (points) et modélisé (trait plein continu). Période du 21/05 au 14/06. La période est composée d'une coupe de la prairie le 29-30/05 (flèche en trait plein) et d'un apport d'engrais sous forme d'ammonitrate le 6/06 (flèche en tirets).

b : évolution du potentiel d'émission du sol (échelle de droite) et végétation (gauche) sur la période du 21/05 au 14/06.



Figures 3.5 a et b : flux modélisés et mesurés sur les période 21/05 au 29/05 et du 07/06 au 15/06 : décomposition des flux de dépôt/absorption sur la végétation et de l'émission depuis le sol.

Pour arriver à cette correspondance modèle-mesure, le modèle n'a été calibré que globalement sur le terme de potentiel d'émission (I) avec, (1) pour la végétation, une valeur avant fauche et une après puis une décroissance régulière pour revenir à la valeur initiale une fois que la métabolisme de la plante ne sera plus perturbé par la fauche et (2) pour le sol une valeur très faible avant fertilisation puis une pic suivi d'une décroissance qui correspond à l'épuisement de l'azote utilisable pour la volatilisation. On observe pourtant dans les flux calculés un cycle diurne marqué ce qui souligne de nouveau l'importance de bien établir le couplage entre la température des surfaces et les échanges d'ammoniac puisque c'est la variation de température qui est à l'origine de ce cycle : l'augmentation des échanges en phase diurne est contrôlée par l'augmentation de la température des surfaces.

Ces résultats montrent qu'il a été possible, avec un calage sur un nombre minimum de paramètres, de simuler les flux sur une grande variété de situations. Un point clef non encore résolu est l'évaluation *a priori* du potentiel d'émission I . Ceci supposerait d'utiliser un modèle de flux et transformation d'azote dans la plante incluant des transferts entre les formes organiques et minérales de l'azote dans la plante. La base d'un tel modèle pourrait être le modèle CERES (voir partie 2.3) en s'inspirant du travail de modélisation qui a été conduit par le CEH Edinburgh dans le cadre du projet européen GRAMINAE (Riedo et al., 2002).

3.2.3 Adaptation de SurfAtm au cas de l'ozone

Le modèle SurfAtm-O3 est construit sur la base du modèle SurfAtm-NH3. L'adaptation de ce modèle a un autre polluant suppose d'une part d'adapter les résistances au cas du nouveau polluant, d'autre part d'estimer le point de compensation pour le gaz concerné. Cette adaptation est relativement simple pour les résistances entre deux points de l'atmosphère, par le biais du rapport des diffusivités moléculaires (cf description de SurfAtm ci-dessus). Les adaptations les plus délicates portent sur la résistance (ou conductance) de surface et le point de compensation.

- Compte tenu de la très forte réactivité de l'ozone avec les surfaces, il est supposé que les concentrations internes – dans la cavité sous-stomatique [$\chi_{int}^{O_3}(cov)$] et à la surface du sol [$\chi_{soil}^{surf}(O_3)$] – sont nulles. C'est une hypothèse qui est très généralement faite dans ce cas (voir Smith et al., 2000 par exemple).
- Le cas de la résistance au dépôt cuticulaire est plus délicat, et donne lieu à de multiples controverses. Cette résistance est souvent exprimée en fonction de l'humidité relative de l'air. Or l'ozone est peu soluble dans l'eau, ce qui amène forcément à s'interroger sur la signification de ces relations. De plus diverses expérimentations ont montré que l'humidité de l'air pouvait augmenter ou diminuer la résistance de surface. Il est fort possible que cette résistance prenne en compte non seulement une mise en solution de l'ozone dans l'eau adsorbée ou déposée sur la surface de la végétation, mais également un dépôt direct sur la surface (l'ozone réagit fortement avec la matière organique) et des réactions chimiques complexes avec d'autres composés préalablement déposés. La partie suivante de ce rapport présente les travaux conduits dans le cadre de **BIOPOLLATM** pour établir des paramétrisations de la résistance de surface généralisables à divers types de couverts végétaux. Ils s'appuient largement sur des données de dépôt d'ozone mesurées dans le cadre du projet.

Le modèle SurfAtm-O3 est actuellement en cours de validation sur les données des expérimentations **BIOPOLLATM**-Grignon 2002, ESCOMPTE 2001 et sur les données du site de Bray, dans la forêt des Landes. Les premiers résultats, obtenus sur les deux premières campagnes de mesures, ont permis de donner quelques interprétations intéressantes sur la répartition du dépôt entre le couvert végétal et le sol (20% de dépôt au sol et 80% de dépôt sur

le feuillage du maïs – absorption et dépôt cuticulaire compris). Les résultats demeurent toutefois provisoires car un travail d'analyse reste à mener pour confirmer nos analyses.

3.2.4 Paramétrisation du dépôt non stomatique d'ozone

3.2.4.1 Approche

Le schéma de dépôt utilisé ici pour analyser le processus de dépôt, et séparer les composantes stomatique et non-stomatique, est plus simple que dans le cas précédent : nous utilisons un schéma de représentation du couvert de type « big-leaf », dans lequel le couvert est représenté par une seule couche. On distinguera cependant deux voies de dépôt, l'une stomatique et l'autre non-stomatique. Cette deuxième intègre l'ensemble des voies non-stomatiques, à savoir le dépôt sur la cuticule des feuilles, les branches / troncs et le sol (ou le sous-bois). Ce choix nous a semblé pertinent pour des raisons de simplicité, puisqu'on aura ici qu'une seule résistance (ou conductance) à estimer. Une fois validée sur ce schéma simple, la démarche sera par la suite étendue au modèle à deux couches.

On représente ici le dépôt d'ozone à la surface d'une canopée par la conductance g_c ou son inverse la résistance R_c . (R_c intègre les résistances r_b , r_{stom} et r_{cut} de la figure 3.2) Cette conductance est déduite de la vitesse de dépôt (V_d) de l'ozone (flux d'ozone divisé par sa concentration) obtenue à la hauteur z où est mesuré le flux, après correction de la résistance aérodynamique (R_a) de la couche d'air entre la surface et la hauteur z , et de la résistance R_b de la couche laminaire à proximité de la surface.

$$g_c = 1/R_c = \frac{V_d}{1 - V_d(R_a + R_b)} \quad (3.3)$$

La résistance de canopée R_c se décompose elle-même en une combinaison de résistances en parallèle ou en série, sous la forme générale :

$$g_c = \frac{1}{R_c} = \frac{1}{R_{ac} + R_g} + \frac{1}{R_{cut}} + \frac{1}{R_{stom}} \quad (3.4)$$

où R_{stom} est la résistance au dépôt stomatique

R_{cut} est la résistance au dépôt cuticulaire

R_{ac} est la résistance aérodynamique au transfert vers le sol à travers la canopée

R_g est la résistance au dépôt sur le sol ($r_{b(soil)}$ de la figure 3.2)

Chacun de ces rapports représente une résistance en parallèle avec les autres.

La nuit, l'activité stomatique étant généralement nulle, la résistance R_c s'identifie à la résistance non stomatique (R_{ns}) correspondant au seul dépôt sur les cuticules et sur le sol :

$$g_c = \frac{1}{R_c} = \frac{1}{R_{ns}} = \frac{1}{R_{ac} + R_g} + \frac{1}{R_{cut}} \quad (3.5)$$

Des travaux antérieurs ont montré que la résistance intrinsèque du sol au dépôt d'ozone (R_g) était relativement constante et pouvait être prise égale à 200 sm^{-1} pour tous les couverts végétaux. C'est donc l'hypothèse simplificatrice que nous avons prise avec cette valeur (notée R_{g0} par la suite) de 200 sm^{-1} pour chacun de nos trois sites.

En revanche, les résistances R_{ac} et R_{cut} sont supposées varier d'un couvert à l'autre. En particulier, la résistance aérodynamique intra-canopée R_{ac} dépend fortement de l'architecture du couvert (LAI, hauteur,...). De plus ces deux résistances ne sont pas constantes pour un couvert végétal donné mais fonction de la vitesse de frottement (u_*), paramètre-clef pour tous les transferts survenant dans la couche de surface atmosphérique. Le transfert d'ozone vers le sol à travers la canopée sera ainsi facilité (diminution de R_{ac}) si la turbulence dynamique est importante. De même celle-ci favorisera le dépôt cuticulaire (diminution de R_{cut}). Cependant, les augmentations respectives du dépôt sur le sol et du dépôt cuticulaire avec la vitesse de frottement u_* dépendront fortement de l'architecture des différents couverts végétaux.

3.2.4.2 Résultats

La figure 3.6 illustre ainsi la variation de la conductance g_c nocturne en fonction de u_* sur les trois sites que nous avons étudiés : une forêt de pins (Fig. 3.6a), un champ de maïs (Fig. 3.6b) et une parcelle de chaume de blé (Fig. 3.6c). Mais les résultats présentés dans cette figure correspondent uniquement aux conditions nocturnes sèches (Humidité relative de l'air (RH) inférieure à 70%), car nous verrons plus loin que l'humidité relative joue elle-même un rôle déterminant dans le dépôt d'ozone, dès qu'elle dépasse 70%.

Il apparaît dans la figure 3.6 que, pour les mêmes conditions dynamiques, le dépôt d'ozone varie nettement d'un site à l'autre. Il est minimum pour la forêt de pins, avec une relation de type linéaire entre g_c et u_* , plus important dans le cas du maïs, avec une relation curvilinéaire, et encore plus élevé sur le chaume, avec une relation plus incurvée que pour le maïs. Ces différences s'expliquent par la partition entre dépôt cuticulaire et dépôt sur le sol, qui diffère entre les trois couverts. Pour la quantifier, nous allons, à partir de la bibliographie, réécrire l'expression de g_c sous la forme suivante :

$$g_c = \frac{1}{R_{ac0} u_*'^{-1} LAI^{0.25} + R_{g0}} + \frac{1}{R_{cut0} LAI^{-0.25} u_*'^{-1}} \quad (3.6)$$

Il faut noter ici que nous avons substitué à la vitesse de frottement u_* une vitesse de frottement « réduite » $u_*' = u_* - 0.03 \text{ ms}^{-1}$. Ceci traduit le fait qu'il existe un léger seuil avant que la turbulence dynamique ne contribue efficacement au transfert d'ozone vers la surface du sol et des cuticules. Ce seuil est représenté dans la figure 3.6, bien que sa fonctionnalité ne soit pas évidente au vu des résultats expérimentaux obtenus en conditions sèches ($RH \leq 70\%$). Cependant, l'existence de ce seuil, identique pour les trois couverts étudiés, est manifeste lorsqu'on représente g_c en fonction de u_* pour les données correspondant à une humidité relative supérieure à 70% (Lamaud *et al.*, 2004 : voir la liste des publications réalisées dans le cadre du projet).

Dans cette dernière équation, la première partie du second terme représente la conductance totale de dépôt vers le sol, que nous noterons g_{soil} , et la seconde partie représente la conductance de dépôt cuticulaire g_{cut} . On peut réécrire ces deux termes sous la forme :

$$g_{soil} = \frac{u_*'}{R_{ac0} LAI^{0.25} + R_{g0} u_*'} \quad (3.7)$$

$$g_{cut} = \frac{u_*'}{R_{cut0} LAI^{-0.25}} \quad (3.8)$$

Ces équations permettent déjà de comprendre qualitativement l'évolution de la relation entre g_c et u^* d'un site à l'autre. Ainsi le fait que nous obtenions une relation linéaire pour la forêt (Fig. 3.6a) suggère que le terme $R_{g0}.u'^*$ y est négligeable devant le terme $R_{ac0}.LAI^{0.25}$, ce qui est en accord avec les données bibliographiques montrant que la résistance intra-canopée est beaucoup plus forte pour les couverts hauts (forêts) que pour les couverts bas (agricoles). De même la différence entre les figures 3.6b et 3.6c s'explique par une valeur de R_{ac0} plus forte pour le maïs que pour le chaume. Les valeurs de R_{ac0} et de R_{cut0} ont été déterminées pour chacun des trois sites par ajustement des données de la figure 3.6 à partir de l'équation (3.6). Elles sont données dans le tableau 3.1.

	Forêt de pins	Maïs	Chaume de blé
R_{g0} (sm ⁻¹)	200	200	200
R_{ac0} (sm ⁻¹)	800	120	50
$R_{ac0}.LAI^{0.25}$ (sm ⁻¹)	960	170	50
R_{cut0} (sm ⁻¹)	600	600	600
$R_{cut0}.LAI^{0.25}$ (sm ⁻¹)	500	420	600
k	0.06	0.07	0.07

Tableau 3.1. Paramètres d'ajustement des équations (4) à (8), pour la forêt de pins, le champ de maïs et la parcelle de chaume de blé.

Comme nous l'avons évoqué plus haut, nos données expérimentales sur les trois couverts ont montré que le dépôt d'ozone était fortement influencé par l'humidité relative de l'air, dès que celle-ci dépassait 70%. Ceci confirme les observations faites par de précédents auteurs (Zhang et al., 2002, 2003). Considérant que c'est la résistance cuticulaire qui diminue lorsque l'humidité relative de l'air augmente, ils ont introduit la paramétrisation suivante :

$$g_{cut} = \frac{u^*}{R_{cut0} e^{(-0.03 RH)} LAI^{-0.25}} \quad (3.9)$$

Nous avons suivi leur démarche, tout en apportant quelques modifications à leur formulation, sur la base de nos observations expérimentales. Ainsi, nous ne paramétrons g_{cut} en fonction de RH que pour RH supérieure à 70%, les données correspondant aux conditions sèches ($RH \leq 70\%$) étant bien représentées par l'équation (3.8). Il vient donc :

$$g_{cut} = \frac{u^*}{R_{cut0} e^{-k.(RH-70)} LAI^{-0.25}} \quad \text{si } RH \geq 70\% \quad (3.10)$$

Il reste donc à ajuster le paramètre k de l'exponentielle en RH. Pour cela g_{cut} est estimée en soustrayant aux valeurs expérimentales de g_c (pour $RH \geq 70\%$) le terme g_{soil} , qui est donné par l'équation (3.7) maintenant que R_{ac0} est connu (ajustement des données en conditions sèches). La figure 3.7 illustre la variation de g_{cut}/u^* en fonction de RH , pour nos trois couverts.

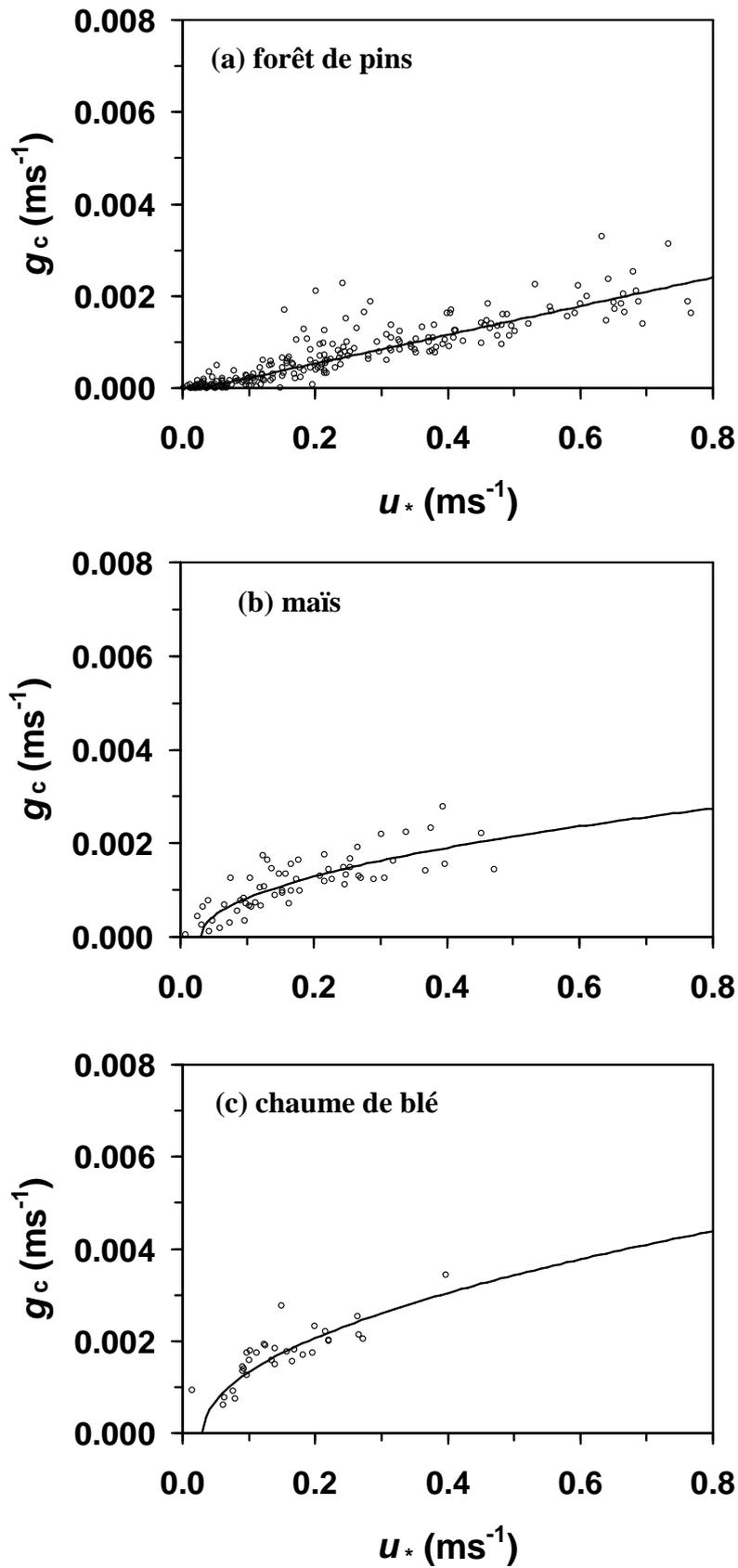


Figure 3.6. Conductance de surface de l'ozone en fonction de la vitesse de frottement, la nuit et en conditions sèches (Humidité relative $\leq 70\%$), pour différents couverts : forêt de pins (a), maïs (b) et chaume de blé (c). Les courbes correspondent à la paramétrisation de l'équation (4), avec les valeurs données dans le tableau 3.1.

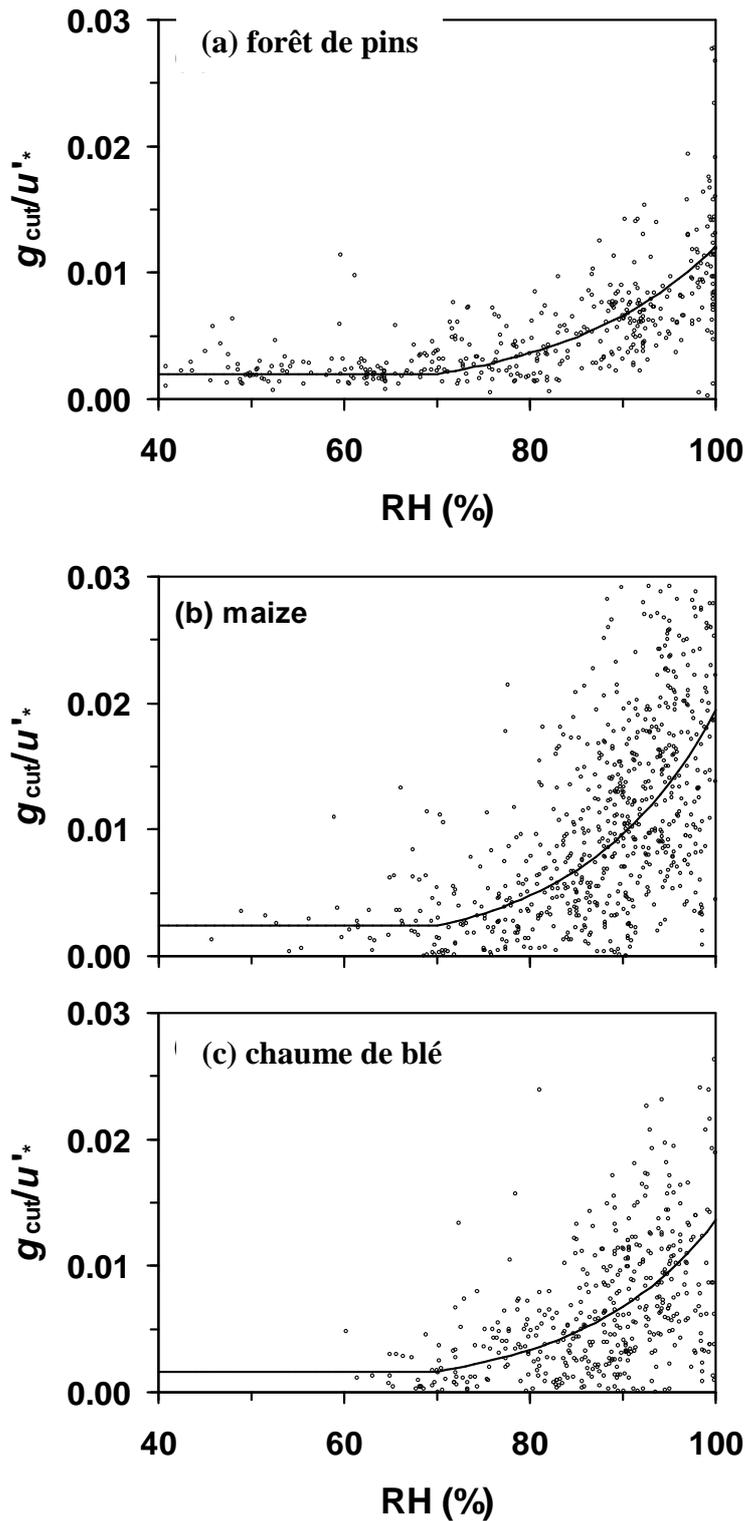


Figure 3.7 Conductance cuticulaire de l’ozone, normalisée par la vitesse de frottement réduite u'^* , en fonction de l’humidité relative, pour les trois couverts végétaux. Sous cette forme, les courbes représentent $(R_{\text{cut0}} \cdot \text{LAI}^{-0.25})^{-1}$ pour $\text{RH} \leq 70\%$, et $(R_{\text{cut0}} \cdot \text{LAI}^{-0.25})^{-1} \cdot e^{k \cdot (\text{RH} - 70)}$ pour $\text{RH} \geq 70\%$. Le coefficient k de l’exponentielle vaut 0.06 pour la forêt (a) et 0.07 pour le maïs (b) et pour le chaume de blé (c).

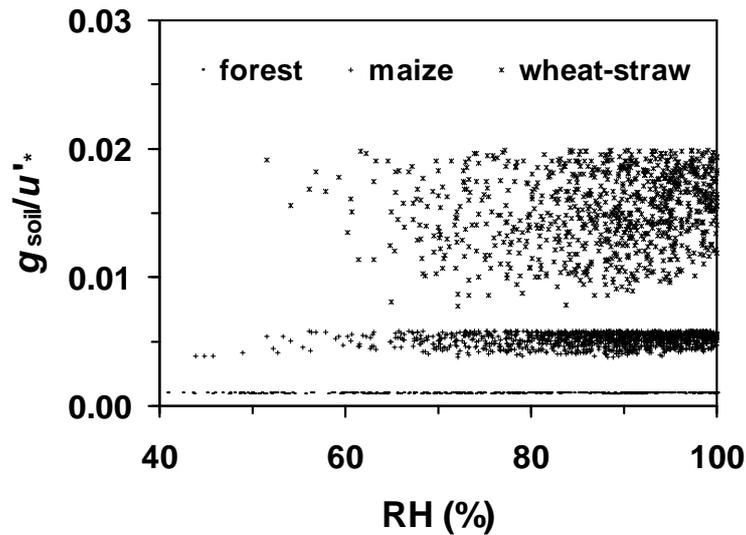


Figure 3.8 : Conductance de dépôt vers le sol, normalisée par la vitesse de frottement réduite u'_* , en fonction de l'humidité relative, pour les trois couverts végétaux.

Afin de comparer l'importance relative du dépôt cuticulaire et du dépôt sur le sol pour chacun des trois sites, nous avons représenté dans la figure 3.8 la conductance g_{soil} également normalisée par u'_* et en fonction de RH (bien que ce dernier paramètre n'affecte pas le dépôt sur le sol). Notons d'abord qu'au vu de l'équation (3.7) g_{soil}/u'_* n'est une constante qu'à la condition que $R_{g0}.u'_*$ soit négligeable devant le terme $R_{ac0}.LAI^{0.25}$, ce qui est seulement le cas pour la forêt, où la valeur de R_{ac0} est très élevée (voir Tableau 3.1). Pour le maïs et encore plus pour le chaume, ce ratio est au contraire variable, comme on le voit dans la figure 3.8. Une simple comparaison des figures 3.7 et 3.8 montre que le ratio entre dépôt cuticulaire et dépôt sur le sol varie fortement, d'une part d'un couvert à l'autre, d'autre part, pour un couvert donné, en fonction de l'humidité relative. Soulignons par exemple que, pour le chaume, le dépôt cuticulaire représente seulement 10% du dépôt nocturne en conditions sèches, mais presque la moitié quand RH approche les 100% ; ou encore que, pour la forêt, le dépôt sur le sol représente un tiers du dépôt en conditions sèches et seulement 10% quand RH atteint 100%.

L'analyse spécifique de la relation entre dépôt cuticulaire et humidité relative appelle plusieurs commentaires. D'abord, si la comparaison des figures 3.7a, 3.7b et 3.7c montre que le ratio g_{cut}/u'_* varie de façon significative d'un couvert à l'autre, cette variation est due en majeure partie à la différence entre leur indice foliaire. Ainsi, le tableau 3.1 montre que c'est seulement la différence entre les LAI du maïs et du chaume de blé ($LAI^{0.25}$ est 1.4 fois plus faible pour le maïs) qui explique que la résistance cuticulaire soit plus faible pour le premier, et donc le ratio g_{cut}/u'_* plus élevé. La valeur du coefficient k n'est, elle, pas différente entre ces deux couverts (0.07) et seulement un peu plus faible (0.06) pour la forêt. Ces résultats semblent en accord avec ceux de Zhang *et al.* (2002, 2003) qui considèrent que le coefficient k est le même pour tous les couverts végétaux.

Néanmoins, une comparaison des séries temporelles de la conductance g_c mesurée et de la conductance g_c estimée par notre approche (somme des équations 3.7 et 3.10) a révélé qu'une valeur constante de k ne permettait pas de rendre compte parfaitement de tous les résultats observés sur un même site. Ainsi, sur le maïs, il s'avère qu'avec $k = 0.07$ la paramétrisation surestime ou sous-estime les valeurs de g_c , non pas de façon aléatoire comme pourrait le laisser supposer la figure 3.7b, mais sur des nuits entières. Les résultats expérimentaux sont

par contre bien représentés si l'on fait varier k d'une nuit à l'autre dans une gamme allant de 0.05 à 0.1. Ceci est également vrai pour le chaume de blé, et dans une moindre mesure pour la forêt où k varie seulement entre 0.05 et 0.07. Il faut préciser que l'évolution du paramètre k sur un même site n'obéit pas à une logique saisonnière. Ainsi, pour le maïs, nous avons constaté que k pouvait passer de 0.05 à 0.1 (ses valeurs extrêmes sur toute la campagne de mesures) entre deux nuits consécutives. Il est apparu par contre que k était généralement supérieur à sa valeur moyenne de 0.07 les nuits où les concentrations en NO_2 et en ozone étaient respectivement supérieure à $10 \mu\text{g m}^{-3}$ et inférieure à $20 \mu\text{g m}^{-3}$ (les deux étant fortement anti-corrélées) et inférieur à 0.07 dans le cas contraire. Si cette tendance suggère que la variation du paramètre k est liée à des réactions chimiques entre O_3 et NO_2 , cette question reste à approfondir, afin de mieux comprendre ces processus et éventuellement de les intégrer dans une paramétrisation du coefficient k .

3.2.4.3 Conclusions sur la paramétrisation du dépôt non stomatique d'ozone

A partir des données expérimentales que nous avons recueillies de nuit sur trois couverts végétaux de types très différents (une forêt de pins, un champ de maïs et une parcelle de chaume de blé), nous avons établi une approche générique pour le dépôt non stomatique d'ozone, distinguant dépôt cuticulaire et dépôt sur le sol. Les contributions respectives de ces deux composantes du dépôt diffèrent fortement d'un couvert à l'autre, d'abord du fait de leur architecture qui affecte le transfert d'ozone vers le sol à travers la canopée. Ainsi, le dépôt d'ozone au sol est le plus faible dans le cas de la forêt en raison de l'importante résistance aérodynamique de la canopée, liée à sa hauteur. Il est le plus important dans le cas du chaume. Nous avons d'autre part montré que l'humidité relative de l'air (RH) jouait un rôle déterminant dans le dépôt cuticulaire, confirmant en cela les résultats récemment obtenus par d'autres auteurs. L'augmentation de la conductance cuticulaire avec RH est de type exponentiel, avec un coefficient (k) assez peu différent entre les trois sites. Mais comme la conductance cuticulaire est également fonction de l'indice foliaire du couvert, cette augmentation avec RH est la plus importante dans le cas du maïs.

Compte tenu de ces différents facteurs, les contributions respectives du dépôt sur le sol et du dépôt cuticulaire varient fortement d'un couvert à l'autre, et sur un même couvert en fonction de l'humidité de l'air, dans des proportions que notre approche permet de déterminer avec une bonne précision. Ses performances restent cependant encore limitées par le fait que nous ne prenons pas en compte la destruction d'ozone liée à ses réactions chimiques, notamment avec le NO_2 . Ce sont, semble-t-il, ces dernières qui expliquent que, pour les conditions humides ($RH > 70\%$), nous observions des différences significatives entre les valeurs expérimentales de la conductance non stomatique et celles issues de notre approche. Soulignons néanmoins que ces différences ne dépassent pas 30%, ce qui permet d'ores et déjà d'utiliser notre paramétrisation pour estimer avec une précision satisfaisante la contribution du dépôt non stomatique au dépôt d'ozone diurne, ce qui était l'objectif premier de cette étude.

Il semble cependant possible d'améliorer les performances de la paramétrisation en reliant le coefficient k de l'exponentielle en RH à la concentration en NO_2 , O_3 , ou une combinaison des deux. Mais cette approche empirique doit s'appuyer sur une compréhension des processus chimiques de destruction de l'ozone. Durant la campagne de mesures sur le champ de maïs, nous avons effectué chaque nuit des prélèvements à la surface des feuilles. L'analyse de ces échantillons, visant à mettre en relation l'évolution de leur composition chimique et celle du coefficient k , devrait permettre de donner un sens plus précis à ce paramètre.

3.2.5 Développements en cours pour une utilisation « élargie » du modèle SurfAtm

Commentaires généraux

L'intérêt d'un modèle d'échanges de polluants entre un couvert végétal et l'atmosphère est multiple, mais se rattache à l'un des trois points suivants :

- outil d'analyse des processus d'émissions et de dépôt
- estimation des quantités absorbées par la végétation en vue d'estimer l'impact
- estimation des émissions et/ou dépôt comme conditions à la limite inférieure d'un modèle de chimie de l'atmosphère

Le modèle SurfAtm est en particulier destiné à servir d'interface végétation-atmosphère dans un modèle de chimie atmosphérique et à évaluer les quantités d'ozone réellement absorbée par un couvert végétal. Des travaux relatifs à ces deux points sont en cours et présentés ci-après.

3.2.5.1 Comparaison entre SurfAtm et un modèle mono-couche (ISBA)

L'un des objectifs du développement du modèle SurfAtm est d'améliorer les interfaces végétation-atmosphère des modèles de chimie-atmosphérique. Substituer une nouvelle interface à une interface existante est toutefois un travail important. Il nous a paru préférable de d'abord évaluer l'intérêt d'une telle opération en comparant les résultats de SurfAtm à ceux d'une interface existante. Nous avons choisi pour cela le modèle SVAT (Surface Végétation Atmosphère Transfert) ISBA utilisé dans MesoNH-C. Il s'agit d'un modèle « big leaf » qui permet le calcul des échanges de chaleur, de masse et de quantité de mouvement entre la surface et l'atmosphère. ISBA étant le SVAT par défaut du modèle de chimie-transport MésosNH-Chimie, il présente le principal avantage d'être généraliste, c'est-à-dire de ne nécessiter en entrée que des paramètres relativement faciles à documenter. La version ISBA-Ags (Calvet et al., 1998) utilisée ici permet en plus de décrire la conductance stomatique du couvert en considérant la relation existante entre ouverture des stomates et photosynthèse. La version Ags permet également d'utiliser le taux d'assimilation pour simuler la croissance des plantes et leur sénescence, et calculer ainsi le LAI (Leaf Area Index), en considérant également la concentration atmosphérique de CO₂ et son éventuel changement. De plus, la réponse de la plante au stress hydrique a également été prise en compte par le biais d'un facteur d'humidité du sol, appliqué à la conductance mésophyllienne. Le calcul de l'assimilation nette du CO₂ par la végétation permet de prédire la densité de végétation. L'extinction du PAR (Photosynthetic Active Radiation) à travers le couvert est prise en compte, alors que de possibles variations de température et d'humidité à travers ce même couvert ne le sont pas.

Le modèle a été calibré pour le moment sur une durée de 25 jours (du 21 mai au 14 juin 2000) à partir des données GRAMINAE (Braunschweig), avec un pas de temps de 1/4h. Le forçage atmosphérique nécessite l'utilisation de la concentration en CO₂ atmosphérique (ppm), du rayonnement global (W/m²), des précipitations (mm), de l'humidité spécifique (kg/kg), du rayonnement atmosphérique infra rouge (W/m²), de la température de l'air à 2m (K) et du module du vent (m/s). De nombreux paramètres ont été renseignés à partir des mesures terrain, comme les profils d'humidité et de température dans le sol au départ, le LAI de départ, la résistance aérodynamique de surface au départ, le profil de texture, le type de végétation, la hauteur de la végétation), ou selon des données trouvées dans la littérature (émissivité, capacité thermique de la végétation, conductance mésophyllienne, assimilation nette, rapport biomasse active/LAI, espérance de vie maximale des feuilles, déficit de saturation feuille-air maximum, conductance cuticulaire).

Les résultats obtenus concernent pour le moment le bilan d'énergie (chaleur sensible H et latente LE, chaleur dans le sol G, rayonnement net Rn). Pour des valeurs de rayonnement net très bien représentées, H est fidèlement reproduit par le modèle, et LE suit plutôt bien les observations avant la coupe du 29 mai, alors qu'il est surestimé après la coupe (surestimation de l'ordre de 20%). Le flux de chaleur dans le sol est assez bruité, mais une fois lissé au pas de temps horaire, l'ordre de grandeur est respecté.

Ces résultats sont encore très préliminaires, mais nous avons d'ores et déjà identifié les paramètres qui ont une influence prépondérante sur les flux. Les paramètres en question sont par exemple la capacité thermique de la végétation, la conductance mésophyllienne, et le profil d'humidité du sol, déduit de la texture. Une analyse plus poussée reste à mener pour comprendre les écarts entre flux de chaleur sensible calculés et mesurés, probablement dus à une calibration incertaine de la capacité thermique de la végétation.

La comparaison des résultats obtenus à l'aide d'ISBA et de ceux du modèle bi-couche « SURFATM » est actuellement en cours. Elle consistera dans un premier temps à vérifier que l'ensemble des fichiers de forçages et des paramètres externes utilisés sont les mêmes. Dans un second temps, une analyse plus fine des avantages/inconvénients entre modèle « big-leaf » et « bi-couche » (découplage végétation/sol) sera menée à partir de la comparaison des bilans d'énergie. D'autres bases de données pourront servir à cette inter-comparaison, et notamment celles issues du projet ESCOMPTE en région PACA et de l'expérimentation 2002 du projet *BIOPOLLATM* à Grignon en Ile-de-France, de façon à valider plus largement les résultats.

La troisième partie de ce travail concernera plus spécifiquement les échanges de polluants, une fois que le bilan d'énergie sera correctement « calé », et sera basée soit sur une chimie simple de la triade NO/NO₂/O₃, soit sur une chimie plus complexe telle que nous pouvons la reproduire avec le modèle MésoNH-C, afin de comparer à la fois les flux d'émission et de dépôt de polluants.

Les flux d'ozone au dessus de la canopée constituent le point de comparaison le plus important entre ISBA et SurfAtm pour ces échanges de polluants, et pour les représenter le plus correctement possible, les flux d'émission de NO depuis le sol seront introduits dans ISBA, accompagnés d'un facteur de réduction par la canopée pour évaluer les émissions nettes vers l'atmosphère.

3.2.5.2 Réalisation d'une interface-utilisateur pour le modèle SurfAtm

Le souci de mettre à disposition un modèle opérationnel, d'une part pour analyser le processus de dépôt et ses déterminants, d'autre part pour quantifier les flux absorbés par la végétation (à l'attention des écophysiologistes), nous a amené à créer une interface pour faciliter son utilisation. Les modèles SurfAtm-NH₃ et SurfAtm-O₃ possèdent donc une interface graphique qui permet leur manipulation aisée par un utilisateur non initié à la compilation et à la programmation informatique. A partir de quelques informations sur le couvert végétal et le sol, que l'utilisateur peut renseigner lui-même ou par le biais de valeurs par défaut, et de fichiers de données météorologiques et de concentration, l'utilisateur peut calculer aisément et visualiser sous forme graphique les dépôts totaux et les dépôts selon les différentes voies. Le modèle « SurfAtm » est utilisable sur tout ordinateur de type PC. Dans sa version de référence, il est implanté sur le serveur commun BCGN de l'UMR EGC.

3.3 Conclusions et perspectives

Notre démarche s'est organisée autour d'une approche des transferts sol-végétation-atmosphère basée sur le concept de résistance, ou son inverse la conductance. Nous avons mis

au point un modèle SVAT générique à deux couches pour représenter les différentes voies de transfert d'un polluant entre l'atmosphère et le couvert végétal. Si le cadre conceptuel de ce type de modèle est maintenant bien défini, l'essentiel du travail consiste maintenant à adapter les différentes résistances et le point de compensation pour chaque polluant. Ces variables dépendent de multiples facteurs liés au polluant lui-même, aux conditions météorologiques et au couvert végétal, ainsi qu'au contexte local de pollution de l'air. Nous avons pour cela travaillé sur la paramétrisation du dépôt non stomatique. Cette analyse a été basée sur un schéma d'échange simple et la mise en relation des conductances mesurées (expérimentations menées à Grignon et Bordeaux) avec des variables micrométéorologiques simples.

Le développement de « Surf atm-NH₃ » et « Surf atm-O₃ » est conçu sur une approche « à résistance » pour le transfert de masse et de chaleur. Cette approche est classique et robuste pour représenter les transferts sol-plante-atmosphère. Ce modèle bi-couche permet de distinguer les deux niveaux - sol et végétation. Cette approche résistive souffre toutefois de la difficulté de représenter les phénomènes en conditions très stables (phases nocturnes essentiellement) et les flux à contre-gradients sont non reproduits. Toutefois, ces conditions apparaissent *a priori* comme mineures en comparaison de l'intensité des flux en pleine journée, période pendant laquelle l'activité biologique est à son plus fort (ouverture stomatique, activité microbienne, ...), comme ont pu le montrer les séries de mesures continues sur de longues durées des dépôts d'ozone sur divers types de couverts.

Concernant les échanges d'ammoniac, un des points clés de la recherche se situe actuellement autour de la détermination du point de compensation des plantes. Relier le métabolisme de la plante et la nutrition azoté à un potentiel d'émission qui évolue dans le temps est le nœud actuel qui permettra de déterminer la capacité du couvert à absorber ou émettre l'ammoniac dans l'air à l'échelle de la saison. Avec cette connaissance, ceci devrait permettre de définir les zones sources et puits pour l'ammoniac dans l'espace rural et naturel et de définir dans le temps les capacités d'absorption de ces zones. Il n'a toutefois pas été prévu de traiter ce volet dans le projet **BIOPOLLATM**.

Pour le dépôt d'ozone, la question de l'importance des mécanismes réactionnels au sein du couvert demeure cruciale, en particulier les interactions avec l'humidité de l'air ou à la surface du couvert végétal ou du sol et avec les gaz NO et NO₂, mais aussi peut-être les COV biogènes. Pour ce qui concerne la paramétrisation de la résistance de surface, notre travail se poursuivra par l'interprétation des séries de données acquises dans le cadre de ce projet. Concernant les interactions chimiques dans le couvert et au dessus, nous prendrons en compte, dans un premier temps, les mécanismes photochimiques simples (réactions entre NO, NO₂ et O₃) à l'intérieur du couvert pour examiner leur poids sur les flux de dépôt d'ozone. Cette étape est en phase finale d'intégration dans le modèle Surf atm-O₃.

Avant de passer à une validation sur différents types de couverts pour l'ozone, il est d'abord envisagé de comparer les résultats du modèle avec les données du projet GRAMINAE pour lequel les dépôts d'ozone avaient été mesurés. En effet, les résultats obtenus sur l'ammoniac sont encourageants et ont permis de valider une partie du modèle. Il ne reste donc à faire que la partie spécifique à l'ozone. Nous le ferons avec et sans introduction des mécanismes réactionnels au sein du couvert. La seconde étape sera de valider le modèle Surf atm-O₃ sur d'autres types de couverts plus ou moins complexes (maïs, sols nus ou forêts) à partir des données collectées sur l'expérimentation ESCOMPTE et les expérimentation du projet **BIOPOLLATM** à Grignon et Bordeaux. Certaines de ces données permettront de traiter des interactions entre ozone et oxydes d'azote puisque les profils de concentrations et/ou les flux ont été mesurés. De plus les mesures de profils d'ozone, couplées

aux mesures de concentrations en NO/NO₂ et de caractéristiques turbulentes permettront de retracer les zones puits et source d'ozone et des composés azotés dans le couvert végétal.

La nécessaire validation de ce type de modèle dans des conditions diverses souligne la nécessité de disposer de séries longues de données (variabilité saisonnière et de conditions météorologiques) sur des surfaces naturelles variées. Pour cela, nous cherchons à mettre en place des sites de suivi continu des flux de divers composés, principalement ozone, oxydes d'azote, ammoniac. Le site de Grignon est en cours d'instrumentation pour tous ces composés, et celui de Bordeaux est équipé pour l'ozone. D'autres sites sur forêt de feuillus (Nancy, Fontainebleau) et prairie (Lusignan) devraient pouvoir être équipés dans les années à venir. Pour bénéficier de synergies entre projets, tous ces sites participent au projet européen CarboEurope-IP, pour lesquels ils sont déjà équipés de système de mesure de flux de bilan d'énergie, quantité de mouvement (u^*), CO₂ et H₂O.

Au delà de ces travaux en cours, les perspectives portent sur deux chantiers principaux : la paramétrisation des dépôts à partir de mesures faites en chambres de fumigation, et l'amélioration des interfaces végétation-atmosphère dans les modèles de chimie atmosphérique.

Concernant le premier point, nous utiliserons la chambre de fumigation développée à Grignon (voir partie 4) dans laquelle nous pouvons contrôler les conditions d'environnement et mesurer les flux d'émission et de dépôt. Les travaux porteront dans un premier temps sur l'effet de l'humidité de l'air et des caractéristiques chimiques de la surface de la végétation (polluants préalablement déposés).

Sur le second, comme mentionné précédemment, nous commencerons par comparer l'approche SurfAtm avec l'interface monocouche « ISBA » (Noilhan et al 1989) de MésoNH-C. Cette comparaison permettra de décider s'il est important de distinguer ou non les deux niveaux sol et végétation. Cela est certainement vrai pour l'ammoniac ou les oxydes d'azote, peut être moins pour l'ozone.

3.4 Références citées dans la partie 3

- Académie des Sciences, 1993. "Ozone et propriétés oxydantes de la troposphère", Lavoisier TecDoc, 30:215-238.
- Baldocchi D.D., Hicks B.B. and Camara P., 1987. A canopy stomatal resistance model for gaseous deposition to vegetated surfaces. *Atmos. Environ.*, 21: 91-101.
- Burkhardt J., Koch K, Kaiser H., 2001a. Deliquescence of deposited atmospheric particles on leaf surfaces. *Water Air Soil Poll., Focus 1* : 313-321.
- Calvet, J.-C., J. Noilhan, J.-L. Roujean, P. Bessemoulin, M. Cabelguenne, A. Olioso and J.-P. Wigneron, An interactive vegetation SVAT model tested against data from six contrasting sites, *Agric. For. Meteorol.*, 92, pp. 73-95, 1998.
- Carson D.J., 1982. Current parameterisation of land surface processes in atmospheric general circulation models. In: P.S. Eagleson (Ed.). *Land surface processes in atmospheric general circulation models*. Cambridge Univ. Press. Cambridge, UK, pp. 67-108.
- Cellier P., Garrec J.P., Brignon J.M., Jacquemoud S. - 2004 - Impact des particules sur les écosystèmes. Synthèse réalisée suite au colloque «Particules » organisé par le PNCA et PRIMEQUAL2, Paris, 21-22/11/2002 (à paraître).
- Choudhury B.J., Monteith J.L., 1988. A four-layer model for the heat budget of homogeneous land surfaces. *Q. J. R. Meteorol. Soc.* 114, pp 373-398.
- CITEPA, 2003. Inventaire des émissions de polluants atmosphériques en France. Séries sectorielles et analyses étendues. Rapport disponible sur www.citepa.org, 226 p.

- Lamaud E., Carrara A., Brunet Y., Lopez A., Druilhet A., 2002. Ozone fluxes above and within a pine forest canopy in dry and wet conditions. *Atmospheric Environment* 36, 77-88.
- Lamaud E., Loubet B., Vayssier P., Irvine M., Cellier P. Nocturnal ozone deposition over maize, wheat-straw and coniferous forest in dry and wet conditions. (*à soumettre à Atmospheric Environment*)
- Loubet B. - 2000 - Mesure et modélisation du dépôt atmosphérique d'ammoniac à proximité des sources. Influence de la structure de la végétation. Thèse de Doctorat, Université Paul Sabatier, Toulouse, 320 p.
- Milford C., Theobald M.R., Nemitz E., Sutton M., 2001. Dynamics of ammonia exchange in response to cutting and fertilising in an intensively-managed grassland. In *Air-Surface Exchange of Gases and Particles* (2000). (Fowler D., Pitacairn C.E.R., Erisman J-W Eds). Kluwer Academic Publishers.
- Nemitz E., Sutton M., Schjoerring J. K., Husted S. Wyers G.P., 2000. Resistance modelling of ammonia exchange over oilseed rape. *Agric. Forest Meteorol.* 105. 405-425.
- Noilhan J., Planton S., 1989. A simple parameterisation of land surface processes for meteorological models. *Monthly Weather Rev.*, 117, 536-549.
- Personne E., Loubet B., 2003. SURFATM : a model combining the surface energy balance and the bi-directional exchanges of pollutant to quantify the deposition and the emission of ammonia at the field scale. EGS-AGU-EGU joint assembly. Nice, France. 07-11 April 2003
- Riedo M. Milford C., Schmid M., Sutton M., 2002. Coupling soil-plant-atmosphere exchange of ammonia with ecosystem functioning in grasslands. *Ecol. Modelling*,
- Smith, R I., Fowler, D., Sutton, M.A., Flechard, and Coyle, M. 2000. A model for regional estimates of sulphur dioxide, nitrogen dioxide and ammonia dry deposition in the UK. *Atmospheric Environment*, 34, 3757-3777.
- Sutton M.A., Milford C., Nemitz E., Theobald M.R., Hargreaves K.J., Fowler D., Schjoerring J.K., Mattson M.E., Husted S., Erisman J.W., Hensen A., Mosquera J., Otjes R., Jonejon P., Cellier P., Loubet B., David M., Neftel A., Blatter A., Herrmann B., Jones S.K., Horvath L., Weidinger T., Raso J., Meszaros R., Führer E., Mantzanas K., Koukoura Z., Papanastasis V., Gallagher M., Dorsey J.R., Flynn M., Riedo M., 2002. Biosphere atmosphere interactions of ammonia with european grasslands. Final synthesis report. Contracts : ENV4-CT98-0722 and IN2O-CT98-0118. February 2002.
- Sutton M.A., Schjoerring J.K. and Wyers G.P., 1995. Plant - atmosphere exchange of ammonia. *Phil. Trans. Roy. Soc. London. Series A*, 351: 261-278.
- Sutton M. A., Burkardt J.K., Guerin D. Nemitz E., Fowler D., 1998. Development of resistance models to describe measurements of bi-directional ammonia surface atmosphere exchange. *Atmos. Env.* 32 (3) pp 473-480.
- Van Hove L.W.A. and Adema E.H., 1996. The effective thickness of water films on leaves, short communication). *Atmos. Environ.*, 30: 2933-2936.
- Zhang, L., Brook, J.R., Vet, R., 2003. A revised parameterization for gaseous dry deposition in air-quality models. *Atmos. Chem. Phys.* 3, 2067-2082.
- Zhang, L., Brook, J.R., Vet, R., 2002. On ozone dry deposition, with emphasis on non-stomatal uptake and wet canopies. *Atmospheric Environment* 36, 4787-4799.
- Raupach M.R., 1989. Applying Lagrangian fluid mechanics to infer scalar source distributions from concentration profiles in plant canopies. *Agric. Forest Met.*, 47: 85-108.

4 Acquis et infrastructures communs au projet

4.1 Base de données de l'expérimentation commune du projet BIOPOLLATM à Grignon, juin-octobre 2002.

4.1.1 Objectifs

L'expérimentation mise en place en 2002 sur le site de Grignon avait pour objectif de réaliser le suivi des flux de polluants, des données météorologiques, et des paramètres biophysiques du couvert végétal, dans le but de :

- 1) Réaliser un bilan des flux d'ozone entre l'atmosphère et le couvert végétal sur la période d'exposition maximale ;
- 2) Améliorer notre compréhension des processus d'échange d'ozone et d'oxydes d'azote entre l'atmosphère et un couvert végétal ;
- 3) Affiner le paramétrage de ces échanges ;
- 4) Améliorer notre compréhension de la variabilité microclimatique au sein d'un couvert végétal ;
- 5) Comparer les méthodes de mesure des flux par corrélation et par gradient ;
- 6) Tenter de mesurer *in situ* l'effet des dépôts d'ozone sur le fonctionnement biophysique de la plante ;

Cette expérimentation a regroupé la majorité des participants au projet, afin d'obtenir un jeu de données le plus complet possible. Le choix du couvert s'est porté sur le maïs, plante en C₄, sur laquelle il existait peu d'information sur les effets de l'ozone sur le fonctionnement de la photosynthèse. L'expérimentation a été réalisée à Grignon, à l'ouest de Paris, zone où on pouvait espérer obtenir de fortes expositions à l'ozone. Malheureusement cette année là, les concentrations maximales n'ont pas dépassé 43 ppb.

4.1.2 Matériels et méthodes

4.1.2.1 Site

L'expérimentation a eu lieu près de l'UMR EGC de l'INRA à Grignon, à une trentaine de kilomètres à l'ouest de Paris, entre le 19/04/2002 et le 08/10/2002. Un champ d'environ 50 ha de maïs (variété Chambord) séparé en deux parcelles constituait le lieu d'étude. Le maïs a été planté le 19/04/2002 avec une densité de 10⁵ pl ha⁻¹ ; il a levé le 10/05/2002, tandis que la floraison a été observée entre le 22 et le 24/07/2002. La récolte a eu lieu le 10/10/2002. Le rendement était de 109 ± 8 quintaux ha⁻¹.

Le climat est continental-océanique, avec les périodes pluvieuses venant majoritairement de l'ouest et un vent du nord, nord-est correspondant à une période anticyclonique. Les bâtiments de la ferme expérimentale de l'INA P-G sont situés à l'ouest du site de mesure (secteur 225-270 degrés) (Figure 4.1). Le site est entouré de deux routes ayant un trafic relativement dense entre 6-7h TU et 15-17h TU. La ville de plaisir située à 1 km du site au sud est une ville de taille moyenne.

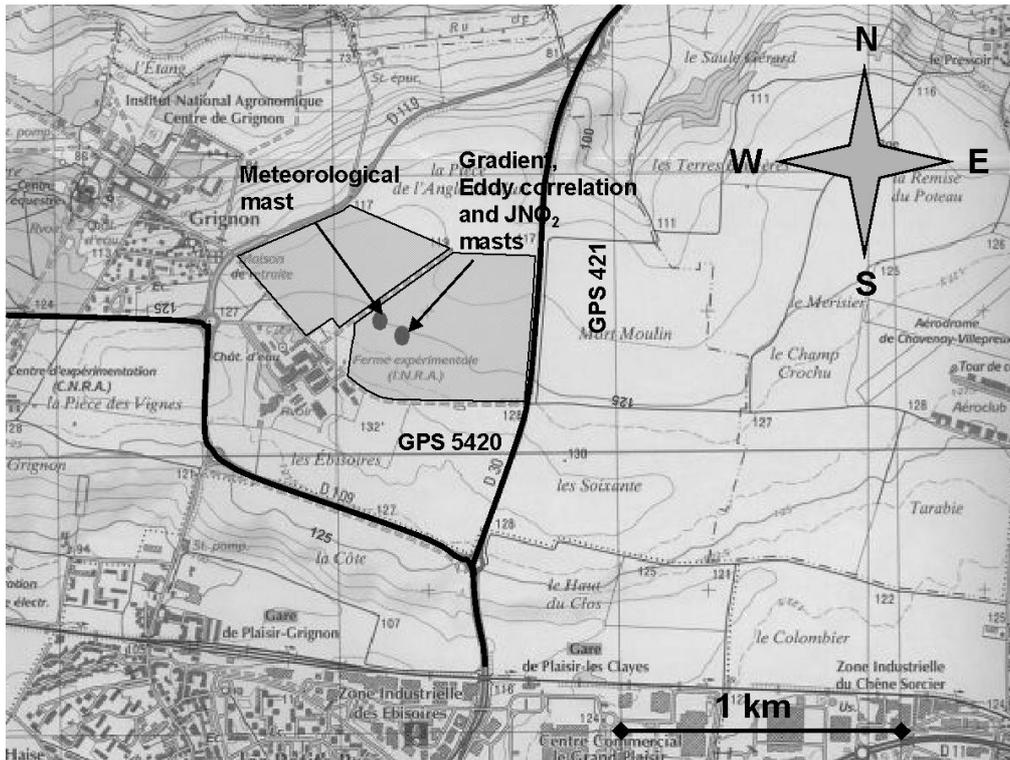


Figure 4.1. Carte du site. Les champs de maïs sont indiqués en grisés. Le champ de droite est celui sur lequel les mesures ont été faites en priorité. Les deux cercles indiquent les mâts de mesure météorologiques et de mesure des flux par gradients et corrélations. On voit les bâtiments de la ferme et de l'UMR EGC au sud-ouest du site à environ 200 m. Les routes les plus empruntées sont indiquées en gras. au sud et au nord, du blé était planté.

4.1.2.2 Suivis biologiques

La hauteur du couvert (h_c) et la surface foliaire (LAI) ont été suivis régulièrement, à l'aide de deux méthodes, un suivi destructif au planimètre, et un suivi à l'aide d'un digitaliseur 3D qui donnait aussi la répartition spatiale de la surface foliaire (LAD). La biomasse était également suivie régulièrement. Des mesures de conductance stomatique et de photosynthèse ont été faites à plusieurs dates à l'aide d'une pince à photosynthèse LiCor 6400, en même temps que des prélèvements de végétaux immédiatement congelés à l'azote liquide pour analyse biochimique (cf partie 2 et annexe 1).

4.1.2.3 Mesures météorologiques

Un mât de mesures a été mis en place pour acquérir les données météorologiques standard (vitesse, direction du vent, température, humidité, pluviométrie) à un niveau de référence au-dessus du couvert végétal. Les données de la station météorologique de l'UMR-EGC située au sud de la parcelle ont également été utilisées, notamment concernant les rayonnements. L'ensemble des mesures est synthétisé dans le Tableau 4.1.

4.1.2.4 Mesure de profils de concentrations dans et au dessus du couvert végétal

Un mât de mesure des vitesses du vent, température, concentrations en CO_2 , H_2O ozone (O_3), protoxyde d'azote (NO), dioxyde d'azote (NO_2) et plus tardivement dioxyde de soufre (SO_2) à 9 niveaux, dont 4 à 5 dans le couvert végétal, a été mis en place. Ce mât avait pour but d'une part d'estimer le flux de ces composés au-dessus du couvert par la méthode du gradient, et d'autre part de localiser les sources et puits de ces composés dans le couvert végétal. Le principe de la mesure à différents niveaux reposait sur l'utilisation d'un jeu de 12 électrovannes permettant d'échantillonner successivement les lignes de prélèvements situées

aux différentes hauteurs vers les analyseurs. Afin de pouvoir réaliser un cycle de mesure complet en moins de 10 minutes, nous avons dû utiliser deux analyseurs de O₃ et NO_x en parallèle qui échantillonnaient chacun 4 niveaux (haut et bas), plus un niveau commun afin de les inter-calibrer. Le CO₂, et H₂O étaient quant à eux déterminés sur les 9 niveaux successivement. Les hauteurs et caractéristiques des mesures réalisées sont données dans le Tableau 4.1.

4.1.2.5 Mesure des flux par la méthode des gradients

Les mesures de vitesse du vent, températures et concentrations, à plusieurs niveaux au-dessus du couvert végétal, a permis d'estimer les flux verticaux de quantité de mouvement, chaleur sensible et latente, CO₂, O₃, NO, et NO₂ par la méthode du gradient. Cette méthode, basée sur la théorie de la couche limite de surface de Monin-Obukhov, est décrite en détail dans la littérature (voir par exemple Kaimal et Finnigan, 1994 ou Cellier et Brunet, 1992). Le principe en est, par analogie avec les phénomènes de diffusion d'écrire le flux comme proportionnel au gradient vertical de concentration. Le coefficient de proportionnalité est une diffusivité turbulente, calculée selon des expressions données par la théorie de Monin-Obukhov à partir des gradient verticaux de vitesse du vent et de température de l'air. Ce calcul de diffusivité prend en compte les phénomènes de stabilité thermique qui l'augmentent sensiblement de jour (conditions instables) et peuvent la diminuer fortement de nuit (conditions stables).

4.1.2.6 Mesure des flux par la méthode des corrélations

Les flux de quantité de mouvement, chaleur sensible et latente, CO₂, et O₃, ont également été déterminés par la méthode des corrélations. Cette méthode consiste à mesurer en un même endroit, au-dessus du couvert végétal, la vitesse verticale du vent w et le scalaire considéré c (concentration ou température), à une fréquence de 20 Hz. le schéma simple suivant nous indique que le flux vertical instantané du composé considéré est égal au produit de la concentration instantanée par la vitesse verticale instantanée. Le flux sur un intervalle de temps donné est donc la somme des flux instantanés, soit la covariance du signal w et c .

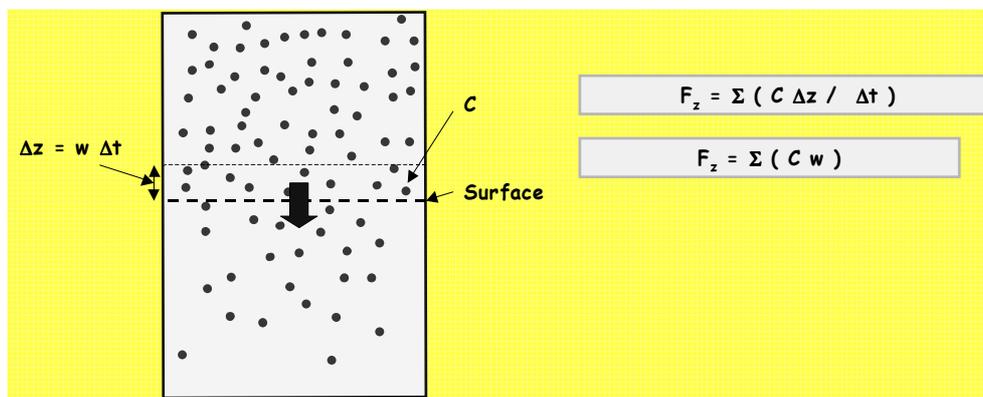


Figure 4.2. Illustration du principe de la mesure des flux par corrélations. Le flux vertical F_z est le cumul des quantités qui traversent la surface horizontale au cours du temps. A un instant t , cette quantité est égale à la concentration C (g/m^3) que multiplie le volume qui traverse cette surface au cours du temps Δt , soit la vitesse verticale instantanée w (m/s), que multiplie Δt (s), que multiplie la surface ($1 m^2$). Sur la Figure on illustre un événement pendant lequel le flux instantané est négatif (dirigé vers le bas).

La mesure rapide des vitesses du vent et de la température étaient réalisées à l'aide d'un anémomètre ultrasonique Gill R3 à 50Hz. Celle des concentrations en CO₂ et H₂O était réalisée avec un Licor 7500, tandis que la mesure des concentrations en ozone était faite avec un analyseur en chimiluminescence fabriqué par un laboratoire du NOAA aux Etats-Unis. La chaîne de traitement des données consistait à (1) écrêter les signaux bruts en enlevant toutes

données en dehors de la moyenne ± 5 écarts-types ; (2) effectuer deux rotations en utilisant la méthode classique (rotation donnant $\overline{v} = \overline{w} = 0$ du « planar fit » (Wilczak *et al.*, 2001) ; (3) enlever une tendance linéaire sur la température, la concentration en CO₂, en vapeur d'eau et en ozone ; et (4) calculer la covariance. Les flux mesurés sont détaillés dans le Tableau 4.1.

4.1.2.7 Sol

L'humidité du sol a été suivie à plusieurs profondeurs au cours de la campagne de mesure, ainsi que les flux de chaleur dans le sol. La densité apparente du sol a été également déterminée ponctuellement.

4.1.2.8 Microclimat du couvert

La température de l'air, des feuilles et du sol ainsi que le rayonnement photosynthétiquement actif (PAR) ont été mesurés dans le couvert, à plusieurs niveaux, et à plusieurs distances de la plante dans l'inter-rang. Plusieurs dizaines de thermocouples ont été utilisés à cet effet.

4.1.2.9 Bilan des mesures

Tableau 4.1. Résumé des mesures physiques et chimiques réalisées lors de cette expérimentation commune

Type de mesure	Période	Mesures	Variabl e	Unités	Détails	Observations
Sol	15/06/2002	Humidité pondérale	ρ_{soil}	kg kg ⁻¹	Mesure gravimétrique	profondeurs 0,0.5,0.1,0.2,0.3,0.4,0.5,0.6,0.7,0.8,0.9,1.0,1.1,1.2 m
	02/10/2002	Densité apparente	d_{soil}	-	Mesure volumétrique	
		Flux de chaleur sol	G	W m ⁻²	Plaquettes fluxmètres	
Plante	15/06/2002	Hauteur du couvert	h_c	m	Mesure directe	à trois hauteurs dans le couvert
	02/10/2002	Surface foliaire	LAI	m ² m ⁻²	Planimètre sur 6×8 plantes	
		Densité de surface foliaire	LAD	m ² m ⁻³	Digitaliseur 3D	
		Température des feuilles	T_l	°C	Thermocouples fins	
		Ray. photosynth. actif	PAR _c	W m ⁻²	Quantum Li-Cor	
Météorologie	15/06/2002	Précipitation	P	mm	Pluviomètre à auget	à 5 m de hauteur à 5 m de hauteur à 5 m de hauteur à 0, 0.05, 0.10, 0.20, 0.50 m de profondeur à 5 m de hauteur à 2 m et 5 m
	02/10/2002	Vitesse du vent	U	m s ⁻¹	Anémomètre à coupelles	
		Direction du vent	WD	deg / N	Girouette	
		Température de l'air	T_a	°C	Thermocouple ventilé	
		Température du sol	T_s	°C	Thermocouple enterré	
		Humidité relative	RH	%	Thermo-hygromètre HMP45	
		Rayonnement global	R_g	W m ⁻²	Pyranomètre Kipp	
		Rayonnement net	R_n	W m ⁻²	Pyrgéomètre	
		Ray. photosynth. actif	PAR	W m ⁻²	Quantum Li-Cor	
		Rayonnement diffus	R_d	W m ⁻²	Kipp diffus	
		Rayonnement atmosphérique	R_a	W m ⁻²	pyrradiomètre	
		Pression atmosphérique	P_{atm}	Pa	-	
		Indice d'humectation	WI	%	Peignes Campbell rigides	
	Mât Gradient	7/07/2002	Vitesse du vent	U	m s ⁻¹	
02/10/2002		Température de l'air	T_a	°C	Thermocouples fins	
		CO ₂ concentration	[CO ₂]	ppm	Licor 6262	
		H ₂ O concentration	[H ₂ O]	ppth	Licor 6262	
		O ₃ concentration	[O ₃]	ppb	TEnv O3 41M	
		NO concentration	[NO]	ppb	TEnv 42S/42C	
		NO ₂ concentration	[NO ₂]	ppb	TEnv 42S /42C	
		SO ₂ concentration	[SO ₂]	ppb	Thermo Environnement	

Tableau 4.1. Suite ...

Type de mesure	Période	Mesures	Variable	Unités	Détails	Observations
Flux par gradients	7/07/2002	Hauteur de déplacement	d	m		
	02/10/2002	Longueur de rugosité	z_0	mm		
		Vitesse de frottement	u_*	m s^{-1}		
		Flux de chaleur sensible	H	W m^{-2}		
		Flux de chaleur latente	LE	W m^{-2}		
		Long. de Monin-Obukhov	L	m	Méthode du gradient	voir texte
		Flux de CO_2	F_{CO_2}	$\text{mg m}^{-2} \text{s}^{-1}$		
		Flux de vapeur d'eau	$F_{\text{H}_2\text{O}}$	$\text{g m}^{-2} \text{s}^{-1}$		
		Flux d'ozone	F_{O_3}	$\text{ng m}^{-2} \text{s}^{-1}$		
		Flux de NO	F_{NO}	$\text{ng m}^{-2} \text{s}^{-1}$		
Flux de NO_2	F_{NO_2}	$\text{ng m}^{-2} \text{s}^{-1}$				
Flux par corrélations	15/06/2002	Vitesse du vent	U	m s^{-1}	Anémomètre Gill R3	
	02/10/2002	Direction du vent	WD	deg / N	Anémomètre Gill R3	
		Hauteur de déplacement	d	m		
		Longueur de rugosité	z_0	mm		
		Vitesse de frottement	u_*	m s^{-1}		
		Flux de chaleur sensible	H	W m^{-2}	Méthode des corrélations	voir texte
		Flux de chaleur latente	LE	W m^{-2}		
		Long. de Monin-Obukhov	L	m		
		Flux de CO_2	F_{CO_2}	$\text{mg m}^{-2} \text{s}^{-1}$		
		Flux de vapeur d'eau	$F_{\text{H}_2\text{O}}$	$\text{g m}^{-2} \text{s}^{-1}$		
Vitesse de dépôt d'ozone	$V_d\{\text{O}_3\}$	$\text{ng m}^{-2} \text{s}^{-1}$				
Rayonnement UV		Mesure du $J\text{NO}_2$	$J\text{NO}_2$	s^{-1}	Mesure rayonnement UV montant et descendant	

4.1.3 Quelques résultats

4.1.3.1 Conditions générales

Le LAI du maïs a évolué entre moins de $2 \text{ m}^2 \text{ m}^{-2}$ et plus de $5 \text{ m}^2 \text{ m}^{-2}$ au cours de la période expérimentale, tandis que sa hauteur variait de moins de 1 m à près de 2.7 m.

4.1.3.2 Concentrations en polluants

Les concentrations en O_3 , NO , NO_2 et SO_2 étaient assez basses en moyenne pour la saison (Tableau 4.2) à l'exception de quelques pics qui étaient dus à des événements ponctuels et locaux (trafic).

Tableau 4.2. Concentrations (en ppb) : minimum, maximum, moyenne, médiane et écart-type des concentrations en O_3 , NO , NO_2 et SO_2 .

Espèce	minimum (ppb)	maximum (ppb)	médiane (ppb)	moyenne (ppb)	écart-type (ppb)
O_3	0	43.0	12.2	14.0	8.6
NO	0	5.0	0.1	0.5	0.9
NO_2	0	11.4	2.3	3.1	2.4
SO_2	0	13.0	0.03	0.66	1.4

La Figure 4.3 nous montre l'origine des NO_x issus du trafic de la région parisienne (située à l'est du site de mesures), tandis que les concentrations en O_3 nous montrent une origine plus diffuse, traduisant le caractère secondaire des sources. Le SO_2 ayant été mesuré à partir du 18/9/2002, les statistiques, basées sur une dizaine de jours seulement, sont moins robustes dans la Figure 4.3.

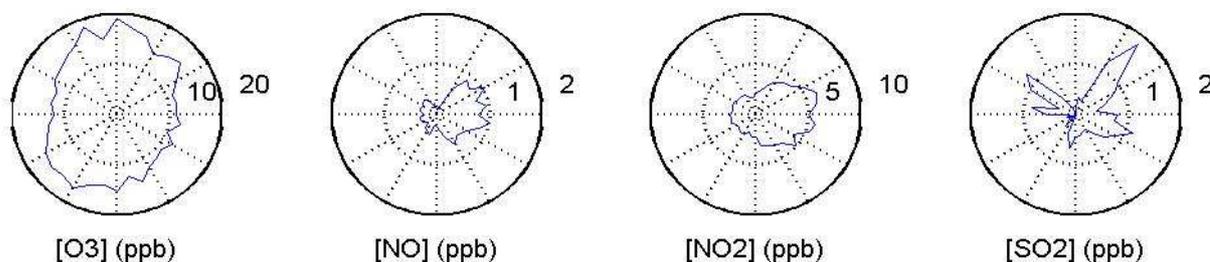


Figure 4.3. Concentrations médianes en O_3 , NO_x et SO_2 par secteur de vent sur l'ensemble de la période de mesure. Noter que pour le SO_2 , l'échantillon de données est beaucoup plus petit que pour les autres polluants.

4.1.3.3 Profils verticaux de T_a , CO_2 , vapeur d'eau, O_3 et NO_x

La Figure 4.4 montre des profils verticaux de T_a , CO_2 , vapeur d'eau, O_3 et NO_x qui sont représentatifs du mois d'août, avec une végétation développée et encore active. Les profils verticaux de température montrent que la partie supérieure du couvert est une source de chaleur le jour et un puits la nuit.

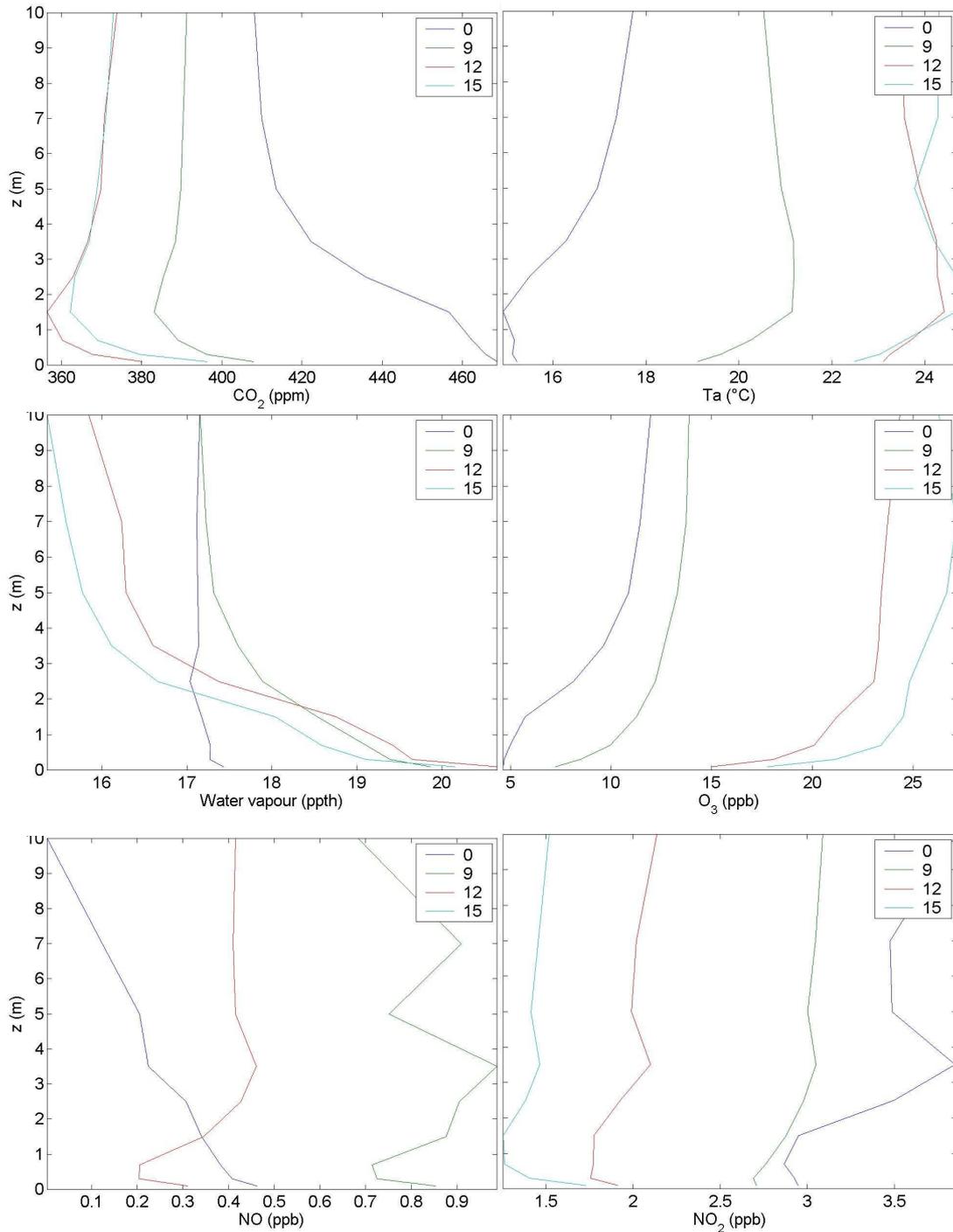


Figure 4.4. Gradients de concentration en CO_2 , température de l'air (T_a) concentration en vapeur d'eau, et concentrations en O_3 , NO et NO_2 à 00:00, 09:00, 12:00 et 15:00. Moyennes sur 10 jours autour du 15 août 2002. les unités de concentrations sont en mol mol^{-1} avec un facteur d'échelle : 10^{-3} (ppth), 10^{-6} (ppm), et 10^{-9} (ppb).

De même, les profils d'humidité de l'air indiquent que le couvert et le sol transpirent et évaporent de jour, tandis qu'à minuit, le sommet du couvert semble subir un léger dépôt de rosée. A l'inverse le couvert est un puits de CO_2 le jour (photosynthèse), et une source légère la nuit, tandis que le sol est une source de CO_2 de jour comme de nuit. On note que le puits de CO_2 est maximum à midi solaire. Les profils de concentration en O_3 indiquent que l'espace du couvert et le sol sont des puits pour l'ozone de jour comme de nuit. On note notamment que la décroissance de la concentration d' O_3 près du sol est très marquée, indiquant que le sol, ou

tout au moins la couche limite du sol est une zone privilégiée de destruction de l'ozone (notamment par réaction avec le NO émis par le sol). Les profils de NO sont beaucoup moins « stables », illustrant la difficulté à mesurer correctement des flux de NO par la méthode du gradient. Cela est lié aux faibles concentrations de NO (< 1 ppb), à sa forte réactivité avec O₃, ainsi qu'à la forte variabilité spatiale des sources autour de ce site qui induisent des variations rapides de concentrations. Cela vaut également pour le NO₂ mais dans une moindre mesure, notamment du fait des niveaux plus élevés. Il ressort néanmoins des profils de la Figure 4.4 que le couvert était plutôt un puits pour le NO de jour, tandis que le sol était plutôt une source d'intensité très faible.

4.1.3.4 Flux de CO₂, vapeur d'eau et de polluants

Les flux de CO₂ sont ceux attendus pour un couvert en fonctionnement, avec une absorption de jour corrélée au PAR, et une respiration nocturne (Figure 4.5). La vitesse de dépôt de l'ozone est, quant à elle, toujours positive, et relativement bien corrélée également au PAR de jour. Une étude plus poussée de l'évolution de $V_d\{O_3\}$ fait l'objet d'un chapitre de ce rapport. Les flux de NO et NO₂ n'ont pas donné des résultats aussi clairs.

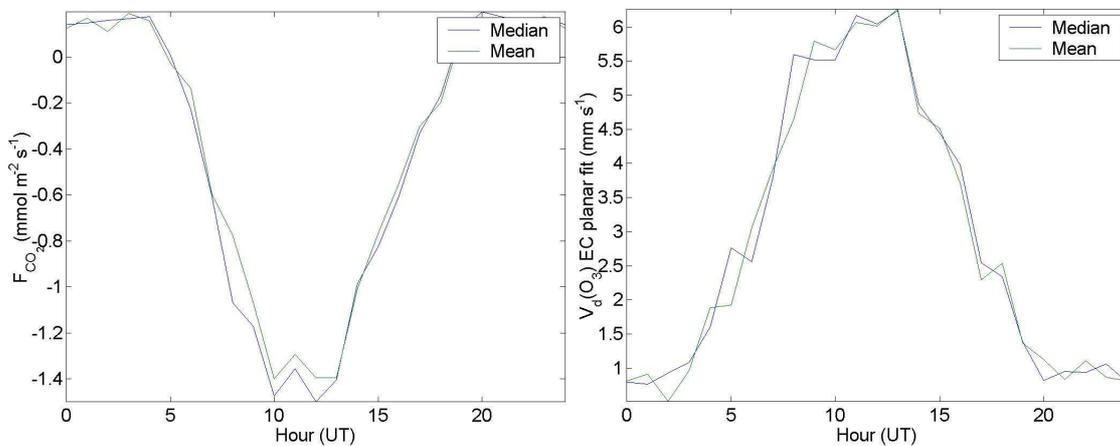


Figure 4.5. Evolution journalière moyenne du flux de CO₂ (F_{CO_2}) et de la vitesse de dépôt d'ozone ($V_d\{O_3\}$) à 5.4 m au-dessus du sol entre le 7 et le 17 juillet 2002, en pleine période de croissance du couvert. La vitesse de dépôt de l'ozone est définie comme $V_d = -\text{Flux} / \text{Concentration}$ à une hauteur donnée. Les flux étaient estimés par la méthode des corrélations avec « planar fit ».

4.1.4 Discussion

4.1.4.1 Comparaison méthodes des corrélations et méthode du gradient

Cette expérimentation a, entre autre, permis de comparer les méthodes des corrélations et des gradients pour estimer les flux convectifs de quantité de mouvement, de chaleur, et de gaz-traces. Les deux techniques donnent, en moyenne, des flux semblables pour la quantité de mouvement (u^*), la vapeur d'eau (LE), et le CO₂, bien que la dispersion des points soit importante, et que le gradient donne des flux très légèrement supérieurs (en valeur absolue ; Figures 4.6 et 4.7). On observe des différences dues aux corrections de stabilité utilisées dans la méthode du gradient, en conditions stables : u^* estimé par le gradient est plus grand que u^* estimé par la méthode des corrélations entre 0 et 0.2 m s⁻¹ ; et le flux de respiration (flux de CO₂ positif) est supérieur dans la méthode du gradient. En dehors de ces remarques ponctuelles, les deux méthodes de mesures donnent des résultats très proches pour u^* , F_{CO_2} et LE .

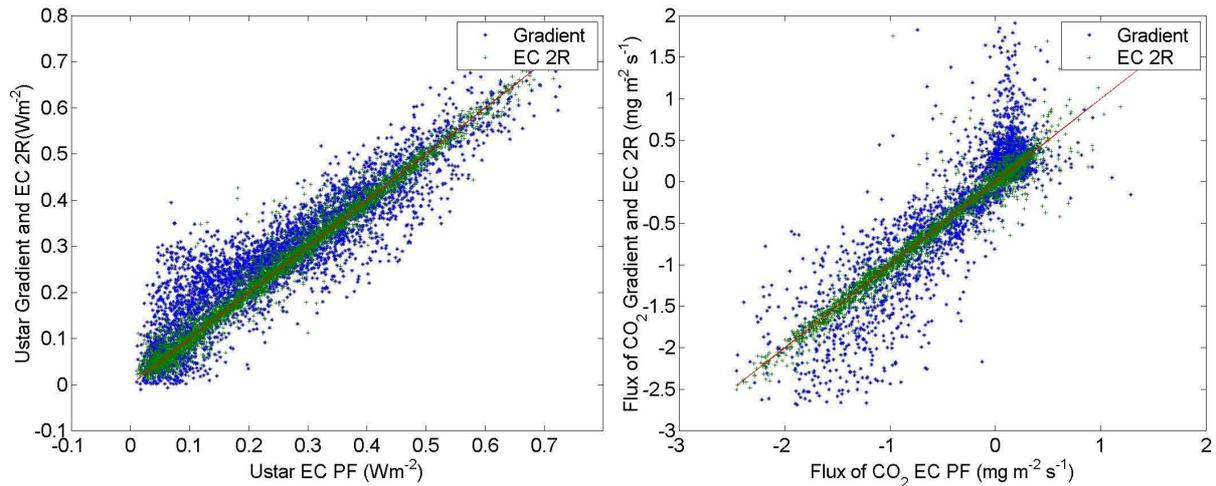


Figure 4.6. Comparaison de u_* ($Ustar$) et du flux de CO_2 estimés par la méthode du gradient et par la méthode des covariances (avec deux méthodes de rotation, « planar fit » = PF et 2 rotations = 2R). Pour la méthode du gradient, la pente de la régression linéaire est 1.028 [1.022 - 1.034] pour u_* , et 1.07 [1.06 - 1.09] pour flux de CO_2 . La gamme entre crochet est l'intervalle de confiance à 5%.

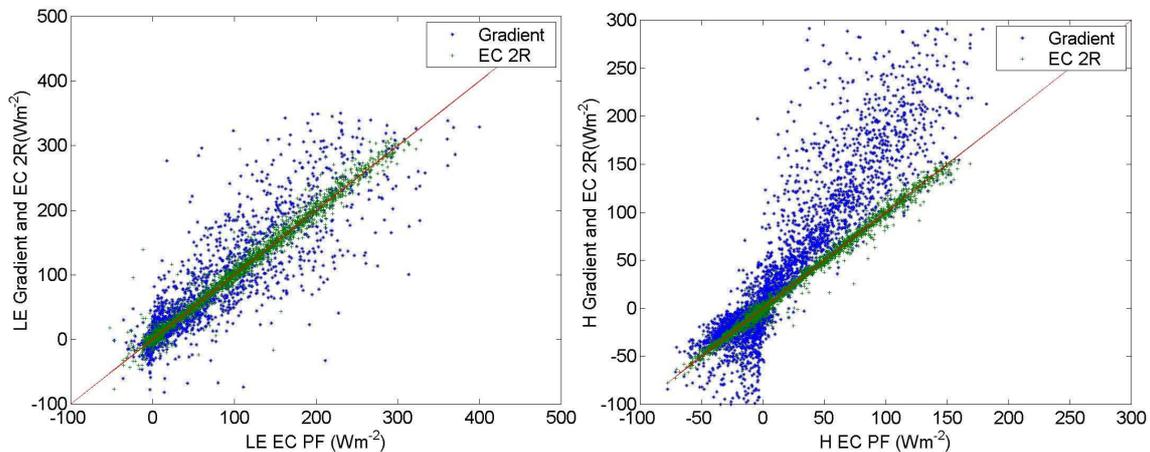


Figure 4.7. Comparaison des flux de chaleur sensible H et latents LE estimés par la méthode du gradient et par la méthode des covariances (avec deux méthodes de rotation, planar fit = PF et 2 rotations = 2R). Pour la méthode du gradient, la pente de la régression linéaire est 1.01 [0.99 - 1.02] pour LE et 1.56 [1.54 - 1.58] pour H . La gamme entre crochet est l'intervalle de confiance à 5%.

En revanche, la méthode du gradient donne des flux de chaleur sensibles significativement plus forts que la méthode des corrélations (Figure 4.7). Il faudra vérifier si cet écart est dû à une surestimation du gradient de température du fait de l'utilisation de thermocouples non ventilés. Toutefois, ces thermocouples avaient été testés auparavant.

4.1.4.2 Fermeture du bilan d'énergie

L'un des tests permettant de vérifier la qualité des données recueillies consiste à comparer le bilan d'énergie de la surface estimé directement par mesure du rayonnement net (R_n) à l'aide d'un radiomètre avec celui reconstruit à partir des différents flux de chaleurs mesurés indépendamment (H , LE et G). La Figure 4.8 montre le résultat de ce test en utilisant les flux LE et H estimés par la méthode du gradient et des corrélations. Le bilan d'énergie est significativement sous-estimé (de 22%) par la méthode des corrélations tandis qu'il est estimé correctement par la méthode du gradient (pente de 0.99 ± 0.01). Toutefois, la dispersion des données est plus forte avec la méthode du gradient qu'avec celle des corrélations. Par ailleurs, de nuit ($R_n < 0$) la méthode du gradient surestime souvent les flux (en valeur absolue).

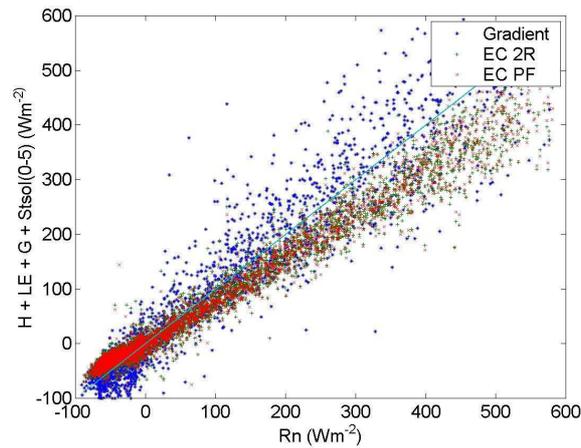


Figure 4.8. Bilan d'énergie estimé par la mesure des flux H , LE , G et le stock dans le sol, en fonction du rayonnement net R_n . Les résultats sont donnés pour la méthode du gradient des covariances (avec deux méthodes de rotation, planar fit = PF et 2 rotations = 2R). La pente de la régression linéaire est 0.99 [0.98 - 0.99] pour le gradient, et 0.78 [0.78 - 0.79] pour les corrélations. La gamme entre crochet est l'intervalle de confiance à 5%.

4.1.5 Bilan provisoire

Cette expérimentation a bénéficié de la contribution d'un grand nombre d'équipes pour fournir un jeu de données complet qui permettra de réaliser des études sur la compréhension des processus d'échanges d'ozone, et sur sa modélisation à différentes échelles. Ce jeu de données a déjà été utilisé dans plusieurs études de modélisation dans la communauté de chercheurs liés au projet **BIOPOLLATM** (études du paramétrage de $V_d\{O_3\}$, modèle de photosynthèse C4). Il est programmé d'utiliser ces données pour la validation des modèles ISBA et Surf atm.

La comparaison entre les méthodes du gradient et des corrélations montre une différence significative sur les flux de chaleur sensible. La réponse aux questions que cela soulève permettra de mieux comprendre ces méthodes, et donnera l'occasion de définir des données consolidées à court terme.

Malheureusement, l'été 2002 n'a pas fourni les fortes concentrations en ozone attendues sur ce site, et les effets directs des dépôts d'ozone sur le fonctionnement biochimique de la plante n'a pu être mis clairement en évidence.

4.1.6 Base de données

Les données qui ont été obtenues au cours de cette expérimentation ont été organisées de façon à facilement être mises à la disposition des membres du projet. Ainsi les données sont organisées dans des fichiers CSV (textes séparés par une virgule), et l'ensemble des informations nécessaires sont également organisées afin d'y accéder avec des outils de gestion des bases de données.

L'ensemble de ces données sera donc mis à disposition du public une fois les principaux résultats publiés, selon des modalités qui devront être discutées.

4.2 Nouveaux dispositifs expérimentaux mis en place dans le cadre de BIOPOLLATM

Au delà des résultats scientifiques présentés précédemment, le projet **BIOPOLLATM** a également eu pour sorties concrètes la mise au point et l'installation de plusieurs dispositifs expérimentaux originaux dédiés à l'étude (1) des flux de polluants entre un couvert végétal ou une plante et l'atmosphère et (2) de l'impact des polluants sur la végétation. Ces dispositifs sont un acquis important qui seront encore valorisés après la fin du projet **BIOPOLLATM**, soit par nos équipes, soit par des équipes extérieures qui le souhaiteraient.

4.2.1 Développement de chambres de fumigation pour l'analyse et la paramétrisation des échanges de polluants entre une végétation et l'atmosphère

Une chambre de fumigation a été développée afin d'analyser les échanges de polluants plante-atmosphère, leurs facteurs de régulation et leurs impacts sur les fonctions de base de la plante. Cette chambre permet d'exposer des plantes entières à différentes teneurs en polluants tout en mesurant simultanément les échanges de polluants, de CO₂ et l'évapotranspiration. Elle est régulée en température et humidité. Elle permettra d'étudier (1) l'effet de différentes teneurs en polluants sur le fonctionnement de la plante (photosynthèse, conductance stomatique, ..), (2) l'effet des conditions microclimatiques (température, humidité de l'air et de la surface de la végétation) sur le dépôt, (3) l'effet de la nutrition azotée (variation du point de compensation, notamment) sur les flux, (4) l'effet des conditions de sol (teneur en eau) sur le dépôt.

Sa conception a débuté en 2002 (stage DEA de A. Afroun) par la mise au point du système de régulation de la teneur en ozone de l'air entrant dans la chambre. Une enceinte climatisée a été réalisée au cours de l'hiver et du printemps 2002-2003 pour y installer la chambre de fumigation dans des conditions permettant une régulation optimale des conditions microclimatiques. Celle-ci permet de mesurer simultanément les flux de polluant absorbés par un mini couvert végétal (une dizaine de plantes) en conditions contrôlées ainsi que les échanges plus classiques de CO₂ et de vapeur d'eau nécessaires à une bonne caractérisation de la transpiration, de la respiration et de la photosynthèse des plantes. Afin de pouvoir travailler avec des polluants de natures différentes, l'ensemble a été réalisé au moyen de matériaux les plus « inertes » possibles (tubes PTFE, chambres en inox). Un schéma d'ensemble du dispositif est représenté sur la **figure 4.9**. La chambre est constituée de deux cuves en inox superposables, ce qui permet (selon la taille des plantes) de disposer de deux volumes d'exposition à l'ozone différents : le volume d'une seule cuve est de 0,6 x 0,8 x 0,4 m³ (soit 192 litres). Quand les deux cuves sont superposées, le volume est de 1,2 x 0,8 x 0,4 m³, soit 384 litres. Le débit d'air dans la chambre est relativement élevé (150l/minute).

La chambre a été testée au printemps 2003 pour évaluer l'effet de l'ozone sur une culture de blé et mesurer directement les dépôts sur cette culture. Cette chambre est actuellement utilisée en routine pour analyser la réponse de la photosynthèse, de la respiration et de la sénescence du blé à différents niveaux d'exposition à l'ozone (thèse de S. Lebard). C'est en effet un outil particulièrement adapté au test de différentes combinaisons de durée d'exposition et de concentrations d'ozone, car il permet facilement de réaliser des « pics » similaires à ceux qu'on observe en conditions extérieures. L'objectif de ces expérimentations est de tester la pertinence de l'utilisation de la quantité de polluant absorbée par rapport à la somme des concentrations en ozone de l'air ambiant.

Par la suite la chambre sera utilisée pour d'autres applications, notamment pour affiner les paramétrisations des résistances cuticulaires (Axe 3).

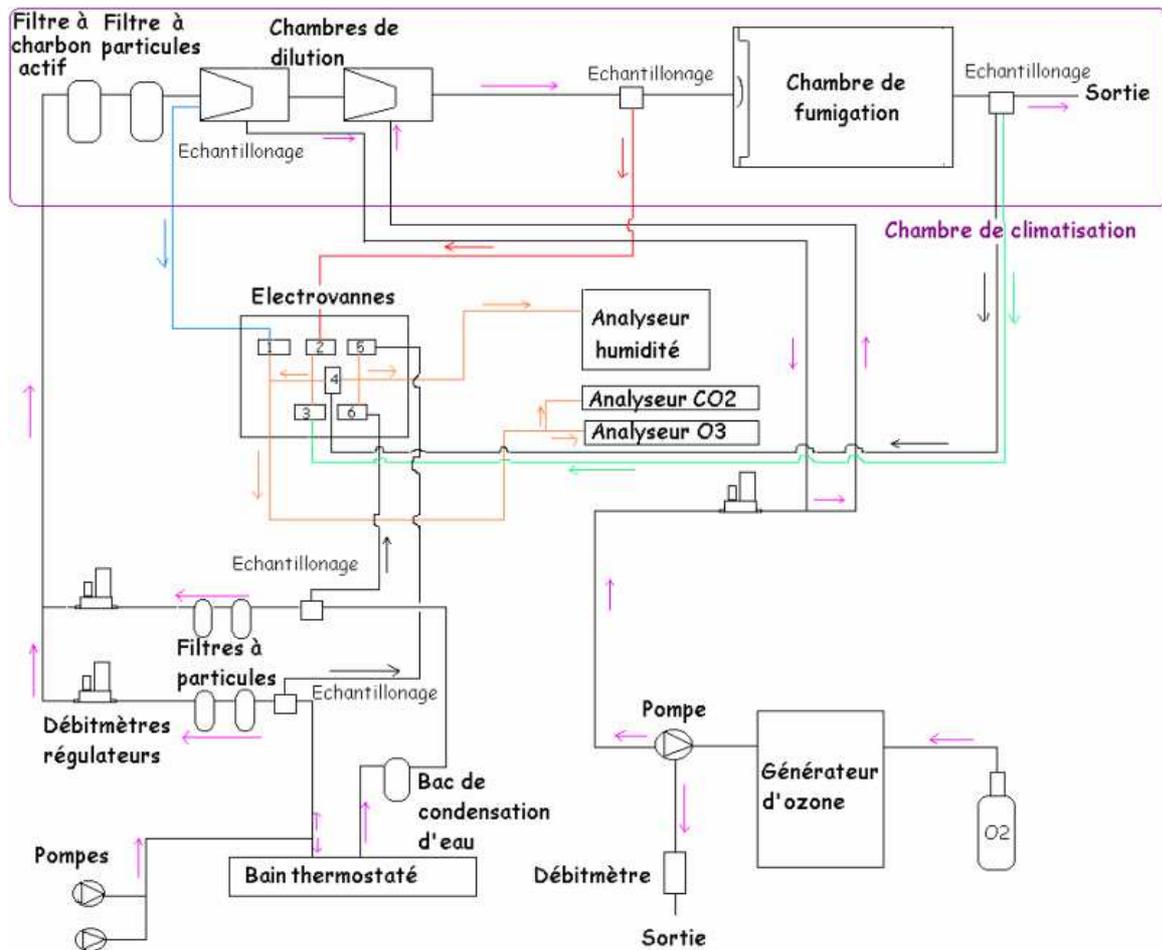


Figure 4.9 : Schéma de présentation de la chambre de fumigation aux gaz polluants mise au point et construite à Grignon en 2002-2003. Le dispositif consiste à mesurer alternativement les concentrations des gaz à l'entrée et à la sortie de la chambre, de façon à estimer le flux absorbé par les plantes présentes dans l'enceinte.

4.2.2 Dispositif de Rampe de Fumigation

NB : ce dispositif a été mis au point avec l'appui du département Environnement et Agronomie de l'INRA dans le cadre de financement des projets innovants 2004-2005.

4.2.2.1 Objectifs :

Un des problèmes majeurs que pose l'étude des impacts des polluants atmosphériques sur la végétation réside dans la difficulté d'obtenir un témoin non pollué « toutes choses égales par ailleurs ». Pour essayer de s'affranchir de cette limite, un recours presque systématique à des milieux plus ou moins artificiels a été réalisé (chambres de culture, serres, chambres à ciel ouvert ou OTC) entraînant d'autres limites importantes. Si ces procédés ont permis de mettre en évidence à une échelle relativement fine les modes d'action de divers polluants atmosphériques, ils s'avèrent en général totalement impuissants pour la quantification des effets en conditions naturelles (Tonneijck et Van Dijk, 1998 ; Meyer et al., 2000), tant ils déplacent la gamme de variabilité des facteurs susceptibles d'interagir avec le processus étudié (pour une revue de détail des inconvénients du système OTC qui se veut le plus proche des conditions réelles, voir Daudet et Claustres, 1995). Plus récemment, on a vu se développer des systèmes tels que les anneaux FACE (Frumeau et al., 2000), permettant une régulation complètement automatisée de la teneur d'un gaz à l'intérieur d'un périmètre non

perturbé au champ. Ils présentent néanmoins l'inconvénient d'une part de ne pas donner accès à un champ continu et homogène de concentrations et d'autre part de recourir à une technologie très complexe et coûteuse. D'où l'idée d'essayer d'adapter un système plus simple reposant sur l'établissement d'un gradient de dispersion par le vent naturel (Cf infra, description du projet).

A noter que ce dispositif permet des études très complémentaires de celles réalisées en conditions totalement contrôlées en chambre de fumigation. En effet, celles-ci permettent une caractérisation fine des processus en jeu, alors que celle-là permettrait comme validation une détermination quantitative des impacts réels des polluants atmosphériques dans la gamme des conditions agricoles (en peuplement, sans modification des interactions avec le microclimat et l'itinéraire technique).

Plus généralement, une des grandes forces de ce dispositif, outre son caractère innovant, nous paraît être sa dimension générique. Orienté ici sur l'étude de l'impact de l'ozone sur le fonctionnement d'un peuplement de blé (retenu pour sa grande représentativité) en conditions agricoles, il pourrait en effet être transposé tel quel à l'étude de l'impact de n'importe quel autre polluant atmosphérique sur n'importe quelle autre culture voire écosystème. On pense notamment aux études à long terme, aux écosystèmes naturels trop larges ou complexes pour être enfermés en chambre (arbres adultes, marais...) ou ne pouvant par définition se satisfaire d'un milieu artificialisé (études de biodiversité...)

4.2.2.2 Principe :

Le dispositif repose sur un système de fumigation en plein champ pour étudier l'impact des polluants atmosphériques sur la croissance et l'élaboration du rendement d'une culture dans la gamme des conditions agricoles usuelles sans perturber le milieu.

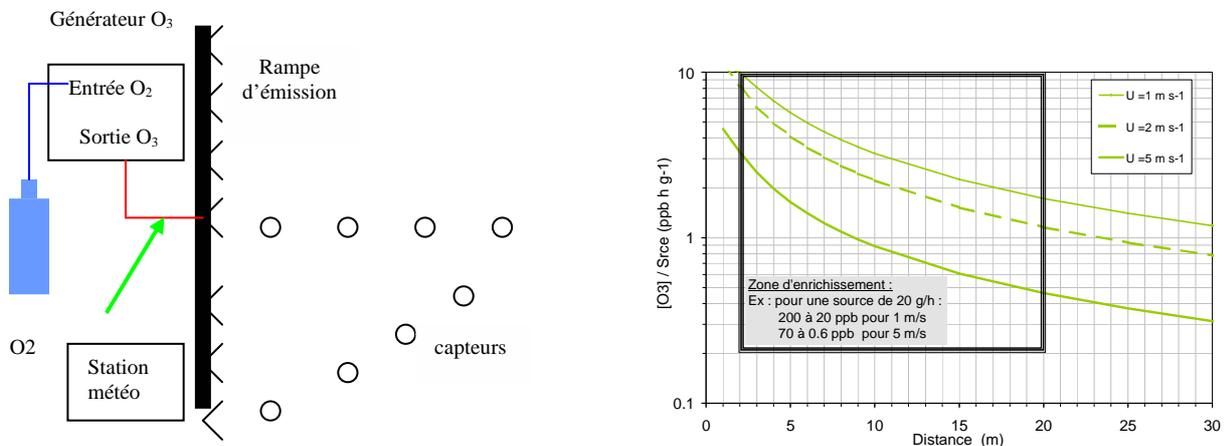


Figure 4.10 : schéma du dispositif de rampe de fumigation

Au moyen d'une source linéaire d'émission et en utilisant le vent dominant comme agent dispersant, on crée un gradient continu de concentrations réalistes en aval de la source, sans modifier pour autant les conditions naturelles de croissance, et avec des plages de concentration homogène suffisantes pour permettre un suivi multicritère rigoureux des effets d'une dose donnée sur la végétation. Cela suppose bien-sûr un automatisme permettant de déclencher le fonctionnement de la source d'ozone dans des conditions favorables (direction et force du vent, pluie, rayonnement...) (Führer, 1994 ; Tonneijck et Van Dijk, 1998).

4.2.2.3 Dimensionnement et qualification du dispositif :

Cette première phase s'est appuyée à la fois sur des simulations réalisées au moyen de modèles de transfert lagrangien (Loubet et Cellier, 2001) et des tests grandeur nature à partir des prototypes réalisés. Les calculs et tests préliminaires réalisés ont fait ressortir les facteurs suivants comme importants à prendre en compte dans la démarche d'optimisation :

- configuration de la rampe : longueur suffisante pour limiter les effets de bord, en relation avec la distance aval et l'ouverture du secteur de vent utilisées, hauteur au dessus de la source, et adjonction éventuelle d'un dispositif favorisant le mélange et une dispersion régulière ;
- puissance requise : puissance suffisante de la source d'ozone en rapport avec la longueur de la rampe et les concentrations d'exposition souhaitées, compromis entre pression de service, débit et concentration en ozone de l'air émis pour un bon étagement du gradient ;
- conditions d'activation : détermination de la meilleure fenêtre de vent, fréquence, angle et plage de vitesse du vent (si la force du vent est trop faible, l'ozone ne va se disperser et les concentrations très fortes près de la rampe risquent de tout brûler, si elle est trop forte, il va être dispersé en pure perte car on n'arrivera pas à créer des augmentations de concentrations suffisantes), conditions de rayonnement (ouverture stomatique) et d'humidité (dépôt cuticulaire).

Des tests d'intensité et d'homogénéité du champ de concentration d'ozone ont ensuite été réalisés au moyen de capteurs d'ozone actifs et passifs pour les différentes configurations présélectionnées. Ils ont permis ainsi de positionner au mieux les stations de suivi de la végétation en fonction des doses d'exposition choisies.

4.2.2.4 Mise en œuvre sur végétation :

Le suivi sur végétation comprend deux parties. La première correspond à des mesures assez générales permettant de caractériser l'essai sur un plan agronomique (suivi du développement et de la croissance, contrôle de l'alimentation hydrique et de la nutrition azotée, notation des accidents de culture éventuels...) pour permettre les comparaisons avec d'autres études et un diagnostic des causes des différences éventuelles. La seconde correspond aux mesures destinées à évaluer l'impact de l'ozone proprement dit sur le fonctionnement des plantes et comprend des mesures de photosynthèse (au moyen d'un Li-COR LI-6400), des mesures conductance stomatique (au moyen d'un LCA3 ou Lci) pour pouvoir intégrer les effets de l'ozone en fonction de la quantité de polluant absorbée, des prélèvements de feuilles immédiatement plongées dans de l'azote liquide pour les analyses biochimiques, et un suivi fin de l'évolution de la sénescence foliaire.

4.2.3 Mise en place d'un site expérimental de suivi des flux de polluants entre une culture agricole et l'atmosphère

Les écosystèmes terrestres naturels ou anthropiques, jouent un rôle majeur dans les **cycles biogéochimiques** et les **cycles des polluants atmosphériques**. Elles sont impliquées dans des problèmes environnementaux de première importance, dont **BIOPOLLATM** est partie prenante, mais qui en dépassent largement le cadre :

- **effet de serre** par le biais des flux de CO₂ engendrés par la photosynthèse et la respiration (sol, plante, racines), et la production de N₂O résultant des transformations de l'azote dans le sol (nitrification, dénitrification) ;
- **acidification et eutrophisation** : les activités agricoles, notamment la fertilisation azotée sont la principale source d'ammoniac et une source notable d'oxydes d'azote, principaux composés responsables de ces impacts sur l'environnement.

- **pollution photo-oxydante**, pour laquelle le rôle des surfaces agricoles est la résultante de deux influences contradictoires : sources de précurseurs de l'ozone (NO_x et COV) et puits pour l'ozone (un couvert végétal peut absorber 10 à 25% de l'ozone produit par photochimie dans l'atmosphère au cours d'une journée).
- **santé** : par leur influence sur les niveaux d'ozone et d'oxydes d'azote, mais aussi plus directement dans le cas des émissions et produits phytosanitaires.

Pour mieux comprendre et évaluer le rôle des surfaces naturelles, en particulier agricoles dans ces grandes problématiques environnementales, il est indispensable de disposer de séries continues de flux et pour cela de mettre en place un site-atelier de suivi des échanges de masse entre une culture agricole et l'atmosphère pour des composés tels que le CO₂, l'eau et divers polluants tels que l'ozone, les oxydes d'azote, l'ammoniac, voire des pesticides.

La localisation d'un tel site en zone périurbaine nous semble particulièrement pertinente car les problèmes environnementaux tels que la pollution photo-oxydante et les impacts sur la santé s'y posent plus spécifiquement tandis que les impacts sur l'effet de serre, l'acidification et l'eutrophisation s'y posent de la même manière qu'en zone rurale. A ce titre, le site de Grignon nous semble particulièrement bien situé :

- à l'ouest de la région parisienne, il subit alternativement des influences rurales (vents d'ouest), urbaines (vent de nord à est) et industrielles (vent du nord-ouest), ce qui permettra de documenter des situations très diverses
- au sud-ouest de l'agglomération parisienne, il subit de plein fouet les épisodes de pollution à l'ozone comme ça a été le cas au cours de l'été 2003.

Au delà des enjeux du projet **BIOPOLLATM** et des problématiques des équipes qui y sont engagées, cette démarche rejoint :

- une préoccupation générale de la communauté scientifique « Chimie Atmosphérique » française. La problématique des émissions et dépôts de polluants sur les écosystèmes naturels et agricoles est devenue importante dans le Programme National de Chimie Atmosphérique. Au colloque de Bilan et Prospective de St Jean de Luz (22-25 septembre 2003) les discussions en sessions plénières et en groupes de travail ont fortement souligné le besoin de sites instrumentés pour la mesure de concentrations et de flux de polluants (ozone, oxydes d'azote, COV biogènes, particules, ...) en particulier en zones périurbaines (Cellier et al., 2004).
- le projet CarboEurope (6^e programme cadre) pour lequel des sites agricoles ont été inclus. Le site de Grignon sera le site agricole du « super-site » France-Nord (coordination A. Granier, INRA Forêts, Nancy). Un suivi des flux nets de CO₂ à partir de méthodes micrométéorologiques a débuté au printemps 2004
- projet GESBiO3 (coord. P. Cellier), soutenu par le programme GICC2 (appel d'offre 2003), pour des mesures de flux de CO₂, N₂O et ozone sur divers types d'écosystèmes (cultures, forêts, prairies).
- projet GICC NO_x sur les émissions d'oxydes d'azote à l'échelle locale et régionale (coordinateur D. Serça, LA, Toulouse)

Ce projet de site-atelier est également soutenu par l'IFR-EGER « Environnement et Gestion de l'Espace Régional » (président A. Mariotti). Il contribue en effet significativement à quatre des six projets transversaux de l'IFR :

- Matières organiques du sol et devenir des polluants et micro-polluants
- Transferts Biosphère – Atmosphère dans l'espace rural et péri-urbain
- Évaluation et maîtrise des risques environnementaux dans les systèmes de grandes cultures

- Activités d'observation de l'environnement

Au delà des objectifs propres du projet *BIO POLLATM* et de celui des équipes de l'IFR-EGER, nous souhaitons que ce site soit ouvert à d'autres partenaires scientifiques de la région parisienne (SA, LSCE, LISA, ...), voire à l'échelle nationale. Un tel lieu pourrait être un puissant support de collaborations et de synergies par la mise en commun des équipements de base du site et la participation à des expérimentations communes. Des contacts ont déjà été pris avec le LSCE (B. Bonsang) pour une éventuelle phase expérimentale du projet « Chimie rapide » soutenu par le PNCA, à l'été 2005.

En outre, le site de Grignon est, depuis l'automne 2004, référencé comme une infrastructure de terrain du réseau d'excellence européen ACCENT (voir le site POLAGRI, sur <http://www.accent-network.org>). Il est également fortement envisagé comme l'un des sites principaux du projet NitroEurope, en cours de constitution pour réponse au 3^e Appel à Proposition du 6^e programme-cadre européen.

Le site POLAGRI (INRA Grignon) est actuellement équipé pour le suivi des flux de CO₂, H₂O et O₃. Un dispositif de suivi des flux de N₂O et NO par des chambres automatiques (plusieurs points de mesure par jour) sera mis en place au printemps 2005. En outre, dans le cadre d'un projet interne INRA-INA P-G, des suivis de flux d'ammoniac devraient y être conduits à partir de la fin de l'année 2005. Ce site est en outre équipé d'une station météorologique complète, d'un dispositif de mesure de l'humidité du sol, d'une plateforme de mesure du rayonnement (global, diffus, atmosphérique, PAR) et de mesures de concentrations en NH₃, NO, NO₂ et SO₂, ainsi que de dépôts humides (pluviomètre « wet-only »). Un suivi des conditions de sol et de la culture est effectué régulièrement en suivant le protocole du projet CarboEurope IP.

Sur le site de Bordeaux, des mesures de flux de CO₂ et H₂O sont effectuées depuis plusieurs années. Elles ont été complétées depuis le printemps 2003 par des mesures de concentrations et flux d'ozone au dessus et sous la canopée. Ce dispositif devrait être complété par des mesures de concentrations en NO/NO₂ en 2005.

En outre, dans le cadre du projet GESBiO3 (GICC2, cf ci-dessus), le site de l'ORE Prairie de Lusignan devrait être équipé d'un analyseur rapide d'ozone pour la mesure des flux, de même qu'un site de forêt de feuillus, soit près de Nancy (INRA, site de Hesse), soit près Fontainebleau (Univ. d'Orsay, site CarboRégion). Le point de blocage actuel est la disponibilité d'analyseurs rapides d'ozone, qui ne sont plus commercialisés.

4.3 Références citées dans la partie 4

Cellier, P. and Brunet, Y., 1992. Flux-gradient relationships above tall plant canopies. *Agricultural and Forest Meteorology*, 58: 93-117.

Cellier P., Loubet B., Zurfluh O., Irvine M., Lamaud E., 2004. Des sites d'observation des échanges de polluants entre les écosystèmes et l'atmosphère. Colloque « Ateliers d'Expérimentation et d'Instrumentation, Paris, mars 2004 (poster + résumé étendu).

Daudet, F.-A. and Claustres, J.P., 1995. Continuous monitoring of gas exchange in open-top chambers in pollution experiments : methodological aspects. *New Phytol.*, 130, 81-88.

Frumau, K.F.A., Vugts, H.F., Hendrey, G.R., Lewin, K.F., Nagy, J., Johnson, H.B., Wechsunge, F., Leavitt, S.W., Thompson, T.L., Matthias, A.D. & Brooks, T.J., 2000. Free-air CO₂ enrichment (FACE): blower effects on wheat canopy microclimate and plant development. *Agricultural and Forest Meteorology*, 103, 319-333.

- Fuhrer, J., 1994. The critical level for ozone to protect agricultural crops - An assessment of data from European open-top chamber experiments. *Schriftenreihe der FAC* 16 (Special issue : Critical levels for ozone - A UN-ECE Report - J. Fuhrer & B. Achermann, Eds.): 42-57.
- Kaimal, J. C. and J. J. Finnigan, 1994: *Atmospheric boundary layer flows: their structure and measurement*. Oxford University Press, New York, NY.
- Loubet B., Cellier P. - 2001 - A modelling study of the combined role of climate and vegetation in controlling short-range deposition of atmospheric ammonia. "8th European symposium on physico-chemical behaviour of atmospheric pollutants", 7-20/09/2001, Torino (ITA), 5 p. (poster proceedings).
- Meyer, U., Köllner, B., Willenbrink, J. and Krause, G.H.M., 2000. Effects of different ozone exposure regimes on photosynthesis, assimilates and thousand grain weight in spring wheat. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 78(1): 49-55.
- Tonneijck, A.E.G. and Van Dijk, C.J., 1998. Assessing effects of ambient ozone on crops in The Netherlands with ethylenediurea (EDU): spatial and temporal variation. In *Studies in Environmental Science 72. Air Pollution in the 21st century. Priority Issues and Policy*: 439-453. Ed.: T.Schneider. Elsevier.
- Wilczak, J. M., S. P. Oncley and S. A. Stage, 2001: Sonic anemometer tilt correction algorithms. *Bound.-Layer Meteor.*, **99**, 127-150.

5 Synthèse – Perspectives

La figure 5.1 rappelle les différentes actions de recherche qui avaient été annoncées dans le projet de recherche **BIOPOLLATM** soumis à PRIMEQUAL en 2002. L'essentiel des résultats acquis à ce jour l'ont été sur les volets (1) Biologie-Ecophysiologie et (2) (Echanges végétation-atmosphère). Le travail sur le volet (3) n'en est qu'à ses prémices. Nous rappelons toutefois que, la deuxième moitié du financement de ce projet venant seulement d'être acquise à la fin 2004 (convention signée en juillet 2004), le projet devrait se poursuivre jusqu'à la fin 2006.

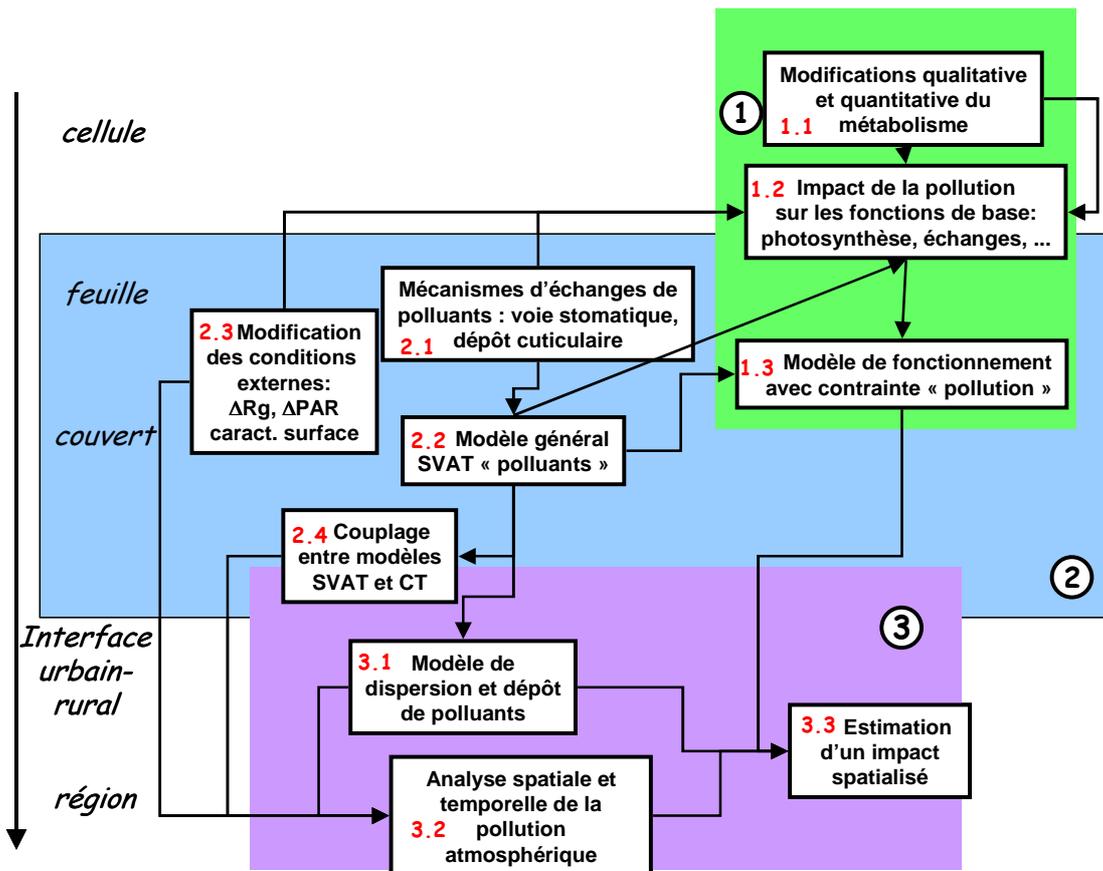


Figure 5.1 : Schéma d'organisation du projet BIOPOLLATM

Concernant le volet (1), les trois actions identifiées 1.1, 1.2 et 1.3 sur la figure 5.1 ont été largement entamées et sont pour certaines presque achevées. Nous avons pu mettre en évidence l'effet d'une augmentation de la teneur en ozone sur les teneurs en pigments photosynthétiques et les activités de la RubisCO et de la PEPc sur des plantes annuelles de type C3 (blé) ou C4 (maïs) et sur une plante ligneuse (peuplier) (Action 1.1). Nous avons mis un accent particulier sur l'étude de l'impact de l'ozone sur une plante C4 car ce type de plante avait été très peu étudié auparavant (de plus, le maïs est en phase de végétation active au moment des risques maximaux de pics d'ozone). Les résultats expérimentaux obtenus ont permis d'obtenir des estimations quantitatives des effets de l'ozone sur ces différentes plantes-modèles, comparables aux données publiées, et de comparer les effets sur les plantes C3 et C4 à l'origine des processus photosynthétiques.

L'étude de l'impact sur la photosynthèse (action 1.2) a adopté une démarche analytique, décomposant le processus en différentes variables (J_{max} , V_{cmax} , conductance stomatique, ...) et étudiant l'impact d'une augmentation de la teneur en ozone sur chacune. Cette démarche présente un caractère générique en ceci qu'elle permet de bien identifier à quel niveau le polluant agit et suivant quelles modalités. Elle devrait pouvoir être adaptée à d'autres polluants. De même, l'effort de modélisation de la conductance stomatique et de sa réponse à l'ozone fournit des concepts et outils d'analyse de l'impact. Une partie de ces résultats a pu être intégrée dans un modèle de fonctionnement de culture (CERES) pour expliquer l'impact de l'ozone sur la production d'une culture. Ces différents travaux se sont largement appuyés sur (et ont été permis par) l'utilisation de dispositifs expérimentaux existants (chambres phytotronique et chambre à ciel ouvert, méthodes d'analyse), mais il faut également souligner que ce projet a été à l'origine de plusieurs dispositifs et méthodes d'étude qui sont des acquis pour l'avenir de ce type de thématique : les chambre et rampe de fumigation. Ces dernières ont permis d'exposer des cultures à des teneurs élevées (mais réaliste) en ozone en conditions agronomiques et microclimatiques réelles, et donc d'obtenir des résultats représentatifs de la pratique agronomique. Il reste maintenant à conforter les résultats obtenus dans ces différentes actions et à les extrapoler à d'autres situations. Nous avons comme objectif à terme d'évaluer les impacts spatialisés de l'ozone sur les cultures, en couplant les modèles développés, dans un premier temps à des données de teneurs en ozone observées ou calculées sur la région parisienne (données AirParif et Prev'Air, à *confirmer*) et dans un deuxième temps avec un modèle de chimie atmosphérique permettant d'étudier les rétroactions entre les cultures et l'atmosphère sur des scénarios (modèle MésoNH-C) (action 3.3).

Concernant le volet (2), le travail s'est organisé autour de modèles d'échanges classiques utilisant le concept de résistance (ou son inverse, la conductance) pour formaliser, expliquer et quantifier les émissions et dépôts (action 2.2). Notre schéma fédérateur est celui d'un modèle à deux couches, qui permet de séparer les processus se déroulant au niveau du sol de ceux qui se déroulent au niveau de la végétation. Ces schémas sont bien établis car ils se basent sur de nombreux travaux conduits sur les flux de vapeur d'eau et de CO_2 . Leur adaptation aux polluants a demandé, d'une part un couplage fort avec un modèle de microclimat en raison de la sensibilité des émissions et dépôts à la température et l'humidité, d'autre part un travail de paramétrisation/modélisation des résistances de surface et du point de compensation. Ce modèle a été validé pour l'ammoniac et son adaptation à l'ozone est en cours. Elle s'appuiera notamment sur un important travail de paramétrisation du dépôt non stomatique en fonction de variables micro-météorologiques, conduit sur des couverts agricoles et forestiers à partir de mesures de flux et variables météorologiques mesurées dans le cadre de **BIOPOLLATM** (action 1.1). Ce dernier travail a eu pour résultat des formulations qui devraient permettre d'améliorer le calcul des vitesses de dépôt dans les modèles atmosphériques. Ce type de paramétrisation du dépôt non stomatique va maintenant être adapté aux modèles bi-couches. Une autre voie d'amélioration est la prise en compte de réactions chimiques entre les oxydes d'azote et l'ozone au sein du couvert végétal. Ce travail est rendu nécessaire par les implications qu'il a au niveau de la qualité de l'air (équilibre NO/NO_2 , teneur en ozone) et de son impact sur les écosystèmes (évaluation du dépôt réel d'ozone, absorption de NO_2 par la végétation). Enfin, nous avons débuté en 2004 la démarche d'intégration des nouveaux schémas de surface dans un modèle de chimie atmosphérique. La première phase consiste à évaluer jusqu'où il est nécessaire d'aller dans une telle opération en comparant un modèle mono-couche (ISBA, interface surface-atmosphère actuellement implantée dans MésoNH-C) à un modèle bi-couche. Cette action de recherche initiera le travail du volet 3, qui démarrera réellement dès le début de 2005. Au delà de ce travail de comparaison de modèles, les directions prises seront

d'une part la définition de scénarios d'utilisation des sols et de conditions atmosphériques (météo, pollution) et l'utilisation de MésoNH-C comme outil d'intégration. Ce travail sera conduit par un post-doc qui sera recruté au printemps 2005.

En terme d'infrastructures, il faut également souligner que **BIOPOLLATM** a été la base de l'installation de plusieurs sites de mesures continues des dépôts d'ozone. Ces sites actuellement implantés sur cultures (Grignon) et forêt de résineux (Bordeaux) devraient à court terme être complétés par des sites sur prairies (Lusignan) et forêts de feuillus (Nancy ou Fontainebleau) et par des mesures d'émissions ou de teneur en oxydes d'azote.

Les travaux sont donc très largement avancés pour les volets 1 et 2 de **BIOPOLLATM**. De nouveaux aspects et méthodes ont même été initiés par rapport au projet initial, compte tenu de l'évolution de notre réflexion et notre expérience dans ce domaine. C'est le cas de certaines méthodes d'estimation de l'activité des enzymes liées à la photosynthèse, du développement d'une rampe de fumigation qui se substitue aux classiques chambres à ciel ouvert, du développement d'un modèle convivial (SurfAtm) et de la mise en place de sites de longue durée pour le suivi des flux d'ozone. Des avancées importantes ont été faites dans la connaissance mutuelle des équipes et des approches très diverses conduites dans ce projet. Le passage entre les différents niveaux d'approche - d'un modèle de photosynthèse à un modèle de culture pour l'évaluation de l'impact, d'un modèle SVAT aux modèles écophysologiques pour le calcul des quantités d'ozone absorbées - est en cours.

Un travail de synthèse et de coordination entre les différentes approches reste toutefois à poursuivre, pour intégrer les différents volets et les différentes approches au sein de chaque volet. La réussite de cette intégration entre approches sera l'un des critères qui permettra de juger du succès de **BIOPOLLATM** au delà de l'ensemble des résultats individuels déjà très conséquent.

6 Publications

Reuves à comité de lecture

(publications récentes des équipes, en relation avec le projet ou résultant directement du projet **BIOPOLLATM**)

- Biolley J.P., Kanoun M., and Goulas P. (2002). The response of vacuolar phenolic content of common bean (*Phaseolus vulgaris* cv Bergamo) to a chronic ozone exposure: questions and hypotheses. *Australian Journal of Plant Physiology* (to be relaunched as *Functional Plant Biology* in 2002). 29, 1-11.
- Dalstein L, Torti X, Le Thiec D, Dizengremel P. 2002. Physiological study of declining *Pinus cembra* (L.) trees in southern France *Trees* 16 : 299-305.
- Kanoun M., Goulas P., Bassères A., Biolley J.P. 2002. Ozone-induced oxidation of Rubisco: from an ELISA quantification of carbonyls to putative pathways leading to oxidizing mechanisms. *Functional Plant Biology* (anciennement *Australian Journal of Plant Physiology*), 29, 1357-1363.
- Karlsson, P.E., Uddling, J., Braun, S., Broadmeadow, M., Elvira, S., Gimeno, B.S., Le Thiec, D., Oksanen, E., Vandermeiren, K., Wilkinson, M., Emberson, L. -2004 New critical levels for ozone effects on young trees based on AOT40 and simulated cumulative leaf uptake of ozone. *Atmospheric Environment* 38 : 2283-2294.
- Leitao L., Goulas P., Biolley J.P. 2003. Time-course of Rubisco oxidation in beans (*Phaseolus vulgaris* L.) subjected to a long-term ozone stress. *Plant Science*, 165, 613-620.
- Le Thiec D, Manninen S. 2003. Ozone and water deficit reduced growth of Aleppo pine seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry* 41 : 55-63.

Reuves sans comité de lecture

- Castell JF., Lebard S. 2003. Impacts potentiels de l'ozone sur les rendements du blé en Ile-de-France. *Pollution atmosphérique* n°179, 405-418.
- Castell JF., 2004. Ozone et canicule : quels impacts sur les cultures et les écosystèmes ? *Pollution atmosphérique* (sous presse)

Publications en préparation

- Lamaud E., Loubet B., Vayssier P., Irvine M., Cellier P. Nocturnal ozone deposition over maize, wheat-straw and coniferous forest in dry and wet conditions. (à soumettre à *Atmospheric Environment*)
- Lebard S., Castell JF., Ney, B. 2004. Determining dose-response relationships for leaf photosynthetic parameters of wheat exposed to realistic ozone concentrations at grain filling stage. *Soumis à Plant Physiology and Biochemistry*.
- Loubet B., Cellier P., Flécharde C., Erwan Personne, Romain Roche, Brigitte Durand, Dominique Flura, Sylvie Masson, Olivier Zurfluh, Michel Chartier, Mark Irvine, Eric Lamaud, Didier Garrigou, and Mickaël Chelle. Fluxes of O₃ and NO_x above and within a maize canopy in a sub-urban environment. En préparation
- Personne E., Loubet B., Cellier P. SURFATM-NH₃ : a model combining the surface energy balance and the bi-directional exchanges of ammonia at the field scale. En préparation
- Roche R., Lebard S. Modelling the impact of ozone uptakes on leaf photosynthesis: towards a theoretical approach.
- Roche R., Loubet B., Cellier P. A new free-air enrichment device for studying the impact of atmospheric pollutants on vegetation without perturbing: case-study of ozone.

Colloques

- Castell JF., Maton C., Vivant A.C., 2004. An empirical model of bel-W3 leaf stomatal conductance for ozone biomonitoring studies. Urban Air Pollution, Bioindication and Environmental Awareness, Conférence Eurobionet, 5-6 novembre 2002, Hohenheim. A. Klumpp, W. Ansel et G. Klumpp (Eds), Cuvillier Verlag, Göttingen , p. 263-269 (poster + texte).

- Castell JF., Roche R., Loubet B., Dizengremel P., Bethenod O., Le Thiec D., Biolley JP., Cellier P., Delacote E., Meyer B., Lebard S. 2004. Free-air ozone fumigation : effects on wheat photosynthesis. 17th Task Force Meeting of the UNECE ICP Vegetation. Kalamata (Grèce) 10-13/02/04 (poster).
- Cellier P., Dizengremel P., Castell J.F., Biolley J.P., Le Thiec D., Bethenod O., Roche R., Lebard S., Goujet R. - 2002 - BIOPOLLATM: a French national project to analyse the biosphere-atmosphere interactions in the context of air pollution. Workshop "Establishing ozone critical levels II", United Nations Economic Commission for Europe, Göteborg (SWE), 19-22/11/2002 (poster).
- Cellier P., Loubet B., Zurfluh O., Irvine M., Lamaud E., 2004. Des sites d'observation des échanges de polluants entre les écosystèmes et l'atmosphère. Colloque « Ateliers d'Expérimentation et d'Instrumentation, Paris, mars 2004 (poster + résumé étendu).
- Cortinovis J., Solmon F., Personne E., Serça D., Rosset R., 2003. Impact of isoprene and nitrogen oxides on O3 chemistry at the local and the regional scale : the ESCOMPTE experiment EGS-AGU-EGU joint assembly. Nice, France. 07-11 April 2003
- Lamaud E., Loubet B., Irvine M.R., Flécharde C., Zurfluh O., Cellier P. - 2002 - Ozone deposition over maize and wheat-straw in nighttime and daytime conditions from eddy correlation measurements. 3rd European Meeting on Environmental Chemistry, Geneva (CHE), 11-14/12/2002 (poster).
- Lamaud E., Martegoute M., Irvine M., 2004. Ozone deposition over a coniferous forest : characterization of stomatal and non-stomatal processes. 9th FECS Conference on Chemistry and the Environment, Bordeaux (France), 29/08-01/09/2004 (poster).
- Leitao L., Castell JF., Dizengremel P., Cellier P., Le Thiec D., Bethenod O., Lebard S., Roche R., Biolley JP. 2004. Ozone impact on young maize plants : changes in biomass, leaf area and pigments content. 17th Task Force Meeting of the UNECE ICP Vegetation. Kalamata (Grèce) 10-13/02/04 (poster).
- Le Thiec D., Dizengremel P., 2003. Relations dose - réponse de l'impact de l'ozone sur les végétaux Journées d'Ecologie Fonctionnelle Nancy 2003 12-14 mars. Présentation orale
- Le Thiec D., E. Delacôte, O. Bethenod, A. Tuzet, JF Castell, JP Biolley, P. Cellier et P. Dizengremel "Toxic effect of air pollution on plants: characterization of ozone fluxes and analysis of ozone impact on photosynthesis", 6th International Symposium on Plant responses to air pollution and global changes, Tsukuba, Japon
- Personne E., Loubet B., 2003. SURFATM : a model combining the surface energy balance and the bi-directional exchanges of pollutant to quantify the deposition and the emission of ammonia at the field scale. EGS-AGU-EGU joint assembly. Nice, France. 07-11 April 2003

Thèses réalisées partiellement ou totalement sur le projet

- Cortinovis J. - Etude expérimentale et modélisation des émissions biogéniques d'oxydes d'azote et d'isoprène depuis les écosystèmes naturels et aménagés : impacts sur l'ozone., Ecole doctorale "Sciences de l'Univers, de l'environnement et de l'espace", Toulouse, Thèse soutenue le 10 novembre 2004.
- Delacôte E., Etude des mécanismes de toxicité de l'ozone sur des plantes de type C3 (peuplier, blé) et C4 (maïs): relation entre exposition au polluant, pénétration et estimation des dommages sur photosynthèse et croissance, Université Henri Poincaré Nancy 1, thèse en cours, Ecole doctorale RP2E, Nancy.
- Lebard S. – Influence de l'exposition à l'ozone sur le fonctionnement d'une culture de blé. Ecole Doctorale ABIES, INAPG, Paris, Thèse en cours, soutenance prévue début 2005.
- Leitao L., Université de Pau et des Pays de l'Adour, thèse en cours, soutenance prévue début 2005.

Mémoires réalisés sur le projet *BIOPOLLATM*

2002

- Afroun A., 2002. Calibration d'une chambre de fumigation pour l'étude de l'effet des polluants sur la végétation. Mémoire DEA Université Paris 6, juillet 2002, 25 p.
- Calvez, L., 2002. Effets de l'ozone sur les paramètres de la photosynthèse du blé d'hiver. Mémoire de maîtrise de Biologie, UVSQ
- Martelli-Garron P., 2002. Développement d'un modèle d'émission et dépôt de polluants atmosphériques couplé avec un modèle de bilan d'énergie. Mémoire de DEA, UPMC/ENS/INAPG, septembre 2002.
- Personne E., Lecomte S. 2002. Guide d'utilisation pratique pour Surf atm. Interface pour le modèle d'échange. (rapport interne).
- Oulevey S., 2002-2003. Impact de l'ozone sur la photosynthèse du maïs (*Zea mays* L.) : variation pigmentaire et modification des activités de carboxylation. D.E.A. Environnement et Matériaux, Université de Pau et des Pays de l'Adour.

2003

- Arizaga M., 2003. Impact de l'ozone sur quelques aspects de l'activité photosynthétique du maïs (*Zea mays* L.) 2^{ème} année de l'I.U.T. des Pays de l'Adour (40004 Mont de Marsan), Génie Biologique (option industrie agroalimentaire).
- Bruneau E., 2003. Etude du dépôt d'ozone sur différents composés physiques, chimiques ou biologiques de l'environnement. Mémoire de Maîtrise de Biologie, UVSQ.
- Caré B. - 2003 - Impact de l'ozone sur une culture de maïs. *Mémoire de stage, Maîtrise de Biologie Cellulaire et Physiologie*, Université Paris 12 Créteil, UMR INRA - INAPG Environnement et Grandes Cultures de Grignon, 28 p.
- Delacôte E., 2003. Fonctionnement assimilateur du Maïs en champ et relations avec le climat de pollution, en particulier l'ozone", Maîtrise de Biologie cellulaire et physiologie à l'Université de Nancy 1
- Leclercq E., 2003. Influence de l'ozone sur le fonctionnement d'une culture de blé. Mémoire de DUT Chimie.
- Sow A., 2003. Effets de l'ozone sur la croissance des plantes en plein champ et sur le rendement final. IUP Génie de l'Environnement, Paris 7, 16 p.
- Tayaschi, H., 2003. Réponse de la photosynthèse du blé à l'ozone. Mémoire de DEA, UPMC/ENS/INAPG
- Vayssier P., 2003. Dépôt nocturne d'ozone sur champ de maïs et forêt de pins en conditions sèches et humides. Mémoire MST "Mesure et traitement des pollutions et nuisances" Université de Pau et des Pays de l'Adour

2004

- Bruneteau C., 2004. Impact de l'ozone sur la croissance et le rendement du blé en conditions agricoles. IUT Génie Biologique option Agronomie, Angers, 31 p.
- Chibout S. - 2004 - Un modèle couplé de conductance stomatique, photosynthèse et transpiration appliqué aux plantes de type photosynthétique C4. Mémoire de DEA, INAPG, UMR INRA INAPG Environnement et Grandes Cultures de Grignon, 42 p. + annexes
- Delacote E., 2004. Effet de concentrations réalistes d'ozone sur l'assimilation du carbone chez des plantes C3 (peuplier) et C4 (maïs). Mémoire de DEA, Univ. H. Poincaré, Nancy 1.
- Lassy C., 2004. Mise au point d'un système d'acquisition et de traitement des données d'un anémomètre sonique sous LABVIEW. Mémoire de DESS Mesures physiques -Analyse et contrôle, Université Lyon 1, 46 p.
- Lemaire G., 2004. Analyse et modélisation des effets de l'ozone sur la croissance et le rendement du blé en conditions de plein champ. IUP Productions végétales, Angers, 51 p.
- Martegoute M., 2004. Dépôt de l'ozone en forêt landaise : caractérisation des processus stomatiques et non stomatiques. Mémoire de DEA "Océan, Atmosphère et Environnement" Université Paul Sabatier et Ecole Nationale de la Météorologie de Toulouse, filière "Environnement et Climat".

- Meyer B. - 2004 - Développement d'un modèle de niveau II d'estimation de l'impact de l'ozone troposphérique sur *Triticum aestivum* L. Mémoire de stage, Maîtrise de Biologie, Université de Versailles Saint Quentin, UMR INRA INAPG Environnement et Grandes cultures de Grignon, 25 p.
- Puppo, A., 2004. Mesure de la conductance stomatique d'un couvert de blé pour l'estimation de l'absorption de l'ozone par la végétation. Mémoire de maîtrise de biologie cellulaire et physiologie, Université Paris XII Créteil. 20 p.
- Saber O., 2004. Estimation du terme source et puits de l'ozone dans un couvert de maïs à partir de l'équation de conservation de la masse. Rapport de DEA Equations aux Dérivées Partielles et calcul scientifique, Univ. Paris 11, 23 p.

7 Annexe 1 : Descriptions des expérimentations

7.1 *Expérimentation en plein champ – Grignon 2002 :*

L'objectif était de mettre en commun les compétences des différentes équipes pour analyser la réponse photosynthétique du maïs aux niveaux d'ozone ambiants couramment rencontrés en zone rurale en France.

Dispositif expérimental :

Sur la parcelle de maïs (variété Chambord) instrumentée pour les mesures micrométéorologiques d'échanges de polluants, nous avons installé au début du mois de juin deux chambres à ciel ouvert. Ces chambres ont une surface au sol de 7 m² pour un volume total de 18,8 m³ (hauteur : 2,8 m). Compte tenu de la densité du semis effectué sur la parcelle, chaque chambre contenait 68 plantes, réparties sur 4 rangs. Dans la première chambre, l'atmosphère extérieure entrainait librement (traitement Air Non Filtré) tandis que dans l'autre l'air extérieur était filtré (traitement Air Filtré), donc débarrassé de la présence de polluant (en particulier l'ozone).

Nous disposions donc ainsi de plantes exposées à trois niveaux d'ozone différents : air libre (parcelle) air non filtré (ANF) et air filtré (AF).

Les mesures réalisées sur plantes exposées à ces trois niveaux d'ozone étaient les suivantes :

- Echanges gazeux foliaires (assimilation nette de CO₂ et conductance stomatique à la vapeur d'eau) ont été réalisées au cours de l'été sur deux étages foliaires (feuille 8 et feuille 10), soit avec un appareil LiCor 6200 (Equipe de Nancy), soit avec un appareil ADC LCA-3 (Equipe de Grignon).
- Des mesures des caractéristiques photosynthétiques des feuilles ont également été effectuées au moyen d'un appareil LiCor 6400 (Equipe de Grignon)
- Afin de mettre en évidence un éventuel effet des chambres à ciel ouvert sur le fonctionnement hydrique des plantes, des mesures régulières du potentiel hydrique foliaire (chambre à pression) et de transpiration des plantes (mesures de débits de sève) ont été réalisées à l'air libre en dans les deux chambres à ciel ouvert. (Equipe de Grignon)
- Un suivi agronomique de la parcelle (hauteur du couvert, indice foliaire, rendement final).
- Des prélèvements ont aussi été effectués pour les études biochimiques (activités enzymatiques de la PEPc et de la RubisCO) et anatomiques (densité stomatique) en juillet et septembre. Parallèlement des prélèvements ont été faits dans les chambres à ciel ouvert.

7.2 *Expérimentation en chambre à ciel ouvert - Pau 2002 :*

L'objectif principal était d'utiliser le dispositif des chambres à ciel ouvert de Montardon pour exposer des plants de maïs à une large gamme de niveaux d'ozone à différents moments de leur développement. Des mesures d'échanges gazeux ont été réalisées pendant l'expérimentation, et un important travail d'analyses biochimiques a été mené sur les échantillons de plantes prélevés au cours de l'expérience.

7.2.1 Dispositif expérimental :

L'exposition des plants de maïs à l'ozone a été effectuée à l'aide un dispositif expérimental de fumigation constitué de "chambres à ciel ouvert" sises à Montardon (64121). Cinq atmosphères, reconstituées en chambres à ciel ouvert, ont été éprouvées : une atmosphère témoin dite « Air Non Filtré » (ANF) constituée d'air prélevé sur le site et 4 atmosphères artificiellement polluées par des ajouts (aux concentrations déjà présentes dans l'air du site) de 20 (ANF+20), 40 (ANF+40), 60 (ANF+60) et 80 (ANF+80) ppb d'ozone. La production et l'injection de l'ozone sont entièrement automatisées. L'enrichissement en polluant se fait à raison de 7 h.jour⁻¹, entre 10h00 et 17h00 G.M.T., de façon à mimer au mieux le cycle journalier de formation/destruction de l'ozone troposphérique. Les concentrations en ozone mesurées (par absorption UV) dans chaque chambre, deux fois par heure, sont finalement rendues sous la forme de moyennes horaires.

Deux expériences de fumigation d'ozone sur maïs (*Zea mays* L., cv. Chambord), ont été conduites à Pau durant l'été 2002. L'une a concerné des jeunes plants, l'autre des plants plus âgés.

Expérimentation 1 : fumigation de jeunes plants

Les caryopses de maïs ont été semés dans des pots de 2 L le 13/05/02. Immédiatement après le semis les pots ont été soumis aux différentes atmosphères éprouvées. Le 20/06/02, soit 33 jours après la levée, les plants alors caractérisés par la présence de 7 feuilles ligulées (une feuille est ligulée lorsqu'elle a achevé sa croissance) ont été sacrifiés pour analyse (**Fig. A1.1**).

Expérimentation 2 : fumigation de plants plus âgés

Les caryopses de maïs ont été semés dans des pots de 12 L le 13/05/02. Les plants ont été élevés en air ambiant (hors des chambres à ciel ouvert) jusqu'au 20/06/02 date à laquelle la feuille de rang 7 (numérotation par ordre d'apparition) avait alors achevé sa croissance (stade 7^{ème} feuille ligulée). Le 21/06/02, les pots ont été soumis aux différentes atmosphères éprouvées. La récolte des plants a été effectuée le 18/07/02, après 27 jours d'exposition, alors que les plants étaient au stade « feuille 12 ligulée », la 13^{ème} feuille étant en cours de ligulation (**Fig. A1.2**).

Atmosphères	Expérimentation 1				Expérimentation 2					
	ANF	20	40	60	80	ANF	20	40	60	80
Concentration en ozone (en ppb)	36	60	76	91	114	48	74	86	100	124
AOT 40 reçue (en ppb.h)	Par la feuille 5				Par la feuille 10					
	459	4013	7090	10021	14535	1281	4920	7170	9264	12782

Tableau A1.1 : *Expérimentation Pau 2002 : Concentrations moyennes saisonnières (entre 10 h et 17 h GMT) en ozone enregistrées dans chacune des chambres à ciel ouvert, durant la période d'exposition des plants de maïs (Expérimentation 1 : 13/05/02 au 20/06/04 ; Expérimentation 2 : du 21/07/02 au 17/07/02). Les AOT 40 sont calculées pour chaque feuille à partir de sa date d'apparition (Expérimentation 1 : 30/05/02 au 20/06/04 ; Expérimentation 2 : du 21/07/02 au 17/07/02). ANF, 20, 40, 60, 80 correspondent respectivement aux atmosphères Air Non Filtré, Air Non filtré enrichi de 20, 40, 60 et 80 ppb d'ozone.*

7.2.2 Suivi des symptômes et mesures de surface et biomasse foliaire

Au cours des expérimentations 1 et 2, des suivis de symptômes d'ozone sur feuille ainsi que différentes mesures de surface et de biomasse foliaires ont été effectués.

Pour chacune des expérimentations (1 et 2), les concentrations moyennes en ozone ainsi que les valeurs d'AOT40 (Accumulated exposure Over a Threshold of 40 ppb O₃) auxquelles ont été soumis les plants sont données dans le **tableau A1.1**.

7.2.3 Analyse pigmentaire et mesures biochimiques

7.2.3.1 **Extraction et quantification des protéines solubles foliaires**

Les protéines solubles d'un broyat de feuille ont été extraites en milieu tamponné (Tris-HCl) à 4 °C. Après élimination des débris cellulaires les plus grossiers par centrifugation, la moitié du surnageant récupéré a été en partie purifiée sur colonne PD 10 (gel filtration) alors que les protéines présentes dans la seconde moitié du surnageant ont d'abord été précipitées 5 minutes à 4°C par du sulfate d'ammonium à 40% de saturation avant d'être centrifugées. Le culot contenant les protéines précipitées a ensuite été remis en suspension dans du tampon d'extraction. Les concentrations en protéines totales présentes dans les extraits, purifiés sur PD 10 ou précipités au sulfate d'ammonium, ont été déterminées par spectrophotométrie selon la méthode de Bradford (1976), à l'aide du réactif Bio-Rad.

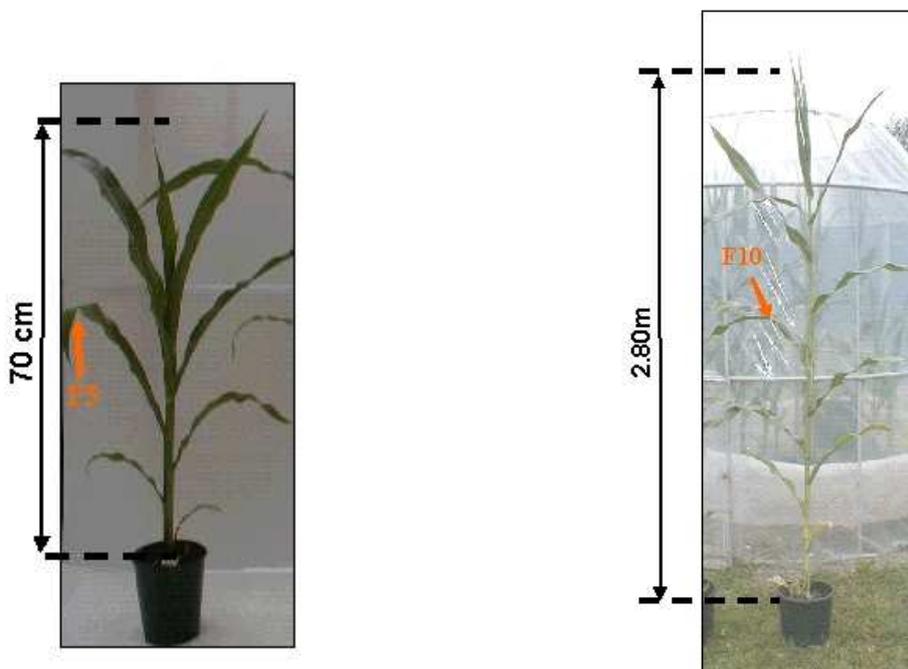


Figure A1.1 : Expérimentation 1, plant de maïs au moment de la récolte. F5 : feuille de rang 5. La numérotation se fait par ordre d'apparition, du bas vers le haut. La feuille 1 trop sénescence s'est détachée et n'est donc plus visible.

Figure A1.2 : Expérimentation 2, plant de maïs au moment de la récolte. F10 : feuille de rang 10.

7.2.3.2 **Détermination des teneurs relatives en Rubisco et en PEPC**

Les quantifications relatives de la PEPC et des deux sous-unités (petite : SSU et grosse : LSU) constitutives de la Rubisco ont été réalisées sur la fraction protéique précipitée. Les protéines sont alors séparées par électrophorèse en milieu dénaturant (SDS-PAGE) sur mini gels d'acrylamide à 12% ; chaque gel étant calibré à l'aide de marqueurs standards de masse moléculaire (14.4-97.4 kDa, Bio-Rad). Après migration, les protéines sont colorées au bleu de Coomassie. Après décoloration relative, le gel est séché sous vide puis scanné à l'aide du

logiciel Adobe Photoshop 3.0. L'analyse d'image est ensuite réalisée par densitométrie à l'aide du logiciel d'analyse Sigmagel 1.0. La PEPc, la petite (Rubisco-SSU) et la grosse (Rubisco-LSU) sous-unité de la Rubisco sont des protéines majoritaires très facilement repérables. Leur identification a été confirmée par la détermination de leur masse moléculaire. Le rapport entre la valeur d'intégration du pic associé à chacune des trois protéines et la valeur d'intégration du pic correspondant aux protéines totales (précipitées au sulfate d'ammonium) permet de déterminer, dans l'extrait, les pourcentages en PEPc, SSU et LSU. La teneur relative en Rubisco est ensuite obtenue en sommant les pourcentages relatifs aux deux sous-unités (SSU et LSU).

7.2.3.3 Mesure des activités de carboxylation de la Rubisco et de la PEPc

Les activités de carboxylation de la Rubisco et de la PEPc ont été mesurées dans les extraits purifiés sur PD 10. Le dosage de chacune de ces deux activités repose sur un système de réactions enzymatiques couplées qui consomme du NADH. L'oxydation du NADH en NAD⁺, qui traduit l'activité enzymatique considérée, est alors mesurée par spectrophotométrie. Les milieux réactionnels, les "blancs" et les essais ont été adaptés d'après Fontaine *et al.* (1999). Pour chacune des deux activités enzymatiques considérées, la démarche menant à l'expression numérique de cette activité demeure la même. Pour chacune des deux répétitions (effectuées par extrait et pour chaque activité), la variation d'absorbance mesurée lors de l'essai sans substrat (témoin) est déduite de celle mesurée en présence de substrat. Si leur différence est inférieure à 10%, les variations d'absorbance corrigées des deux répétitions sont alors moyennées. *In fine*, l'activité spécifique de chacune des deux enzymes est exprimée pour chaque extrait en nanokatals (nanomoles de substrat transformé par seconde) par mg de protéines totales (nkat / mg protéines totales).

7.2.3.4 Quantification de l'altération oxydative de la Rubisco

L'altération oxydative de la Rubisco a été évaluée par le biais de la quantification des groupements carbonyle présents sur sa petite sous-unité (SSU).

Ce choix a donc nécessité l'obtention d'anticorps anti-SSU de maïs. Pour ce faire, la SSU de maïs a été purifiée. Les protéines solubles ont été extraites d'un lot de feuilles de rang 10 prélevées sur des plants en pots cultivés en air ambiant. Elles ont été précipitées au sulfate d'ammonium (40% de saturation) puis purifiées sur colonne d'exclusion moléculaire (PD 10). La purification et la séparation de la SSU ont été réalisées par FPLC (Fast Protein Liquid Chromatography) : l'élution des protéines a été suivie à 280 nm et les fractions d'intérêt ont été sélectionnées par électrophorèse. Une première chromatographie sur colonne échangeuse d'anions (DEAE, Pharmacia), éluée à l'aide d'un gradient de KCl dans du tampon Tris, a permis d'obtenir des fractions protéiques enrichies en Rubisco. Ces fractions ont ensuite été désalées et semi-purifiées sur colonne de Gel Filtration (Superdex 200 HR 10/30). Les protéines présentes dans les fractions d'intérêt ont alors été dénaturées à la guanidine, puis chromatographiées en phase inverse (colonne : Ressource, Pharmacia) afin de permettre la séparation des deux sous-unités constitutives de la Rubisco. Les fractions contenant la SSU pure ont été rassemblées puis lyophilisées. La production d'anticorps a été réalisée en collaboration avec M. Thierry Delaunay du Laboratoire de Virologie Végétale (Unité Mixte de Recherche, Génomique, Développement et Pouvoir Pathogène, IFR103) du centre INRA de Bordeaux. Concrètement, une fraction de la SSU purifiée, a été injectée à une souris. Après un temps d'incubation approprié, un sérum polyclonal a pu être récupéré. Ce sérum riche en anticorps anti-SSU a servi de base pour développer des anticorps monoclonaux. L'anticorps

monoclonal anti-SSU le plus performant a ensuite été sélectionné parmi une douzaine de clones.

Les groupements carbonyle présents sur la Rubisco-SSU ont été dosés à l'aide d'une technique immunoenzymatique de type E.L.I.S.A. La technique a été adaptée d'après Kanoun *et al.* (2002) et Leitao *et al.* (2003). Après précipitation des protéines solubles par du sulfate d'ammonium et centrifugation, le culot protéique est redissout dans le tampon d'extraction et les fonctions carbonyle sont dérivées, en milieu dénaturant, par la 2,4-dinitrophénylhydrazine. Après fixation d'anticorps anti-SSU sur microplaque et saturation des sites de fixation aspécifiques, une incubation à 37°C en présence des extraits protéiques dérivés a été réalisée. Après plusieurs lavages successifs, les groupements dinitrophénylhydrazone (DNP) présents sur la SSU sont dosés à l'aide d'anticorps monoclonaux anti-DNP de souris, marqués à la phosphatase alcaline. Après ajout de substrat (para-nitrophénylphosphate) incolore, le nitrophénol jaune libéré sera dosé à 405 nm. Finalement, la quantité de groupement carbonyle, qui traduit le niveau d'altération oxydative de la SSU, sera exprimée de façon arbitraire en unité d'absorbance pour 0,25 µg de SSU. La quantité de SSU étant elle-même calculée à partir de la concentration en protéines totales de l'extrait, du pourcentage de SSU établi par densitométrie sur gel d'électrophorèse et du volume d'extrait déposé dans chacun des puits de la microplaque.

7.3 Expérimentation en Chambre de fumigation - Grignon 2002-2004

L'objectif principal était de caractériser la réponse des paramètres photosynthétiques du blé à une exposition de courte durée (quelques jours) à des niveaux d'ozone réalistes (100 ppb), simulant ainsi un épisode de pollution à l'ozone typique des conditions de l'Ile-de-France. L'originalité de cette étude réside également dans le choix d'étudier la réponse de plantes adultes (stade épiaison), en analysant la réponse à l'ozone des feuilles directement impliquées dans les processus de remplissage des grains.

7.3.1 Dispositif expérimental :

Les expérimentations ont été menées sur 4 cultures successives de plants de blé d'hiver (*Triticum aestivum*, variété Soissons). Après vernalisation à 3°C pendant 5 semaines, les plantes ont été cultivées dans des pots en conditions contrôlées (en chambre de culture climatisées : PPFd = 400 µmol.m⁻².s⁻¹, température de l'air = 20°C, humidité relative de l'air variant entre 80% la nuit et 55% le jour). Les plantes ont été exposées à l'ozone au moment où les feuilles atteignaient le stade adulte (apparition de la ligule). Les mesures ont été effectuées sur les feuilles de rang 13 (feuille drapeau), 12 et 11 (en les numérotant par ordre d'apparition). Selon les cultures, les plantes étaient alors âgées de 60 à 80 jours.

7.3.2 Fumigation des plants :

La chambre de fumigation (voir **Fig. 4.9**) a été réalisée au laboratoire. Il s'agit d'une cuve en inox pouvant contenir une dizaine de plantes dans laquelle la température et l'humidité de l'air sont contrôlées (22.5°C et 40%). Le dispositif permet d'injecter dans la chambre de l'ozone produit à partir de dioxygène au moyen d'un générateur (type CMGK 0.05-3, Innovatec, RFA), et de mesurer alternativement les concentrations en ozone de l'air entrant et sortant de la chambre au moyen d'un analyseur UV (type O3 41 M, Environnement SA, Poissy, France). La chambre est éclairée par quatre lampes HQI de 400 W, permettant un

PPFD de $500 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ au niveau des feuilles les plus hautes. Les plantes ont été placées 30 minutes dans la chambre avant chaque fumigation. Après ce temps d'adaptation aux conditions de la chambre, la conductance stomatique des feuilles a été mesurée au moyen d'un système PLC-LCA3 (ADC Ltd., Hodesdon, GB). Ensuite, la fumigation était déclenchée de façon à maintenir une teneur en ozone constante (100 ppb) dans la chambre. Les mesures de conductance stomatique ont été répétées toutes les 2 heures, pendant de brèves interruptions de la fumigation. Pour reproduire des situations réalistes, les plantes ont été exposées pendant 3, 5, ou 8 jours à l'ozone, à raison de 6h d'exposition par jour. Des expériences témoins ont consisté à placer les plantes dans le même dispositif, sans injection d'ozone.

La conductance stomatique pour l'ozone a été calculée à partir de la mesure de la conductance stomatique pour la vapeur d'eau en tenant compte du rapport des diffusivités dans l'air de ces deux gaz :

$$g_{\text{O}_3} = g_{\text{H}_2\text{O}} / 1.67 \quad (\text{Laisk } et \text{ al.}, 1989) \quad (1)$$

En supposant que la concentration en ozone à l'intérieur des feuilles est très proche de zéro (Laisk *et al.*, 1989), on peut alors calculer la quantité d'ozone absorbée par les feuilles pendant la fumigation :

$$F'_{\text{O}_3 \text{ tot}} = \int_0^t ([\text{O}_3] \cdot g_{\text{O}_3}) \cdot dt \quad (2)$$

Les niveaux d'exposition ainsi obtenus sont présentés sur le **tableau A1.2** et la **figure A1.3**.

7.3.3 Suivi de la sénescence foliaire

Des photographies numériques des feuilles ont été prises régulièrement pendant les 30 jours suivant la ligulation des feuilles. Ces photos ont été analysées au moyen d'un logiciel de traitement d'image (Winrhizo, Regent Instruments, Canada), afin d'estimer les proportions de surface foliaire verte (adulte saine), jaunissante (sénescence) et jaune (surface en fin de sénescence ou morte). La teneur en chlorophylles des feuilles a également été mesurée indirectement au moyen d'un Chlorophyll-meter SPAD -502 (Minolta, Japan).

Indicateur d'exposition	Durée des cycles de fumigation (6h par jour à 100 ppb)			
	0 jour	3 jours	5 jours	8 jours
AOT40	0 ppb. h	1080 ppb.h	1800 ppb.h	2880 ppb.h
F' O ₃ tot	0 mmol.m ⁻²	0.76 à 1.27 mmol.m ⁻²	1.36 à 2.85 mmol.m ⁻²	1.99 à 3.96 mmol.m ⁻²

Tableau A1.2 : Expérimentations Grignon 2002-2004 en chambre de fumigation. Valeurs d'AOT40 auxquelles les feuilles ont été exposées au cours des différentes expériences de fumigation et flux d'ozone absorbés correspondants.

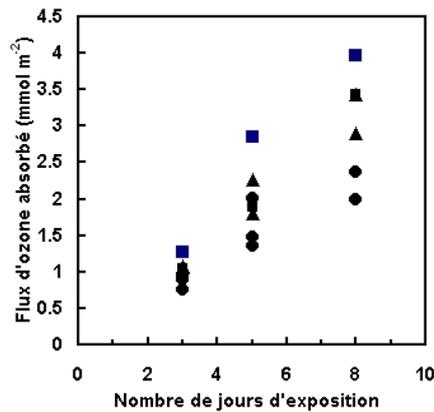


Figure A1.3 : Expérimentations Grignon 2002-2004 en chambre de fumigation. Flux d'ozone absorbé les feuilles 11 (●), 12 (▲) et de la feuille étendard (n°13, ■) en fonction du nombre de jours d'exposition à l'ozone en chambre de fumigation. Les différences entre les valeurs correspondant à une même durée d'exposition résultent de valeurs de conductance stomatique différentes.

7.3.4 Mesure des paramètres photosynthétiques

Les paramètres de la photosynthèse ($V_{C_{max}}$, J_{max} et V_{tpu}) ont été estimés sur les feuilles 11, 12 et 13 à partir de courbes « A/Ci » (relation entre la photosynthèse nette (A) et la concentration interne en CO₂, Ci) et « A/PPFD » (relation entre la photosynthèse nette (A) et la lumière, exprimée par le PPFD) réalisées au moyen de deux appareils de mesure des échanges gazeux Li-6400 (LiCor Environmental, Lincoln, Nebraska, USA) (Fig. A1.4, Fig. A1.6).

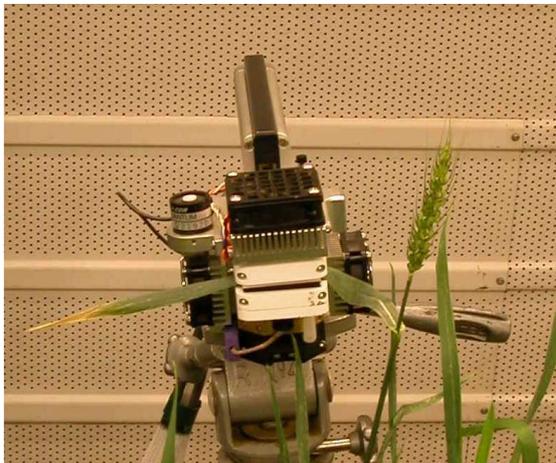


Figure A1.4 : Expérimentation Grignon 2002-2003. Dispositif de mesure des caractéristiques photosynthétiques foliaires (Li-6400) sur la feuille drapeau du blé en chambre de culture.

7.4 Expérimentations en Chambre de fumigation – Nancy 2003-2004

L'objectif principal était de réaliser une étude comparative de l'impact de l'ozone sur les caractéristiques photosynthétiques de plantes de types C3 et C4. Pour cela, du peuplier (C3) et du maïs (C4) ont été mis en culture, dans des chambres phytotroniques, et soumis à différentes concentrations réalistes d'ozone.

7.4.1 Dispositif expérimental

Les conditions de culture des plantes ont été résumées dans le **tableau A1.3**.

	Peuplier		Maïs	
DUREE DE LA FUMIGATION	35 jours		30 jours	
Concentration en Ozone	0 et 100 ppb		0 , 40 et 80 ppb	
Temps de fumigation	14 heures		12 heures	
	Jour	Nuit	Jour	Nuit
Temps d'éclairement	14 heures	10 heures	12 heures	12 heures
Humidité relative	75%	85%	70%	80%
Températures	22°C	18°C	25°C	20°C
Feuilles prélevées	Feuille 4 (jeune) Feuille 10 (mature)		Feuille 8 (jeune) Feuille 5 (ancienne)	
Début de la fumigation	Feuille 10 développée		Feuille 5 complètement développée	

Tableau A1.3 : Expérimentations Nancy 2003-2004 en chambres phytotroniques. Résumé des conditions de culture des plantes étudiées.

Les plantes ont été cultivées dans des chambres phytotroniques, dans lesquelles on injecte de l'ozone produit par un générateur d'ozone. Le principe est de créer deux arcs électriques ayant une différence de potentiel de 6000 volts entre lesquels un flux de dioxygène passe. Les molécules d'O₂ vont se dissocier et on aura création de radicaux libres qui s'associeront en trimères pour former de l'ozone. L'ozone est ensuite injecté dans les chambres, puis un analyseur d'ozone prélève l'air à la sortie des chambres et dans le sas, afin de contrôler la teneur de ce polluant. Toutes les demi-heures des mesures sont faites, on obtient deux valeurs par heure dont on fait la moyenne. On a ainsi la concentration moyenne d'ozone pour toutes les heures. Les chambres phytotroniques ont un fonctionnement à air non confiné, l'air enrichi en ozone est filtré sur charbon actif avant d'être rejeté à l'extérieur (**Fig. A1.5**). Des analyseurs mesurent également l'humidité relative et la température.

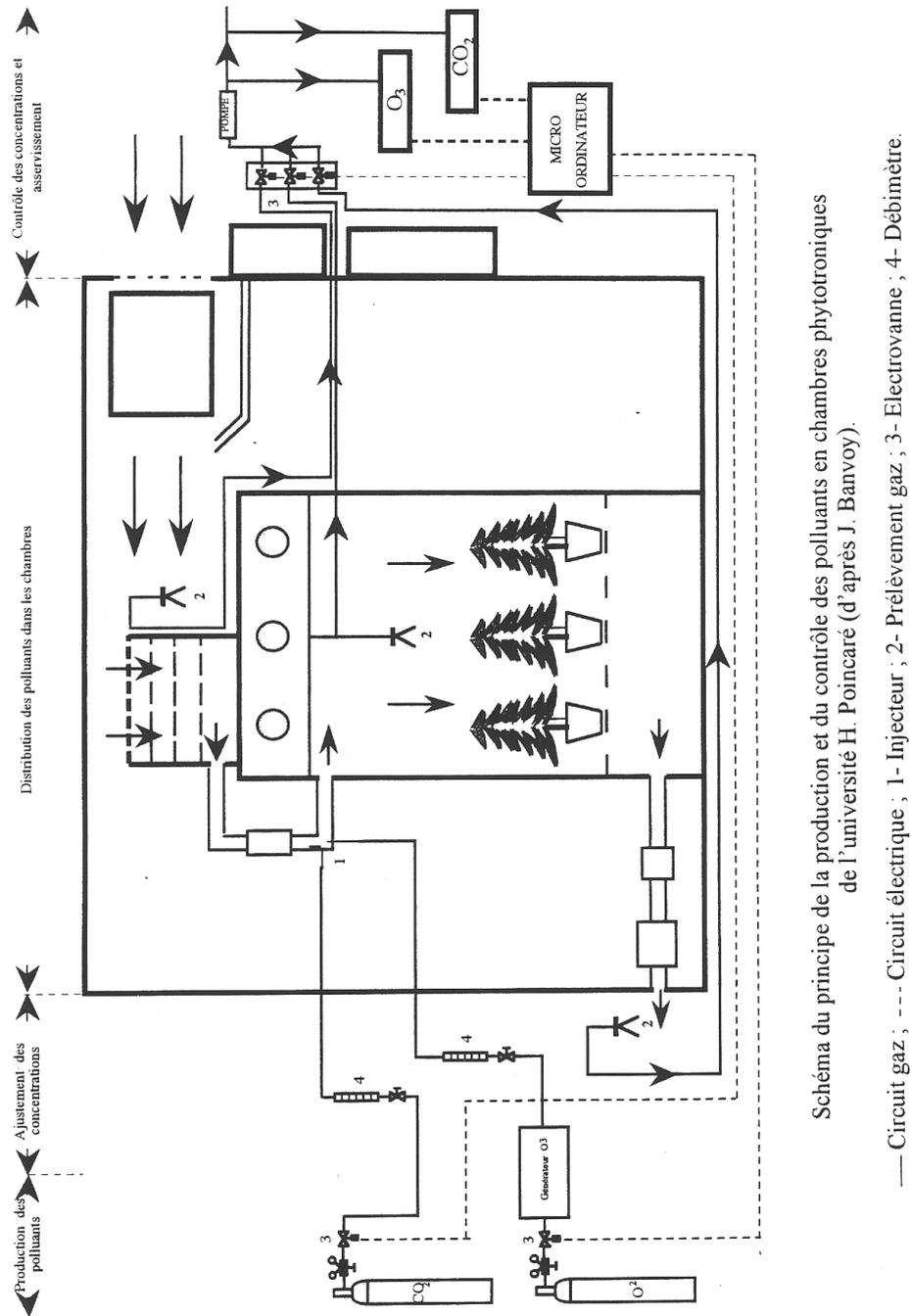


Figure A1.5. Dispositif des chambres phytotroniques utilisées à Nancy

Pour le peuplier deux feuilles ont été étudiées : la feuille 4, qui venait juste de se développer et la feuille 10, plus ancienne, mature. Seuls deux prélèvements ont été réalisés : le premier au bout de deux jours et le second au bout d'un mois de fumigation. Pour le maïs, la feuille 5, feuille ayant terminé sa croissance au début de la fumigation et la feuille 8, qui s'est développée pendant l'expérience, ont été prélevées. On effectue un prélèvement juste avant la fumigation puis un tous les dix jours. Les prélèvements ont été réalisés au milieu de la journée. Les feuilles sont prélevées et emballées le plus rapidement possible dans des pochettes en aluminium, puis sont immédiatement congelées dans de l'azote liquide, ce processus ayant pour but de figer toutes les réactions qui se déroulent dans la feuille. Les échantillons sont ensuite stockés à -80 °C. Pour le peuplier toute la feuille est prélevée. Pour le maïs on ne prélève que le milieu de la feuille car l'activité enzymatique n'est pas la même sur toute la longueur des feuilles et elle est maximale au milieu (résultats non présentés).

7.4.2 Mesures d'échanges gazeux

Mesure de l'assimilation du CO₂ et de la conductance stomatique

Les mesures de photosynthèse et de conductance stomatique ont été réalisées grâce à un appareil portable en circuit fermé, le Licor 6200 (LI-COR, NE, USA). Sur le maïs, les mesures ont été réalisées au milieu des feuilles, là où la photosynthèse est la plus élevée.

Estimation de V_{cmax} et J_{max}

Ces deux paramètres ont été ajustés à partir de courbes « A/Ci » et « A/PPFD » : V_{cmax} et J_{max} sont ajustés sur deux fractions de courbe de V_{cmax} et J_{max} pour des valeurs de CO₂ saturante et un éclaircissement élevé à l'aide d'une procédure SAS (Dreyer *et al.*, 2001) (**Fig. A1.6**).

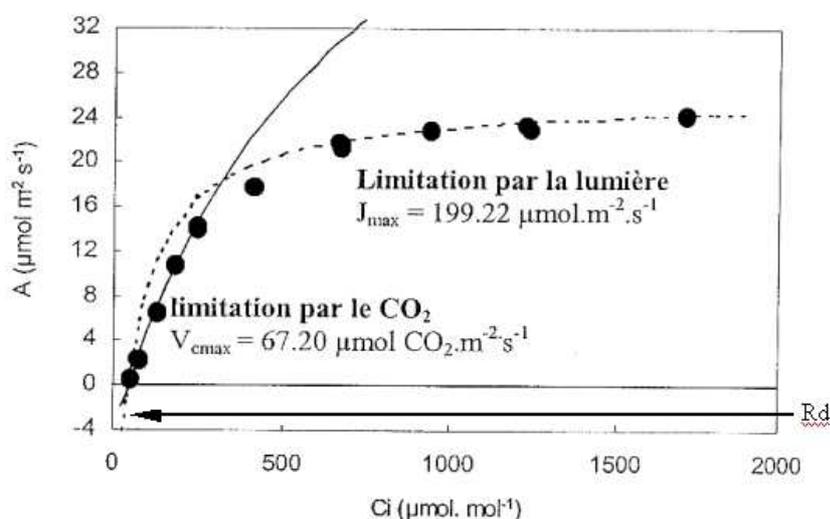


Figure A1.6 : Ajustement de J_{max} (courbe en pointillés) et V_{cmax} (courbe en trait plein) à partir de la courbe A/Ci par une procédure SAS. La respiration Rd est considérée constante quelle que soit la valeur de Ci. On l'estime à partir d'une série de courbes A-Ci réalisées à différents niveaux d'éclaircissement. Dans cet exemple, éclaircissement (PPFD) = 1000 µmol.m⁻².s⁻¹, température foliaire : 24°C

7.4.3 Estimation du flux d'ozone

De la même façon qu'à Grignon, le flux d'ozone absorbé par la feuille (F_{O₃}) est estimé par la relation suivante (Laisk *et al.*, 1989, Rennenberg *et al.*, 1997) :

$$F_{O_3} = g_{O_3} \times ([O_3]_{atm} - [O_3]_{int})$$

g_{O₃} = conductance pour l'ozone qui correspond à 0.612 fois la conductance stomatique (gw)

[O₃]_{atm} = concentration en ozone dans l'atmosphère (généralement au pas de temps horaire)

$O_3]_{int}$ = concentration en ozone à l'intérieur de la plante : comme l'ozone est un composé qui réagit extrêmement rapidement et disparaît au contact des cellules, on considère que $[O_3]_{int}$ est nulle.

Le calcul peut donc s'écrire : $F_{O_3} = [O_3]_{atm} \times 0.612 \times gw$

7.4.4 Mesures biochimiques

Extraction et dosage des protéines solubles

Pour chaque échantillon congelé, on prélève environ 300 mg de feuille que l'on broie dans de l'azote liquide. Une fois l'échantillon réduit en poudre, on rajoute 2,5 mL du tampon d'extraction, afin d'éviter la dégradation des protéines. Lorsque l'extrait est décongelé, on le transvase dans un tube à centrifugation, on rince deux fois le mortier avec 0,5 mL de tampon d'extraction pour récupérer tout l'extrait. On le place dans la glace pour inhiber l'activité des protéases et des enzymes. L'extrait est centrifugé à 20000 G, à 4°C, pendant 15 minutes (centrifugeuse Averti 30 Beckman, rotor F1010). Le culot contenant tous les débris cellulaires et les protéines insolubles est éliminé. On garde le surnageant qui est l'extrait brut. L'extrait brut contient les protéines solubles et des composés de faible poids moléculaire, dont certains peuvent inhiber l'activité de certaines enzymes. Pour éviter cela on va dessaler l'extrait brut en le filtrant sur une colonne Sephadex G25 (PD10 Pharmacia).

Le tampon d'élution est plus simple que le tampon d'extraction, il est dépourvu d'agents absorbants et de $MgCl_2$. Lorsque la colonne est équilibrée par trois passages de 5 mL de tampon d'élution, 2,5 mL de l'extrait brut sont déposés sur celle-ci. Une fois que celui-ci est absorbé, 3,5 mL du tampon d'élution sont ajoutés et on récupère l'extrait brut dessalé dans un pilulier.

Le dosage est effectué selon la méthode de Bradford (1976). Lorsque du réactif BIO-RAD se lie aux protéines, l'absorbance du bleu de Coomassie passe de 465 nm à 595 nm.

Détermination des activités enzymatiques

Les activités enzymatiques sont déterminées par la transformation du NADH en NAD^+ , le NADH absorbe spécifiquement à 340 nm, son oxydation va entraîner une baisse de son absorbance.

PEPc

La PEPc est une enzyme cytosolique. Chez les plantes en C4, elle permet la première fixation du CO_2 en catalysant la carboxylation du phospho-énol-pyruvate (PEP) pour former l'AOA. Cette enzyme n'étant pas NAD(H) (Nicotinamide-adénine-dinucléotide) dépendante, on utilise donc une enzyme de couplage, la malate déshydrogénase à NADH (MDH) ; elle utilise l'AOA comme substrat pour donner du malate. On peut ainsi mesurer l'activité de la PEPc en suivant la consommation de NADH, on aura une diminution de l'absorbance à 340 nm. On ajoute dans le milieu réactionnel du glucose-6-phosphate (G6P) qui est un activateur de la PEPc. La réaction est initiée par l'ajout de PEP dans les cuves essai Dans les cuves témoin le PEP est remplacé par de l'eau distillée.

RubisCO

La RubisCO est une enzyme chloroplastique. Chez le maïs elle permet la fixation du CO_2 dans les cellules de la gaine. Elle transforme une molécule de ribulose-1,6-bisphosphate (RuBP) en 2 molécules d'acide 3-phospho-glycérique (APG) par ajout d'une molécule de CO_2 . Comme la RubisCO n'est pas NADH dépendante, elle est couplée à deux autres enzymes commerciales : la 3-phospho-glycérate kinase (3PGK) et la glycéraldéhyde-3-phosphate-déshydrogénase (Gal3PDh). La RubisCO est activée au préalable par Mg^{2+} et

HCO₃⁻ à 30°C pendant 15 minutes dans un bain-marie. Une fois l'activation terminée, on démarre la réaction par l'ajout de RuBP dans les cuves essai. La 3PGK étant une enzyme ATP dépendante, on régénère l'ATP en incorporant dans le milieu de la créatine phosphate (CP) et de la créatine-phospho-kinase (CPK). On constate que pour une mole de RuBP consommée, deux moles de NADH+H⁺ sont oxydées. De ce fait l'activité de la RubisCO est en fait 2 fois plus faible que la vitesse de consommation du NADH+H⁺.

Calcul des activités enzymatiques

Pour chaque enzyme, les activités enzymatiques sont exprimées en nanokatal (nkat). Un nanokatal correspond à la quantité d'enzymes nécessaires pour transformer une nanomole de substrat par seconde.

D'après la loi de Beer-LAMBERT : $D. O. = \epsilon * L * C$

Où ϵ correspond au coefficient d'extinction molaire, (pour le NADH il est de $6,22 * 10^{-6} \text{ nmol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$) ; L à la longueur de la cuve, 1 cm ; et C à la concentration. L'activité enzymatique exprimée en nanokatal pour 1 mL de milieu réactionnel est la suivante :

$$\frac{\Delta DO / \text{min} * 1 * 10^{-3} (\text{L})}{6,22 * 10^{-6} * 60 (\text{sec})} = \Delta DO * 2,679$$

Traitement statistique des données :

Les moyennes des activités enzymatiques PEPc et RubisCO pour le peuplier ont été comparées par un Test t de Student. Celles du maïs par une ANOVA suivie d'un test t protégé. Les lettres au-dessus des graphiques indiquent une différence statistique significative pour un seuil de 0.05 ($p < 0.05$).

8 Annexe 2 : Description du modèle de continuum sol-plante-atmosphère

8.1 Echange de masse et d'énergie

Le modèle d'échange de masse et d'énergie utilisé est un modèle bi-strate comprenant une couche végétation et une couche sol. Le schéma de fonctionnement d'un tel modèle repose sur une résolution de l'équation du bilan d'énergie au niveau de chacune des couches.

Les transferts verticaux de chaleur, de vapeur d'eau et de gaz carbonique se font par diffusion turbulente. Le schéma de résistances utilisé est représenté sur la **figureA2.1** (r_a , R_v et R_s sont les résistances aux transferts turbulents dans la couche limite du couvert et au sein du couvert lui-même, r_v et r sont les résistances de couche limite pour la végétation et le sol, r_s et r_{co2} sont les résistances stomatiques pour la vapeur d'eau et le gaz carbonique, r_m et r_c sont les résistances à la diffusion de vapeur d'eau et de gaz carbonique à la surface du sol).

8.2 Transfert d'eau dans le système sol-plante

La circulation de l'eau dans le continuum sol-plante-atmosphère est régie par les différences de potentiel hydrique existant entre les différents compartiments. En réponse à une demande climatique, la chute de potentiel hydrique liée à l'évaporation de l'eau au niveau des cavités sous stomatiques va se propager le long de la plante, des feuilles aux racines, via le xylème. Le potentiel hydrique des racines, chutant en dessous de celui du sol va entraîner un transfert d'eau du sol vers les racines.

Dans cette approche, le modèle de transfert d'eau dans la plante utilisé est très simplifié. Nous avons réduit la plante à deux potentiels hydriques, l'un correspondant aux cavités sous stomatiques, Ψ_p , l'autre à l'interface sol-racine, Ψ_r . Dans ces conditions, le flux d'eau à travers la plante s'écrit :

$$F_{eau} = \frac{\Psi_r - \Psi_p}{R_p}$$

où R_p est la résistance globale au transfert liquide dans la plante.

Le modèle de transfert d'eau du sol vers les racines est un modèle du type de celui développé par Gardner (1960). Dans cette analyse, le sol est supposé homogène verticalement et l'ensemble du chevelu racinaire est réparti de façon homogène dans le sol. Ainsi, le volume de sol exploré par chaque racine correspond à un cylindre centré sur la racine et de rayon égal à $(\pi L z_r)^{-1/2}$, L étant la densité volumique de racine (m de racine / m³ de sol) et z_r la profondeur d'enracinement. Dans chacun de ces volumes, les processus de diffusion d'eau dans le sol sont gérés par l'équation de Darcy-Richards.

Le couplage des trois modules, échange de masse et d'énergie, transfert d'eau dans le système sol-plante et diffusion d'eau dans le sol se fait par l'intermédiaire d'une équation de conservation de masse aux interfaces sol-racine et plante-atmosphère (avec un changement de phase liquide-vapeur à cette interface).

8.3 Modèle de photosynthèse et de conductance stomatique

Nous utilisons le modèle de photosynthèse, adapté aux plantes de type C4, développé à l'échelle de la feuille par von Caemmerer (2000) (**figure A2.2**). Ce modèle mécaniste qui prend en compte les principaux processus biochimiques liés à l'assimilation de carbone décrit la coordination du fonctionnement des cellules du mésophylle et des cellules de la gaine. Dans ce modèle, l'assimilation nette est limitée soit par les carboxylases (Rubisco et PEP), soit par la lumière et l'apport d'électrons issus des réactions photochimiques et nécessaires à la réduction du CO₂.

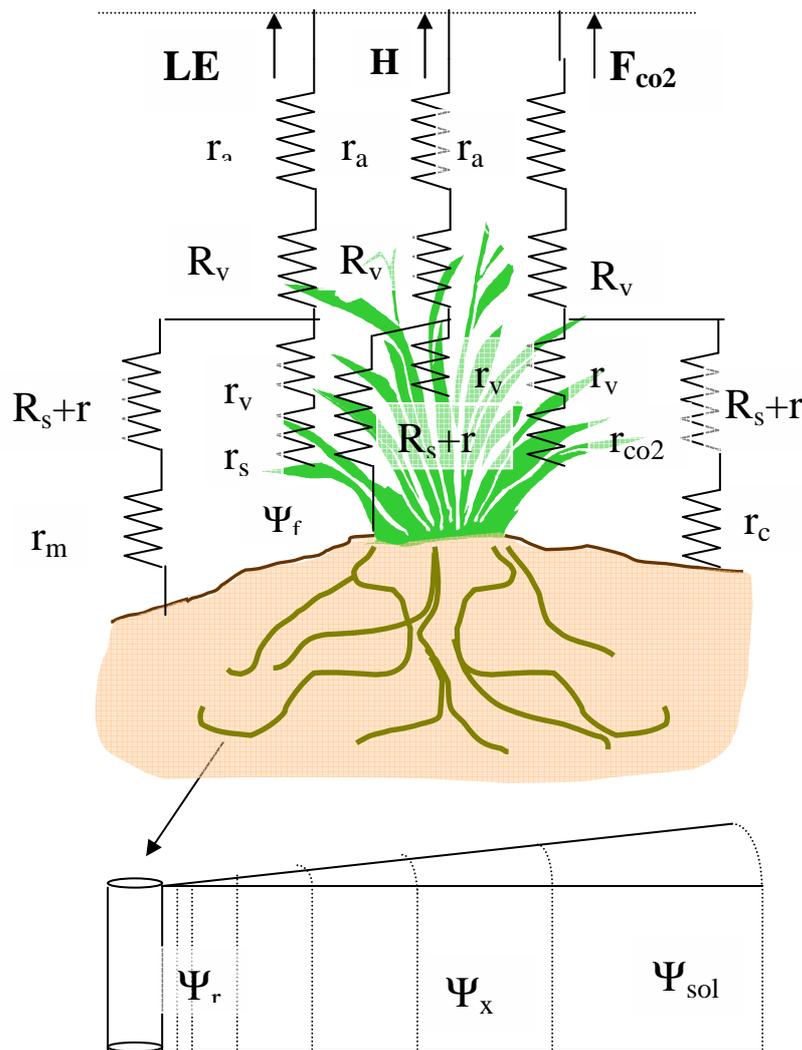


Figure A2.1. Schéma du modèle de continuum sol-plante-atmosphère

L'assimilation nette de CO₂ pour les plantes de type C4, A, est décrite par deux équations. La première traduit la carboxylation de la Rubisco dans les cellules de la gaine :

$$A = V_C - 0.5V_O - (R_m + R_s)$$

où V_C et V_O sont respectivement les vitesses maximum de carboxylation et d'oxygénation de la Rubisco, R_m et R_s sont les respirations des mitochondries dans les cellules du mésophylle et de la gaine.

La deuxième équation décrivant l'assimilation nette de CO_2 correspond à une équation bilan de carbone au niveau des cellules du mésophylle :

$$A = V_p - L - R_m$$

où V_p est la vitesse de carboxylation de la PEP et L est le flux de fuite du CO_2 des cellules de la gaine vers les cellules du mésophylle. Ce flux de fuite s'écrit :

$$L = g_s (C_s - C_m)$$

où g_s est la conductance pour le CO_2 des parois des cellules de la gaine, C_s et C_m sont respectivement les concentrations en CO_2 des cellules de la gaine et du mésophylle.

A fort éclaircissement, la photosynthèse est limitée par l'activité des carboxylases (Rubisco et PEP) et leurs vitesses de carboxylation s'écrivent:

$$V_c = \frac{C_s V_{c\max}}{C_s + K_c \left(1 + \frac{O_s}{K_o}\right)}$$

$$V_p = \frac{C_m V_{p\max}}{C_m + K_p}$$

où $V_{c\max}$ et $V_{p\max}$ sont les vitesses maximum de carboxylation de la rubisco et de la PEP, O_s , la concentration en Oxygène dans les cellules de la gaine, K_c et K_o les constantes d'activité enzymatique de Michaelis-Menten de la rubisco pour respectivement, le CO_2 et l' O_2 , K_p est la constante d'activité enzymatique de Michaelis-Menten de la PEP carboxylase pour le CO_2 .

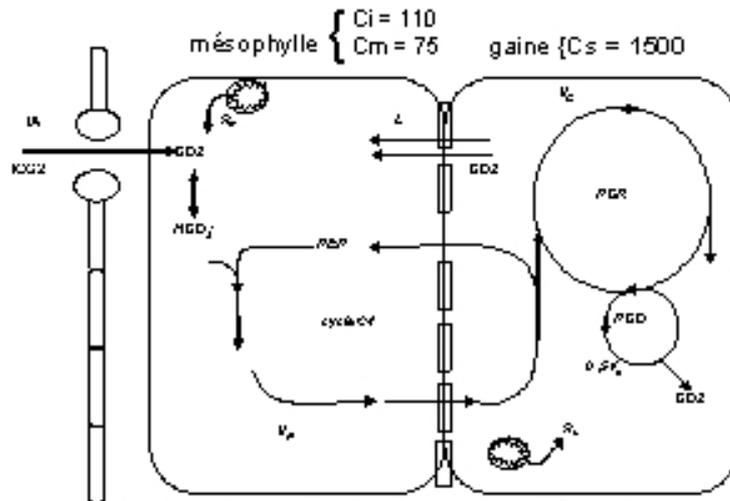


Figure A2.2

Représentation schématique du modèle C4. (Von Caemmerer, 1999)
 PEP : phospho énoypyruvate, V_p Vitesse de fixation du HCO₃ sur la PEP par la PEP case, R_m et R_s respiration des mitochondries des cellules de mésophylle et de la gaine respectivement PCR cycle photosynthétique de carboxylation (Cycle de CALVIN), V_c vitesse de fixation du carbone sur le RuBP par la Rubisco, PCO cycle de photorespiration, V_d vitesse de fixation d'O₂ sur le RuBP par la rubisco, L quantité de CO₂ rediffusée des cellules de la gaine vers les cellules du mésophylle

Quand le flux d'électrons photosynthétiques, J, devient facteur limitant, les vitesses de carboxylation de la rubisco et de la PEP carboxylases ont alors pour expression :

$$V_c = \frac{(1-x)J}{3\left(1 + \frac{7\Gamma_*}{3C_s}\right)}$$

$$V_p = \frac{xJ}{2}$$

où x est le facteur de partition du flux d'électrons photosynthétiques, Γ*, le point de compensation du CO₂.

Dans ces différentes expressions de V_c et de V_p, les paramètres K_c, K_O et K_p ainsi que V_{cmax}, V_{pmax} et J_{max} sont fortement dépendant de la température et les paramétrisations utilisées ici sont identiques à celles décrites en détails par Chen et al. (1994). Toutefois, ces paramétrisations ont pratiquement toutes été mises au point dans le cas de plante de type C3 et jusqu'à présent aucune de ces paramétrisations en fonction de la température n'a été validée pour les plantes de type C4.

Dans le modèle, l'assimilation nette est calculée dans les deux situations (photosynthèse limitée par l'activité des carboxylases, A_c et photosynthèse limitée par flux d'électrons photosynthétiques, A_j) et le minimum des deux valeurs est retenu (fig. A2.3).

$$A = \min(A_c, A_j)$$

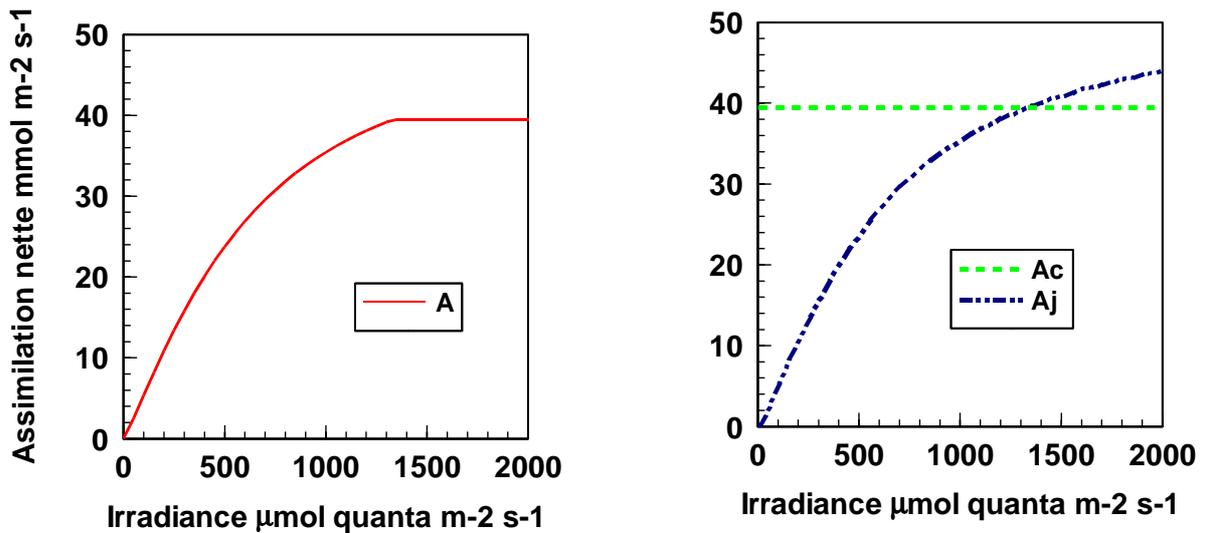


Figure A2.3. Assimilation nette en fonction de l'éclairement (A_c photosynthèse limitée par l'activité des carboxylases, A_j photosynthèse limitée par flux d'électrons photosynthétiques)

Le modèle de conductance stomatique utilisé est fondé sur l'hypothèse d'une proportionnalité entre conductance et photosynthèse ; la dépendance des stomates à l'état hydrique de la plante a été introduite via une fonction tangente hyperbolique du potentiel thermodynamique de la vapeur d'eau dans les cavités sous stomatiques, Ψ_p .

$$g = g_0 + \frac{a_1 A}{(C_i - \Gamma)} \cdot \frac{1 + \exp(\Psi_0)}{1 + \exp(-(\Psi_p - \Psi_0))}$$

où g est la conductance stomatique pour le CO_2 , A est la photosynthèse nette, C_i est la concentration en CO_2 dans les cavités sous stomatiques, g_0 est la valeur limite de conductance au point de compensation pour la lumière (Γ) et a_1 est une constante empirique. Cette fonction traduit la forte dépendance des stomates à l'état hydrique de la plante. Cette forme d'évolution de la conductance stomatique en fonction du potentiel de l'eau dans la plante a été observée expérimentalement par de nombreux auteurs (Gollan, 1985, Schulze, 1987). La valeur de potentiel pour laquelle la conductance tend vers g_0 dépend du type de plante et des conditions environnementales dans lesquelles la plante s'est développée.