



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي



Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoun de Tiaret

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Nutrition et Technologie Agro-Alimentaire

Thèse

Présenté par :

BOURBATACHE Mansour

En vue de l'obtention du diplôme de **Doctorat en Sciences**

Domaine : Science de la Nature et de la vie

Spécialité : Science de la Nature et de la vie

THEME

Développement d'une **Nouvelle Méthode** sur les **Niveaux Critiques de Flux** de l'**Ozone**. Réponse de **Rendement** et **Blessures** sur deux **Variétés de Haricot** (S156) et (R123).

Soutenu le : 14/10/2025

Devant le jury composé de :

Pr REZZOUG Wafa	Présidente	Université Ibn khaldoun Tiaret.
Pr HASSANI Abdelkrim	Directeur de Thèse	Université Ibn khaldoun Tiaret.
Pr BELKHODJA Moulay	Examineur	Université Oran 1 HBB Oran.
Pr REGUIEG Issaad hocine	Examineur	Université de Mostaganem.
Dr AZZAOUY Mohamed Essalah	Examineur	Université Ibn khaldoun Tiaret.
Dr ZAIDI Hachemi	Examineur	Ecole Supérieure d'Agronomie Mostaganem.
Pr MAATOUG M'Hamed	Invité d'Honneur	Université Ibn khaldoun Tiaret.

Année universitaire : 2025–2026

Remerciement

Tout d'abord, je rends grâce à Dieu, le tout puissant, de m'avoir armée de courage et de volonté tout le long de ces années de travail sur ce thème, merci mon Dieu.

Je tiens à remercier mon directeur de thèse, Monsieur **HASSANI Abdelkrim**, professeur à la faculté des sciences de la nature et de la vie ; Karman-Tiaret, d'avoir accepté de m'encadrer.

Merci infiniment pour votre confiance envers moi, votre patience, votre temps précieux que vous m'avez consacré, en conseils, en correction de ce manuscrit et pour les encouragements qui m'ont permis d'achever cette thèse d'aller au bout des objectifs tracés.

Je tiens aussi à exprimer mes vifs remerciements aux membres du jury qui m'ont fait l'honneur d'examiner ma thèse et d'avoir accepté de juger ce travail, et en particulier :

- ✓ **Pr REZZOUG Wafa** de l'Université Ibn khaldoun Tiaret en tant que **Présidente du jury**
- ✓ **Pr BELKHODJA Moulay** d'Université Oran 1 **HBB Oran** en tant qu'**Examineur**.
- ✓ **Pr REGUIEG Issaad Hocine** de l'Université de Mostaganem en tant qu'**Examineur**.
- ✓ **Dr AZZAOUI Mohamed El Saleh** de l'Université de Tiaret en tant qu'**Examineur**.
- ✓ **Dr ZAIDI Hachemi** d'Ecole Supérieur d'Agronomie Mostaganem en tant qu'**Examineur**.
- ✓ **Pr MAATOUG M'Hamed** de l'Université Ibn khaldoun Tiaret en tant qu'**Invité**.

Je remercie vivement et sincèrement mes collègues et amis de travail pour leurs aides et leurs encouragements.

Merci à mes sœurs, à mes frères et à tous ceux et celles qui m'ont aidés de près ou de loin

Merci à Tous

Résumé

Cette recherche a pour objectifs de déterminer et de décrire l'exposition minimale à l'ozone pouvant provoquer des lésions ou dégats visibles sur les végétaux. Aussi, de comparer les indices d'exposition à l'ozone basés sur la concentration cumulée d'ozone afin de développer un seuil d'évaluation des réponses à l'ozone par l'utilisation de plantes et de suggérer un nouveau seuil critique à court terme pour les effets de l'ozone troposphérique, en particulier sur des plants d'Haricot et de Blé. D'autre part, cette étude cible aussi, la description et l'analyse des facteurs influençant la sensibilité à l'ozone des plantes locales testées.

Le matériel végétal utilisé est représenté par deux espèces végétales, à savoir l'espèce (*Phaseolus vulgaris* L) et l'espèce (*Triticum durum et eastivum* L) présentant différents degrés de sensibilité pour étudier les impacts de l'ozone sur la morphologie et le développement des plantes. Aussi par l'indice de lésions foliaires et le pourcentage des feuille nécroses.

Les résultats ont montrés que les haricots présentent une sensibilité au cumules des concentrations d'ozone calculé surtout les manifestations morphologiques en biomasses foliaires.

Les concentrations cumulées en [O₃] dans la ville de Tiaret présentent des concentrations significativement élevées peuvent causer des dommages foliaires, et entraînant des pertes de rendement.

Par ailleurs, les résultats des variété de blé (dur et tendre) testés affichent une sensibilité remarquable, similaire à celle du génotype sensible à l'ozone, subit des dommages foliaires plus importants.

La variete local devient boucoup plus sensible à l'ozone que les génotypes sensibles .

Mots-clés : *Phaseolus vulgaris* L. - *Triticum* - Ozone - Résistance - Sensible - feuille.

Abstract

This research aims to determine and describe the minimum exposure to ozone that can cause visible lesions or damage to plants. Also, to compare ozone exposure indices based on cumulative ozone concentration in order to develop a threshold for evaluating responses to ozone through the use of plants and to suggest a new short-term critical threshold for the effects of tropospheric ozone, particularly on bean and wheat plants. On the other hand, this study also targets the description and analysis of factors influencing the sensitivity to ozone of the local plants tested.

The plant material used is represented by two plant species, namely the species (*Phaseolus vulgaris* L) and the species (*Triticum durum and eastivum* L) with different degrees of sensitivity to study the impacts of ozone on the morphology and development of plants. Also by the leaf lesion index and the percentage of necrotic leaves.

The results showed that beans exhibit sensitivity to cumulative ozone concentrations, especially calculated morphological manifestations in leaf biomass.

The cumulative [O₃] concentrations in the town of Tiaret are significantly elevated, potentially causing foliar damage, leading to yield losses.

Furthermore, the results of the wheat varieties (durum and soft) tested show remarkable sensitivity, similar to that of the ozone-sensitive genotype, which suffers more significant foliar damage.

The local variety becomes much more sensitive to ozone than the sensitive genotypes.

Keywords: *Phaseolus vulgaris* L. - *Triticum* - Ozone - Resistance - Sensitive - leaf.

Tables des Matières

Remerciements

Résumé

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale.....01

Première partie : Synthèse bibliographique

Chapitre N°I : Généralités sur l'Ozone

I-La molécule d'ozone.....03

I-1-Histoire scientifique et technique de l'ozone.....03

I-2-Propriétés physico-chimiques de l'ozone.....05

I-2-1-Cycloaddition (Mécanisme de Criegee).....06

I-2-2-Attaque électrophile.....06

I-2-3-Auto-oxydation.....06

I-2-4-Attaque nucléophile.....06

I-3-L'ozone troposphérique.....07

Chapitre N°II : L'Ozone troposphérique

II-Cycle de l'ozone dans la troposphère.....08

II-1-Conséquences de la pollution à l'ozone pour l'Homme.....10

II-1-1-Altération de la fonction pulmonaire.....10

II-1-2-Dommages tissulaires et réponse inflammatoire.....10

II-1-3-Mécanismes de toxicité de l'ozone.....11

II-1-4-Seuils de risques d'exposition à l'ozone.....12

II-2-Impact de l'ozone troposphérique sur la végétation.....13

II-2-1-Impact sur les espèces cultivées.....13

II-2-1-1-Dommages visibles.....13

II-2-1-2-Croissance et rendement.....13

II-2-1-3-Photosynthèse.....15

II-1-2-4-Allocation des photosynthétats.....	15
II-1-2-5-Reproduction.....	16
II-1-2-6-Autres aspects agronomiques.....	16
II-1-2-7-Impact sur les agro écosystèmes.....	18
II-1-2-8-Indices et seuils critiques d'exposition à l'ozone.....	19

Chapitre N°III : Impact de l'ozone troposphérique sur la végétation

III-Mécanismes d'action de l'ozone à l'échelle cellulaire.....	22
III-1-Diffusion dans les tissus foliaires.....	22
III-2-Mécanismes d'action de l'ozone à l'échelle cellulaire.....	25
III-2-1-Diffusion dans les tissus foliaires.....	25
III-2-1-1-Réponses cellulaires à une exposition chronique.....	26
III-2-1-2-Réactions dans l'apoplasme.....	27
III-2-1-3-Stress oxydatif cellulaire.....	29
III-1-2-4-Déclenchement de la mort cellulaire.....	30
III-1-2-5-Interactions avec d'autres facteurs environnementaux.....	31
III-1-2-6-Augmentation de la concentration en CO ₂ atmosphérique.....	31
III-1-2-7-Sécheresse.....	33
III-1-2-8-Dépôts azotés.....	34
III-1-2-9-Changement climatique global, ozone troposphérique et végétation.....	35
III-1-2-10-Estimation des impacts sur les rendements des cultures et la productivité des écosystèmes.....	36
III-3-Applications en biosurveillance de la qualité de l'air.....	39
III-3-1-Intérêt et limites de la biosurveillance de l'ozone.....	43
III-3-2-Espèces végétales et protocole de biosurveillance.....	43
III-3-3-Niveaux d'exposition à l'ozone.....	44
III-3-3-1-Bio-surveillance des épisodes de pollution forte.....	45
III-3-3-2-Bio-surveillance de la pollution chronique par l'ozone.....	46
III-4-Quelques recommandations en Bio-surveillance.....	47
III-5-Perspectives en biosurveillance.....	48

Deuxième partie: Partie expérimentale**Chpaitre N°IV : Matériels et Méthodes**

IV-Problématique de la recherche.....	49
IV-1-Contexte scientifique local.....	49
IV-2-Contexte scientifique global.....	49
IV-2-1-Modèle biologique.....	49
IV-2-2-Type d'exposition à l'ozone.....	49
IV-3-Problématique scientifique.....	50
IV-3-1-Impact de l'ozone et développement foliaire.....	50
IV-3-2-Objectifs de la recherche.....	50
IV-4-Zone d'étude.....	51
IV-5-Expérience de biosurveillance.....	51
IV-6-Génotypes et variétés utilisés dans l'expérience.....	52
IV-3-1-Conditions de culture.....	52
IV-4-Exposition à l'air ambiant.....	52
IV-7-Mesure de l'ozone.....	55
IV-8-Évaluation des dommages causés par l'ozone.....	55
IV-9-Analyse statistique.....	58

Chapitre N° VI : Résultats & Discussions

VI-1-Résultats des mesures des concentrations en Ozone [O ₃].....	59
VI-2-Analyse des réponses morphologiques et les cumules d'Ozone pour l'haricot variété locale.....	60
VI-2-1-Dégâts foliaire sur l'Haricot variété locale.....	60
VI-2-2-Pourcentage moyenne des feuilles nécrosées de l'haricot local.....	61
VI-3-Analyse des réponses morphologiques et les cumules d'Ozone pour l'haricot sensible (S156).....	62
VI-3-1-Dégâts foliaire sur Haricot sensible (S156).....	62
VI-3-2-Pourcentage moyenne des feuilles nécrosées de l'haricot sensible (S156).....	63
VI-4-Analyse des réponses morphologiques et les cumules d'Ozone pour l'haricot résistant (R123).....	64

VI-4-1-Dégâts foliaire sur l'Haricot résistant (R123).....	64
VI-4-2-Pourcentage moyenne des feuilles nécrosées de l'haricot résistant (R123).....	65
VI-5-Analyse des réponses morphologiques et les cumules d'Ozone pour blé dur et le blé tendre.....	66
VI-5-1-Effet des cumuls d'ozone [O ₃] sur les dommages foliaires pour le blé dur et le blé tendre.....	66
VI-5-2-Effet des cumuls d'ozone [O ₃] sur le pourcentage moyenne des feuilles nécrosées pour le blé dur et le blé tendre.....	67
VI-6-Analyse de sensibilité des réponses morphologique sur les trois variétés d'Haricot.....	68
VI-6-1-Analyse de sensibilité par les dégâts foliaires sur les variétés d'Haricot.....	68
VI-6-1-1-L'Haricot locale.....	68
VI-6-1-2-L'Haricot sensible (S156).....	69
VI-6-1-3-L'haricot résistant (R123).....	70
VI-7-Analyse de la sensibilité des variétés de blé testées dans l'expérience.....	71
VI-8-Analyse de la sensibilité par comparaison de l'ensemble des plantes testées.....	72
V-Interprétation des résultats.....	72
Conclusion général.....	75

Référence bibliographiques

Liste des abréviations

AOT40 : Accumulated ozone exposure over a threshold of 40 ppb (moyennes horaires cumulées de concentration en ozone au-dessus de 40 ppb) ;

CUO : Cumulative uptake of ozone ;

[O₃] : Concentration d'ozone ;

CFC : Chlorofluorocarbone ;

UV : Ultraviolet ;

COV : Composé organique volatile ;

ROS : Espèces oxygénées réactives ;

µg.m³ : Microgramme par metre cube environ environ 90 ppb ;

PEPc : Phosphoenolpyruvate carboxylase ;

d.d.l : Le degré de liberté ;

PCD : Programmed Cell Death

DHA : Déhydroascorbate

PODY : Phytotoxic Ozone Dose over a threshold of Y nmol.m⁻².s⁻¹

EOS : Earth Observing System

S156 : Haricot génotype sensible

R123 : Haricot génotype résistant

Listes des Figures

Figure 01 : Représentation schématique de la molécule d’ozone.....	05
Figure 02 : Potentiels d’oxydation de divers composés oxydants.....	05
Figure 03 : Distribution de l’ozone dans l’atmosphère terrestre.....	06
Figure 04 : Cycle de l’ozone troposphérique.....	07
Figure 05 : Mécanismes de la toxicité de l’ozone au niveau du poumon et cibles cellulaires majeures.....	11
Figure 06: Effets d’une concentration élevée en ozone ($[O_3] > 30$ ppb) sur le soja.....	14
Figure 07: Effets de concentrations ambiantes.....	17
Figure 08: Relation entre le rendement relatif du blé (A.) et de la pomme de terre (B.) et la dose cumulée d’ozone décrite par l’indice AFst6.....	18
Figure 09 : Relation entre la production de biomasse relative et la dose d’ozone cumulée déterminée par différents indices pour le bouleau (<i>Betula pendula</i>).....	21
Figure 10: Représentation schématique de la diffusion de l’ozone vers l’intérieur des feuilles et des premières réponses physiologiques.....	22
Figure 11 : Nécroses foliaires sur une feuille de tabac (<i>Nicotiana tabacum</i> , cultivar Bel W3) induites par mort cellulaire programmée (PCD)	24
Figure 12 : Diffusion de l’ozone depuis l’atmosphère jusqu’au mésophylle.....	26
Figure 13: A. Voies potentielles de signalisation cellulaire associée à la présence d’ozone dans l’apoplasme.....	27
Figure 14: Système antioxydant cellulaire.....	28
Figure 15 : Modèle du processus de mort cellulaire oxydative provoquée par l’ozone.....	31
Figure 16: Effets d’une concentration élevée en ozone, seule ou en combinaison avec d’autres traitements, sur l’assimilation de CO_2	32

Figure 17 : Indice d'exposition à l'ozone pour la végétation (AOT ₄₀).....	45
Figure 18: Localisation de l'expérience dans la ville de Tiaret.....	51
Figure 19 : Plan d'haricot en exposition dans la chambre de culture.....	53
Figure 20 : Mise en place de l'expérience dans la chambre de culture.....	53
Figure 21: Germination de blé (blé tendre (<i>Triticum aestivum</i>) Variété AIN-ABID, et le blé dur (<i>Triticum durum</i>) Variété SEMITO)	54
Figure 22: Implantation du blé (blé tendre et le blé dur) ; dans une Chambre de culture à ciel ouvert.....	55
Figure 23 : Blessures due à l'Ozone sur un trifoliolé de <i>Phaseolus vulgaris</i>	56
Figure 24 : Planche guide pour la détermination de pourcentage de nécrose.....	57
Figure 25 : Variabilité horaire des concentrations en ozone [O ₃] durant la période (2016-2022).....	59
Figure 26 : Cumule des concentrations en Ozone [O ₃] ppb durant les jours d'exposition.....	59
Figure 27 : Cumules des concentrations en Ozone [O ₃] et les dégâts foliaires sur la variété d'haricot local de la période (2016-2019) et (2021-2022).....	60
Figure 28 : Cumule des concentrations en Ozone [O ₃] et le pourcentage des feuilles nécrosées sur la variété d'haricot locale de la période (2016-2019) et (2021-2022).....	61
Figure 29 : Cumules des concentrations en Ozone [O ₃] et les dégâts foliaires sur la variété d'haricot (S156) de la période (2016-2019 et 2021-2022).....	62
Figure 30 : Cumules des concentrations en Ozone [O ₃] et le pourcentage des feuilles nécrosées sur la variété d'haricot sensible (S156) de la période (2016-2019 et 2021-2022).....	63
Figure 31 : Cumule des concentrations en Ozone [O ₃] et les dégâts foliaires sur la variété d'Haricot résistant (R123) de la période d'exposition (2016-2019) et (2021-2022).....	64
Figure 32 : Cumule des concentrations en Ozone [O ₃] et le pourcentage des feuilles nécrosées sur la variété d'haricot résistant (R123) de la période (2016-2019) et (2021-2022).....	65
Figure 33 : Cumule des concentrations en Ozone [O ₃] et les dégâts foliaires du blé dur et blé tendre entre la période (2017-2018) et (2021-2022).....	66

Figure 34 : Relation entre les concentrations d'ozone en fonction du pourcentage cumulé des feuilles nécrosées pour le blé dur et le blé tendre.....	67
Figure 35: Relation entre le cumul des concentrations en $[O_3]$ et le cumule en dommages foliaires pour l'Haricot locale.....	68
Figure 36 : Relation entre le cumul des concentrations en $[O_3]$ et le pourcentage cumulé de feuilles nécrosées de la variété d'haricot locale.....	69
Figure 37: Relation entre le cumul des concentrations en $[O_3]$ et les cumules en dommages foliaires pour l'Haricot sensible (S156).....	69
Figure 38 : Relation entre le cumul des concentrations en $[O_3]$ et le pourcentage cumulé de feuilles nécrotiques de la variété d'haricot Sensible (S156).....	70
Figure 39: Relation entre le cumul des concentrations en $[O_3]$ et le cumule en dommages foliaires pour l'Haricot résistant (R123).....	70
Figure 40 : Relation entre le cumul des concentrations en $[O_3]$ et le pourcentage cumulé de feuilles nécrosées de la variété d'haricot résistant (R123).....	71

Liste des Tableaux

Tableau 01: Sensibilité à l’ozone des principales espèces cultivées et essences forestières.....	36
Tableau 02: Caractéristiques et conditions d’utilisation des trois principaux systèmes bioindicateurs de l’ozone.....	42
Tableau 03: Espèces et variétés étudiées.....	52
Tableau 04 : Description des haricots testés dans l’expérience.....	53
Tableau 05: Fiche descriptive (Blé dur variété Sémito).....	54
Tableau 06 : Fiche descriptive (Blé tendre variété Ain-Abid).....	54
Tableau 07: Analyse descriptive de comparaison entre les dégâts foliaires (2016-2022).....	60
Tableau 08 : Analyse descriptive de comparaison entre le pourcentage moyenne des feuilles nécrosées (2016-2022).....	61
Tableau 09 : Analyse descriptive de comparaison entre les dégâts foliaires (2016-2022).....	62
Tableau 10 : Analyse descriptive de comparaison entre le pourcentage moyenne des feuilles nécrosées (2016-2022).....	63
Tableau 11: Analyse descriptive de comparaison entre les dégâts foliaires entre (2016-2022)..	64
Tableau 12 : Analyse descriptive de comparaison entre les pourcentages moyenne des feuilles nécrosées (2016-2022).....	65
Tableau 13 : Analyse descriptive de comparaison entre les réponses de blé dur et tendre.....	66
Tableau 14 : Analyse descriptive de comparaison entre les réponses de blé dur et tendre.....	67
Tableau 15 : Analyse descriptive des cumules dégâts foliaires sur les variétés d’Haricot testées.....	68
Tableau 16: Analyse de sensibilité on utilisant les dégâts foliaires et le pourcentage de feuilles nécrotiques.....	71
Tableau 17 : Analyse de la sensibilité par comparaison de l’ensemble des plantes testées.....	72

Introduction Générale

INTRODUCTION

L'ozone troposphérique est un polluant secondaire, produit chimiquement à partir de précurseurs (CO, COV, NOX), sous l'effet du rayonnement solaire. Bien que l'ozone soit présent toute l'année, des pics épisodiques de concentrations plus élevées se produisent principalement au printemps et en été. Des concentrations élevées d'ozone sont observées dans la région méditerranéenne car cette région combine un fort ensoleillement, des intrusions stratosphériques et une forte production de molécules précurseurs, notamment par le parc automobile des villes environnantes. (**Comité des sciences de l'environnement, 2015**).

Bien que l'on connaisse bien les concentrations d'ozone et leurs impacts dans la région Nord-méditerranéenne, notamment en Espagne (**Sanz et al., 2007**), en Grèce (**Sivasakthivel et al., 2011**) et en Italie (**Paoletti, 2006 ; Tamara et al., 2021**), on a très peu d'informations sur les concentrations d'ozone et leurs impacts dans la région Sud-méditerranéenne.

Les quelques études menées en Égypte ont montré l'impact de l'ozone sur la croissance et le rendement de variétés locales de radis (*Raphanus sativus* L.) et de navet (*Brassica napus* L.) sur deux sites du nord de l'Égypte, d'Alexandrie cité dans (**Hassan et al., 1994**). Les données modélisées sur les impacts de l'ozone prédisent des concentrations élevées d'ozone et une croissance réduite des cultures dans la région africaine méditerranéenne, y compris en Algérie (**Mills et al., 2018**), mais aucune donnée locale n'a été vérifiée à ce jour.

L'un des premiers symptômes des dommages causés par l'ozone sur la végétation est la présence de lésions visibles sur les feuilles (**Black et al., 2007**). Celles-ci peuvent être un signe précoce de stress végétatif, indiquant une atteinte aux processus physiologiques et biochimiques essentiels à leur développement.

Ces effets peuvent inclure une réduction de la photosynthèse, une diminution de la croissance végétative et reproductive (**Long et Naidu, 2002**) et par conséquent, une baisse des rendements des cultures (**Fiscus et al., 2005; Wittig et al., 2007 ; Feng et Kobayashi, 2009**).

Il existe une très grande variabilité de sensibilité à l'ozone d'une espèce à l'autre, et même entre les variétés d'une même espèce (**Mills et al., 2007 ; Ulrich et al., 2006**).

Les espèces sensibles à l'ozone sont largement cultivées en Algérie, notamment les cultures telles que le blé, le haricot, le pois et la tomate.

Des études sur les plantes, pour déceler des symptômes visibles de blessures ont montré des dommages causés par l'ozone à la végétation dans de nombreux endroits.

Cela inclut les études sur les effets de l'ozone sur les plantes dans les écosystèmes naturels aux États-Unis (**Gulke & Heath, 2019**), ainsi que le facteur de risque pour les arbres et les forêts en Europe présenté par (**Matyssek et Innes , 2003**), et des dommages importants dus à l'ozone ont été constatés en Europe (**Mills et al., 2018**).

La biosurveillance des impacts de l'ozone par l'observation des dommages foliaires visibles est pratiquée depuis de nombreuses années, notamment en Europe et aux États-Unis. Elle utilise souvent des plantes sensibles à l'ozone, par exemple le tabac (**Pasqualini et al., 2003**) et le trèfle (**Pihl Karlsson et al., 1994**).

Certaines études de biosurveillance ont utilisé les variations de sensibilité à l'ozone entre les variétés, ce qui donne un génotype sensible et un génotype résistant à l'ozone. L'un de ces appariements, utilisé pour la biosurveillance des impacts de l'ozone sur les plantes, repose sur l'utilisation de deux génotypes de haricots (*Phaseolus vulgaris L.*) connus pour leur tolérance (R123) et leur sensibilité à l'Ozone (S156) (**Reinert et Eason, 2000; Burkey et al., 2005**).

Dans ce contexte, le présent travail se propose d'étudier l'impact potentiel de l'ozone sur la végétation dans la ville de Tiaret, (Algérie), porte sur l'utilisation d'une légumineuse cultivée (Haricot), une est locale et deux génotypes importés (S156 et R123), l'autre est une céréale avec deux variétés de blé (dur et tendre).

Dans ce mémoire de thèse :

- **Une première partie** est consacrée à une synthèse bibliographique ayant pour but de représenter l'état des travaux de recherche dans cette thématique ;
- Suivi par **une deuxième partie** qui englobe le contexte expérimental, partagé en trois chapitres : Un chapitre concernant le Matériel et les Méthodes adoptés. Le second chapitre concerne l'analyse des résultats obtenus et dans le troisième chapitre, l'interprétation et la discussion des résultats obtenus
- et Enfin une **conclusion générale et des perspectives**.

Partie N°01
Synthèse Bibliographique

Chapitre N°I
Généralités sur l'Ozone

Chapitre I : Généralités sur l'Ozone

I-La molécule d'ozone

I-1-Histoire scientifique et technique de l'ozone

En 3000 av. J.C. : Dans l'Iliade et l'Odyssée, Homère décrit la colère de Zeus, projetant des éclairs qui remplissent l'air d'une forte odeur de soufre. Homère évoque sans doute ici l'expérience d'un violent orage et de l'odeur qui accompagne la foudre, issue non pas du soufre mais de l'ozone formé par la dissociation du dioxygène lors du passage de la décharge électrique dans l'air. Ce récit pourrait donc constituer le premier témoignage de l'observation de la présence d'ozone dans l'atmosphère terrestre (**Rowland, 2006**).

En 1840 : Le chimiste allemand Christian Friedrich Schönbein émet l'hypothèse que l'odeur qui suit la foudre, celle qui accompagne l'électrolyse de l'eau et celle qu'il sent dans son laboratoire de l'université de Bâle en Suisse où il conduit des expériences sur l'électricité, proviennent d'une seule et même substance (**Rubin, 2001**). Schönbein donne à cette substance le nom d'ozone, de la racine grecque « Ozein » qui signifie exhalé une odeur.

En 1857 : L'industriel allemand Werner von Siemens met au point un procédé pour produire l'ozone à grande échelle de manière simple et fiable. Cette méthode, qui consiste à faire passer de l'air à travers une décharge électrique entre 2 électrodes, est encore utilisée aujourd'hui.

En 1865 : Le chimiste français Charles Soret détermine la formule de la molécule d'ozone (O_3).

En 1889 : Alfred Cornu, un astronome français, met en évidence l'absorption du rayonnement UV dans l'atmosphère.

En 1890 : Le chimiste allemand Ohlmüller découvre les propriétés bactéricides de l'ozone, ouvrant la voie à son utilisation dans le traitement de l'eau.

En 1891 : Walter Noel Hartley, physicien irlandais, s'appuie sur les travaux de Cornu et attribue à l'ozone l'absorption du rayonnement solaire ultraviolet dans l'atmosphère terrestre.

En 1893 : Première application commerciale de l'ozone au traitement de l'eau au Pays-Bas. On comptera une cinquantaine d'installations du même type en Europe à la veille de la première guerre mondiale.

En 1913 : Le physicien français Charles Fabry démontre de façon expérimentale l'existence de la couche d'ozone dans la stratosphère.

En 1915 : Le chlore, utilisé massivement comme gaz de combat pendant la première guerre mondiale, supplante l’ozone pour le traitement de l'eau.

En 1920 : Conception par le physicien et météorologue britannique Gordon Dobson du spectrophotomètre qui porte son nom. Cet appareil, qui permet de tracer le profil de distribution vertical de l'ozone, est encore aujourd'hui l'instrument essentiel pour la mesure de la quantité d'ozone dans l'atmosphère.

En 1930 : Sydney Chapman, astronome et géophysicien britannique, décrit la chimie de l’ozone dans la stratosphère (**Chapman, 1930**).

En 1940 : Mise en évidence de la participation de l’ozone à la pollution photochimique (smog) dans la région de Los Angeles. L’ozone est maintenant considéré en tant que polluant toxique, et ses effets potentiels sur la santé humaine et la végétation sont envisagés.

En 1950 : Middleton décrit les dommages visibles sur la végétation provoqués par la pollution photochimique (Middleton et al. 1950). Dans les années qui suivent, les effets sur la végétation de la pollution à l’ozone en particulier seront identifiés (**Haagen-Smit et al., 1952**).

En 1953 : Les travaux du chimiste allemand Rudolf Criegee enrichissent considérablement les connaissances dans le domaine de la chimie de l'ozone.

En 1957 : Pour la première fois, des effets négatifs directs de l’ozone sur la santé humaine sont démontrés (**Kleinfeld et al. 1957**). Depuis lors, ses conséquences néfastes sur la santé, et en particulier sur la fonction pulmonaire, ont été largement étudiées.

En 1970 : Crutzen, puis Molina et Rowland décrivent la participation des oxydes d'azote (**Crutzen, 1970**) et des composés halogénés (**Molina & Rowland, 1974**) dans la chimie de l’ozone dans la stratosphère. Ces travaux leur vaudront le prix Nobel de chimie en 1995.

En 1985 : Des chercheurs britanniques en poste dans une station en Antarctique observent la disparition périodique de la couche d’ozone au dessus de ce continent (**Farman et al., 1985**). Le terme de trou dans la couche d'ozone est évoqué pour la première fois.

En 1987 : Signature du protocole de Montréal visant à réduire de façon drastique les émissions de CFC. Il s'agit de l'un des très rares cas de l'histoire humaine où la communauté scientifique réussit à infléchir les décideurs politiques, contre l'influence de puissants lobbies économiques.

2003 : Parution du 3^{ème} rapport du GIEC (Groupe intergouvernemental d'experts sur l'évolution du climat). La contribution de l’ozone troposphérique au forçage radiatif en fait le troisième gaz à effet de serre (**IPCC, 2001**).

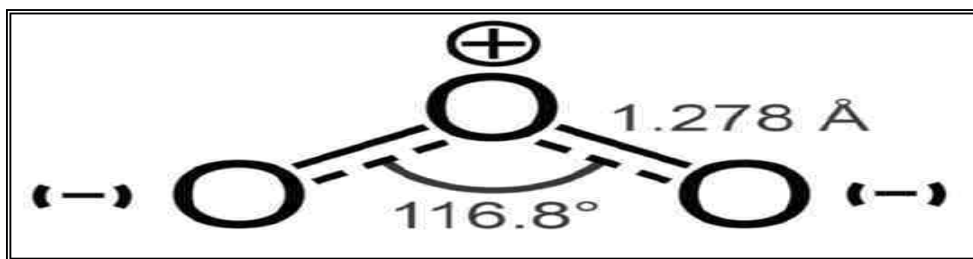


Figure 01 : Représentation schématique de la molécule d'ozone.

Potentiel d'oxydation (V)	
Fluor (F)	2,87
Radical hydroxyle (HO·)	2,86
Oxygène atomique (O)	2,42
Ozone (O₃)	2,07
Peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂)	1,78
Chlore (Cl)	1,36
Dioxyde de chlore (ClO ₂)	1,27
Dioxygène (O ₂)	1,23

Figure 02 : Potentiels d'oxydation de divers composés oxydants.

L'arrêt presque total des émissions de CFC a contribué à stopper la dégradation de l'ozone stratosphérique. La régénération de la couche d'ozone est en bonne voie mais semble toutefois plus lente que prévue, et le trou apparaît encore régulièrement au dessus de l'Antarctique.

Les émissions sans cesse croissantes des précurseurs de l'ozone troposphérique entraînent une hausse constante de sa concentration moyenne. L'ozone troposphérique est aujourd'hui, à l'échelle mondiale, un polluant photochimique majeur.

I-2-Propriétés physico-chimiques de l'ozone

L'ozone [O₃] est une variété allotropique de l'oxygène, à température ambiante, ce composé se présente sous la forme d'un gaz incolore qui dégage à partir de 08 à 36 ppb une odeur piquante caractéristique. Ses trois atomes d'oxygène disposés en triangle isocèle forment un hybride de résonance entre quatre formes mésomères (**Figure 01**). La molécule d'ozone est très électrophile et affiche un potentiel d'oxydation élevé de 2,076 V (**Figure 02**).

L'ozone présente une solubilité limitée en milieu aqueux et s'y décompose pour former des radicaux libres, radical hydroxyle (HO·), ion superoxyde (O⁻²), radical hydroperoxyde (HO₂) et peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (**Von Gunten, 2007**).

De manière générale, la réactivité de l'ozone peut s'exercer sur de nombreuses molécules selon quatre modalités (Glaze, 1986 ; Cacace & Speranza, 1994) :

I-2-1-Cycloaddition (Mécanisme de Criegee)

Cette réaction intervient au niveau des liaisons insaturées et des liaisons carbone-hydrogène et concerne une large gamme de composés : Alcools, éthers, aldéhydes, amines, alcanes et cycloalcanes.

I-2-2-Attaque électrophile

L'attaque électrophile a lieu au niveau des liaisons insaturées des molécules à forte densité électronique, tels que les composés aromatiques et les alcènes.

I-2-3-Auto-oxydation

Ce type de réaction permet l'oxydation de liaisons carbone-hydrogène via une réaction radicalaire en chaîne initiée par l'ozone et dont l'oxygène est l'oxydant.

I-2-4-Attaque nucléophile

Cette réaction est due à la présence d'un doublet d'électrons non partagé et permet l'oxydation de composés présentant un déficit électronique.

Bien que l'ozone ne soit à proprement parler ni une espèce radicalaire ni une espèce oxygénée réactive, il est capable de réagir avec la plupart des molécules des systèmes biologiques : glucides, protéines, lipides et acides nucléiques (Pryor, 1994).

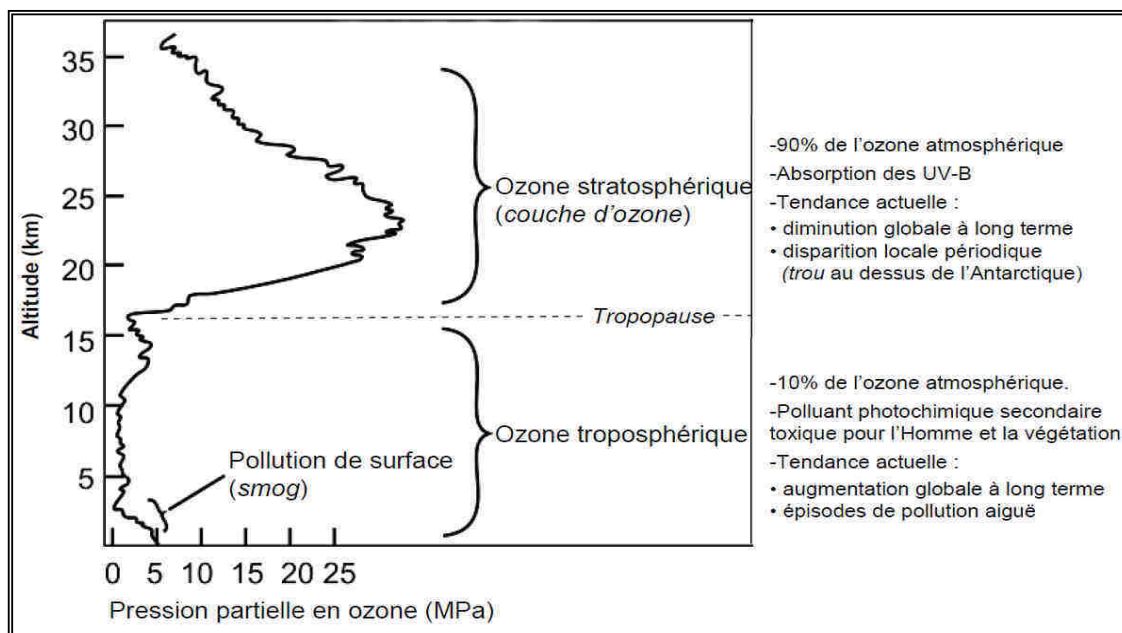
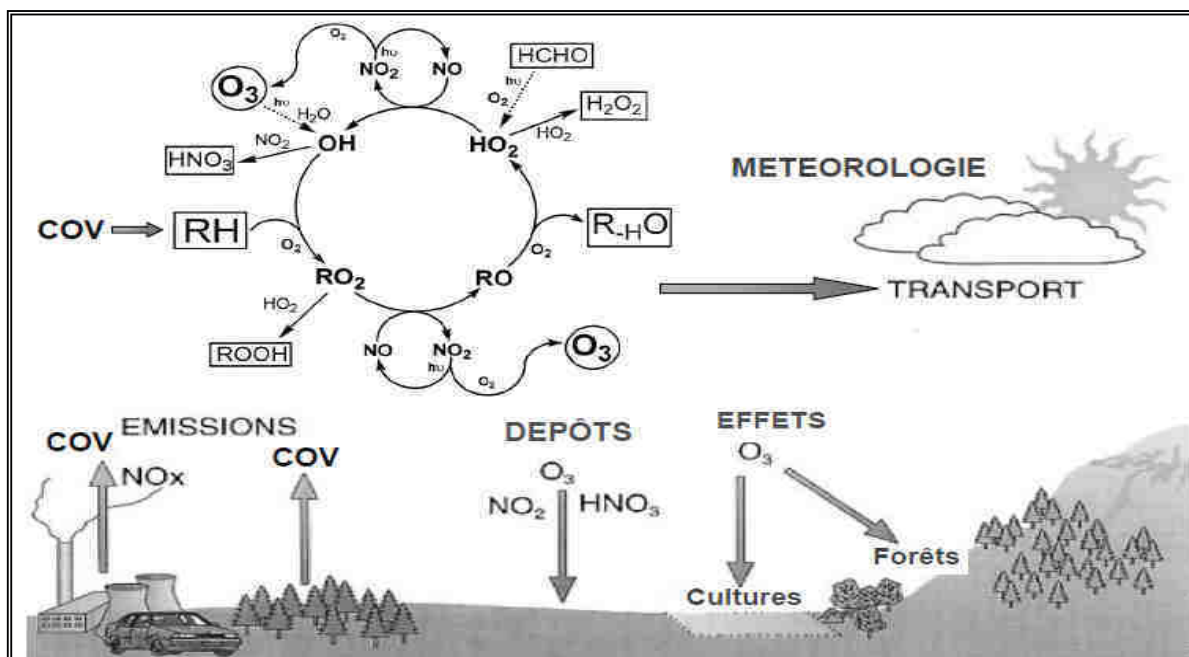


Figure 03 : Distribution de l'ozone dans l'atmosphère terrestre. **Source :** NASA - Earth Observing System (EOS) Science Plan.

La chaleur produite par cette absorption permet de plus de maintenir la structure de la stratosphère (**Rowland, 2006**). D'autre part, l'ozone troposphérique absorbe le rayonnement infrarouge et constitue de ce fait un gaz à effet de serre contribuant de manière importante au forçage radiatif (**IPCC, 2001**).

L’ozone présente cette particularité d’être, vis-à-vis de la biosphère, à la fois essentiel et néfaste. Alors que la couche d’ozone stratosphérique protège la biosphère de la nocivité du rayonnement ultraviolet, l’ozone présent dans les couches basses de l’atmosphère est un polluant photochimique secondaire toxique dont la teneur augmente année après année (figure 04).



Chapitre : II
L'Ozone Troposphérique

Chapitre II : L'Ozone troposphérique

II-Cycle de l'ozone dans la troposphère

La troposphère, constituée des couches basses de l'atmosphère terrestre, s'étend de la surface du sol jusqu'à la tropopause, qui marque la limite à partir de laquelle la température cesse de diminuer avec l'altitude. L'épaisseur de la troposphère varie entre 13 et 16 km à l'équateur, et entre 07 et 08 km aux pôles.

La troposphère, siège des phénomènes météorologiques et des flux atmosphériques, concentre la majeure partie de la masse d'air totale ainsi que la quasi-totalité de la vapeur d'eau, mais ne contient que 10 % de l'ozone atmosphérique. Les échanges verticaux entre stratosphère et troposphère contribuent de manière marginale à l'apport d'ozone dans la troposphère, dont la source principale est sa formation via une série de réactions photochimiques, (**Jenkin & Clemitshaw, 2000**).

En faisant abstraction de l'intervention des composés issus des activités humaines, l'ozone peut se former dans la troposphère de la même manière que dans la stratosphère, à partir de la dissociation de molécules de dioxygène sous l'effet de rayons UV. Cette réaction est limitée par l'intensité relativement faible du rayonnement UV au niveau de la troposphère et l'ozone produit reforme assez vite du dioxygène.

Seule l'intervention de composés organiques volatils émis par la végétation terrestre peut favoriser une accumulation naturelle limitée d'ozone (**Lee & Wang, 2006**). Le développement de l'industrie et des transports a considérablement modifié le cycle de l'ozone troposphérique.

Les activités humaines produisent une grande quantité d'oxydes d'azote. (**Lee et al., 1997**) qui, sous l'effet du rayonnement UV, peuvent libérer de l'oxygène. Les atomes d'oxygène se combinent au dioxygène de l'air pour former de l'ozone qui réagit avec le monoxyde d'azote, ce qui limite son accumulation (**Jenkin & Clemitshaw, 2000**).



En théorie, la teneur en ozone dans la troposphère devrait résulter d'un équilibre photochimique déterminé par le rapport entre NO et NO₂ et l'intensité du rayonnement solaire, mais les teneurs mesurées dans la troposphère dépassent les valeurs prédites par ce modèle simple. En atmosphère polluée, de nombreux composés interviennent dans le cycle de formation de l'ozone troposphérique (**Jenkin & Clemitshaw, 2000**). Ces composés sont principalement

des hydrocarbures en phase gazeuse, regroupés sous le terme de composés organiques volatils (COV). En se combinant préférentiellement avec le monoxyde d'azote, ces composés rendent possible l'accumulation de l'ozone.

De plus, ils représentent une source de NO_2 non issu de la dégradation de l'ozone, ce qui déséquilibre davantage le système en faveur de la formation d'ozone. Les émissions directes d'ozone, naturelles ou anthropiques, sont pratiquement nulles.

La formation de l'ozone dans la troposphère est donc associée à la présence de précurseurs chimiques, oxydes d'azote et COV, ce qui fait de l'ozone un polluant secondaire. Formé sous l'action du rayonnement solaire, il est en outre qualifié de polluant photochimique.

Les principales conditions favorisant l'apparition des pics d'ozone sont :

- L'ensoleillement, puisque le rayonnement UV est directement à l'origine de la formation d'ozone ;
- La circulation automobile, forte productrice de ses précurseurs chimiques (NO et COV) ;
- L'absence de vent, qui empêche la dispersion des polluants primaires et secondaires ;
- D'autres facteurs interviennent également, parmi lesquelles l'activité industrielle, productrice de COV, ou la température de l'air, avec laquelle augmente la volatilité des COV.

En zones urbaines, la concentration importante en monoxyde d'azote permet d'éliminer efficacement l'ozone formé (**Sillman, 1999**). Cette réaction intervient surtout la nuit en l'absence de formation d'ozone, mais peut aussi se produire le jour lorsque la concentration en NO est forte et celle en COV faible.

Cette situation se produit notamment de manière régulière en début de matinée. A ce moment, la circulation automobile, productrice de NO , est intense et la température de l'air encore peu élevée, ce qui limite la volatilité des COV.

En zones urbaines, la concentration en ozone suit donc un rythme diurne et est maximale en milieu d'après-midi.

En zones suburbaines et rurales, la teneur plus faible en NO ne permet pas d'éliminer complètement l'ozone. Par conséquent, la concentration en ozone n'y décroît généralement pas la nuit (**Sillman, 1999**). De plus, les émissions de COV par les couverts forestiers s'ajoutent à celles issues de l'industrie (**Guenther et al., 1995**).

On peut ainsi observer des concentrations élevées en ozone dans certaines zones rurales assez éloignées des grands centres urbains et industriels (**Sillman, 1999**).

Les vents jouent ici un rôle important en véhiculant les polluants primaires et secondaires depuis leur zone de production jusqu'à des zones rurales éloignées.

II-1-Conséquences de la pollution à l'ozone pour l'Homme

L'augmentation de la concentration en ozone dans la troposphère est inquiétante à plusieurs égards. En premier lieu, l'Ozone troposphérique absorbe le rayonnement solaire infrarouge et se classe au troisième rang des gaz à effet de serre avec une contribution au forçage radiatif correspondant au quart de celle du CO₂ (IPCC, 2001).

La hausse actuelle de la teneur en ozone troposphérique participe ainsi au renforcement de l'effet de serre et aux changements climatiques qui en découlent. De plus, les propriétés oxydantes de la molécule d'ozone sont responsables de multiples effets néfastes.

En tant qu'oxydant puissant, l'Ozone peut altérer certains matériaux: Plastiques, caoutchouc, peintures, matériaux de construction,.. etc. (Kucera & Fitz 1995, Lee et al., 1996, Massey, 1999). Mais l'Ozone troposphérique constitue avant tout un polluant dont la toxicité touche le monde vivant en général et l'Homme en particulier.

La mise en évidence de la présence dans l'air d'un bactéricide connu a très vite suscité des interrogations concernant ses effets sur la santé. Depuis les années 1950 et les premières études faisant état de symptômes associés à une exposition à une concentration élevée en ozone, les effets toxiques du polluant sur la santé ont été largement étudiés.

II-1-1-Altération de la fonction pulmonaire

En tant que polluant gazeux, l'ozone affecte principalement le système respiratoire, une exposition à une concentration élevée en ozone réduit de manière transitoire la capacité pulmonaire, ce qui se traduit par des signes d'essoufflement et de gêne, voire de douleur, à l'inspiration (McDonnell et al., 1999).

Cette altération de la fonction pulmonaire est associée à une réduction marquée des paramètres de capacité respiratoire et à une augmentation de la résistance des voies aériennes périphériques (Mudway & Kelly, 2000).

En outre, une exposition à une dose élevée d'ozone augmente la réactivité des voies aériennes à d'autres polluants (Oxydes d'azote ou de soufre) et à divers allergènes (Particules, pollens) (Roux et al., 2002).

Les études portant sur les effets à plus long terme sur la fonction pulmonaire font état d'une réduction, limitée mais irréversible, de la capacité pulmonaire et d'un ralentissement du développement des poumons chez l'enfant (Ihorst et al., 2004).

II-1-2-Dommages tissulaires et réponse inflammatoire

L'inhalation d'une dose élevée d'ozone provoque de nombreux dommages au niveau de l'épithélium pulmonaire : Nécrose des cellules ciliées, déciliation et dégranulation des cellules sécrétrices des voies aériennes supérieures, nécrose de pneumocytes de type I et des cellules

ciliées des bronchioles et altération de la perméabilité de l'épithélium pulmonaire (**Mudway & Kelly, 2000**). Une dose élevée d'ozone peut aussi provoquer des réactions inflammatoires au niveau des voies aériennes, caractérisées par une neutrophilie prononcée (**Basha et al., 1994**).

L'afflux de neutrophiles vers les poumons peut jouer un rôle bénéfique en favorisant l'élimination des cellules nécrotiques et la régénération de l'épithélium, mais peut aussi amplifier l'inflammation et provoquer des dommages tissulaires.

Les effets à long terme d'une exposition chronique à l'ozone incluent la modification de la composition cellulaire de l'épithélium pulmonaire, une perte de sa capacité de diffusion et de l'élasticité pulmonaire due à un dépôt de collagène (**Mudway & Kelly, 2000**).

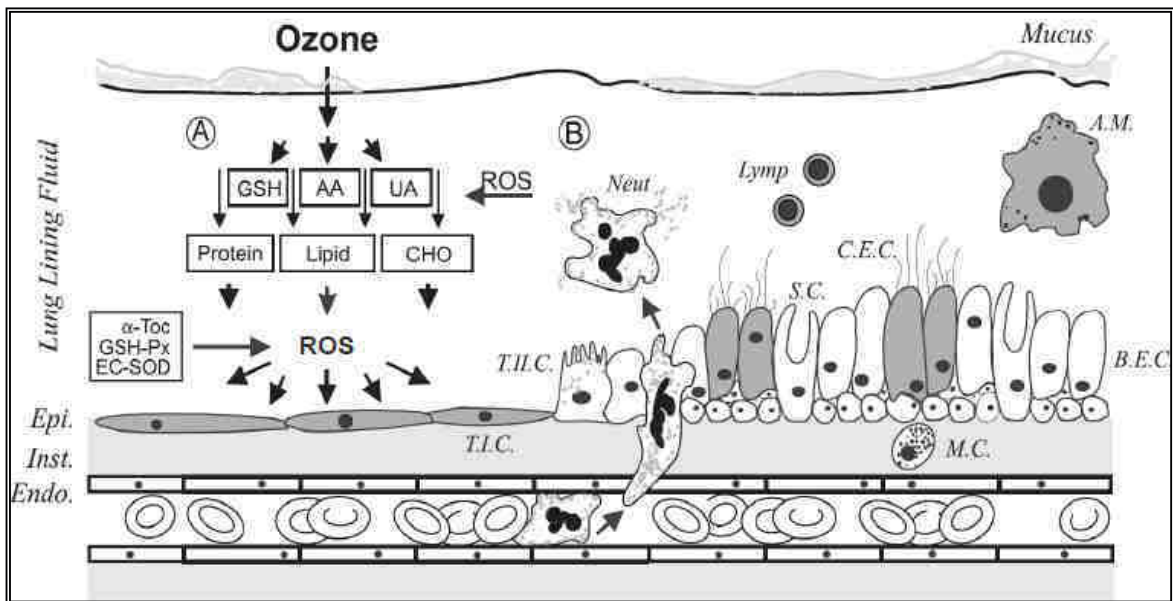


Figure 05 : Mécanismes de la toxicité de l'ozone au niveau du poumon et cibles cellulaires majeures. (**Mudway & Kelly, 2000**).

II-1-3-Mécanismes de toxicité de l'ozone

L'ozone peut pénétrer assez profondément dans les voies aériennes. On estime d'ailleurs que les voies périphériques reçoivent les doses d'ozone les plus élevées et sont les plus sensibles aux dommages associés (**Miller et al., 1985**). Pour autant, la réactivité élevée de l'ozone et sa faible solubilité en milieu aqueux ne lui permettent pas de pénétrer profondément dans les tissus des voies aériennes. (**Pryor, 1992**).

En fait, l'ozone ne traverse même pas la première barrière rencontrée formée par le fluide tapissant les voies aériennes et s'y décompose entièrement selon un mécanisme dit d'absorption réactive (**Langford et al. 1995**).

Lorsque la concentration en ozone est faible, la majorité de l'ozone est neutralisée par divers composés antioxydants (Ascorbate, acide urique, glutathion, α -tocophérol) présents dans ce fluide (**Mudway & Kelly 2000**). Lorsque la concentration en ozone est plus élevée, ou que

celle en antioxydants est réduite, l'ozone peut réagir avec d'autres molécules telles que des protéines et des lipides. La réaction de l'ozone avec ces macromolécules génère des composés toxiques, moins réactifs mais plus stables que l'ozone lui-même et capables de propager son action oxydante vers les cellules épithéliales.

Ainsi la toxicité de l'ozone ne résulte pas de son interaction directe avec l'épithélium pulmonaire mais de l'action de produits secondaires issus de sa décomposition dans le fluide tapissant les voies aériennes (**Mudway & Kelly, 2000**). Ces composés, regroupés sous le nom d'espèces oxygénées réactives (ROS), sont responsables de dommages cellulaires et tissulaires directs, mais jouent aussi un rôle dans la transduction du signal de toxicité (**Pryor et al. 1995**).

II-1-4-Seuils de risques d'exposition à l'ozone

La présence dans l'air ambiant des teneurs en ozone capables d'induire des dommages physiologiques avérés a entraîné le développement d'un système d'indication des seuils de risques associés au polluant, reposant sur l'établissement de seuils d'alerte en fonction de la concentration ambiante en ozone.

En France, le seuil d'information et de recommandation est atteint, lorsque la concentration en ozone dans l'air dépasse $180 \mu\text{g.m}^3$ (environ 90 ppb) en moyenne horaire. Les seuils d'alerte sont fixés à $240 \mu\text{g.m}^3$ (≈ 120 ppb) en moyenne horaire durant 03 heures consécutives (Niveau 1), à $300 \mu\text{g.m}^3$ (≈ 150 ppb) en moyenne horaire durant 03 heures consécutives (Niveau 2) et à $360 \mu\text{g.m}^3$ (≈ 180 ppb) en moyenne horaire (Niveau 3).

Le niveau d'information et de recommandation correspond à un niveau de concentration en ozone au-delà duquel une exposition de courte durée a des effets limités et transitoires sur la santé des catégories de la population particulièrement sensibles (Enfants, personnes âgées, asthmatiques et insuffisances respiratoires chroniques).

Il comprend des actions d'information de la population, des recommandations sanitaires aux catégories de la population particulièrement sensibles, ainsi que des recommandations et des mesures visant à réduire certaines des émissions polluantes, telle que la recommandation de limiter la vitesse des véhicules à moteur.

Le niveau d'alerte correspond à un niveau de concentration en ozone au-delà duquel une exposition de courte durée présente un risque pour la santé ou l'environnement. En plus des mesures d'information et de recommandation, ce niveau comprend des mesures de restriction ou de suspension des activités concourant à la pollution, notamment de la circulation des véhicules.

Les trois niveaux d'alertes définis sont associés à l'activation ou au renforcement de certaines mesures selon la gravité de l'épisode de pollution.

II-2-Impact de l'ozone troposphérique sur la végétation

Dans les années 1940, la mise en évidence de teneurs élevées en ozone dans l'air ambiant de la région de Los Angeles a été suivie des premières observations de dommages visibles sur la végétation. D'abord associés à la pollution photochimique en général (**Middleton et al., 1950**, **Haagen-Smit et al., 1952**), ces symptômes ont par la suite été clairement reliés à la présence d'ozone (**Heggstad & Middleton, 1959**).

Depuis ces études originelles, l'impact de l'ozone troposphérique sur les plantes a été amplement documenté et l'ozone aujourd'hui considéré comme le premier polluant phytotoxique à l'échelle mondiale.

II-2-1-Impact sur les espèces cultivées

II-2-1-1-Dommages visibles

L'apparition de symptômes foliaires - tâches chlorotiques et nécrotiques, rougissement est la conséquence la plus visible de la pollution due à l'ozone troposphérique sur la végétation.

Ce type de dommages, associé à des épisodes de fortes concentrations en ozone, entraîne des pertes économiques immédiates pour les espèces horticoles dont l'apparence revêt une importance particulière. De tels symptômes sont régulièrement observés en Amérique du Nord et en Europe, notamment au niveau des cultures irriguées des régions méditerranéennes, mais sont aussi signalés au Mexique, en Egypte, en Inde et à Taiwan (**Ashmore, 2005**).

II-2-1-2-Croissance et rendement

En plus et souvent indépendamment de ces symptômes aigus, l'exposition chronique au polluant est responsable de pertes significatives de croissance et de rendement pour de nombreuses espèces de première importance agronomique. En Europe, l'exposition à l'ozone pendant une saison de croissance peut réduire 25 % de rendement du blé et de la pomme de terre (**Pleijel et al., 2007**).

Les résultats d'une étude menée aux USA dans les années 1980 dans le cadre du (National Crop Loss Assessment Network) montrent qu'une concentration moyenne en ozone supérieure à 50 ppb sur une saison de végétation peut réduire le rendement annuel du soja de (10%) et celui du cotonnier de (12%) (**Heagle 1989**).

Une méta-analyse de l'impact de l'ozone sur le soja a mis en évidence une réduction de (20%) du rendement du soja en réponse à une exposition chronique, combinée à la diminution d'un grand nombre de paramètres de croissance et physiologiques. (**Morgan et al., 2003**).

Des pertes de rendement dues à l'ozone ont été rapportées pour le blé, le riz et le soja au Pakistan, pour la tomate en Inde, pour le haricot au Mexique et pour le radis et le navet en

Egypte (Ashmore, 2005). Le rendement du maïs et des monocotylédones semble en général moins affecté par le polluant (Felzer et al., 2007).

La réponse des paramètres est déterminée à partir du rapport moyen entre les valeurs mesurées pour les plants traités par rapport à celles mesurées pour les plants en atmosphère filtrée.

Chaque point correspond au pourcentage de variation dans les plants traités par rapport aux plants en atmosphère filtrée avec l'intervalle de confiance à (95%) correspondant.

La réponse à l'ozone est considérée comme significative si l'intervalle de confiance ne couvre pas l'axe des ordonnées. Le nombre de valeurs indépendantes pour chaque paramètre est indiqué entre parenthèses.

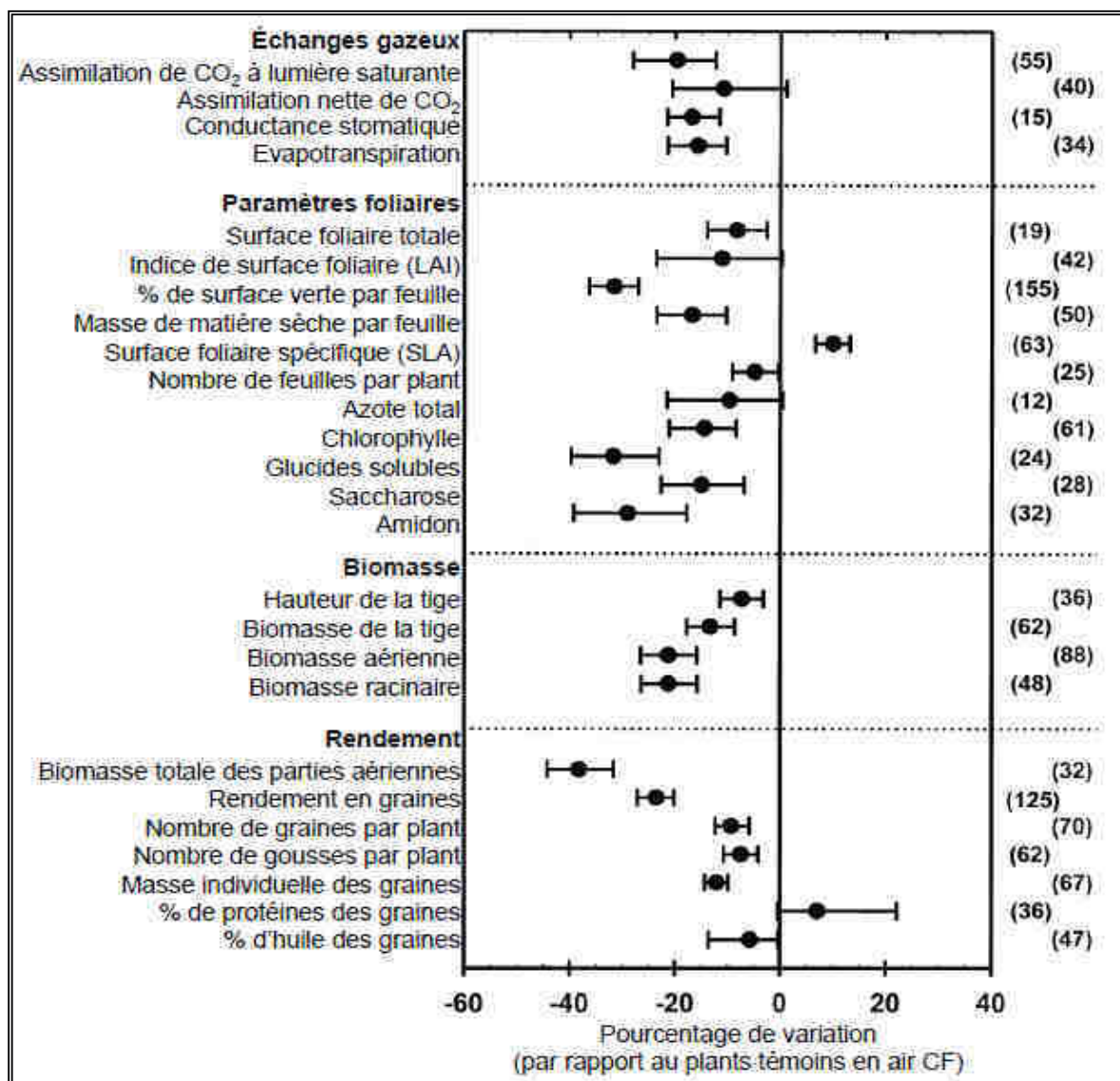


Figure 06: Effets d'une concentration élevée en ozone ($[O_3] > 30$ ppb) sur le soja. (Felzer et al., 2007).

II-2-1-3-Photosynthèse

L'effet négatif de l'ozone sur la croissance résulte principalement d'une limitation de la fixation du CO₂ atmosphérique (**Fuhrer, 2003**) due à une réduction de l'activité et de la quantité de la rubisco (**Lehnherr et al., 1987, Enyedi et al., 1992**) à laquelle s'ajoutent une dégradation prononcée de la chlorophylle et une sénescence accélérée (**Ojenperä et al., 1998**). Pour un certain nombre d'espèces cultivées (Blé, haricot, tomate, navet, potiron, fêtuque) une réduction marquée de la capacité de transport d'électrons photosynthétiques a été démontrée en réponse à l'ozone (**Fiscus et al., 2005**).

Chez le maïs, des concentrations réalistes en ozone se sont révélées capables de réduire à la fois la fixation du CO₂ et la photochimie (**Leitao et al., 2007**). Pour cette espèce en C₄, l'ozone affecte négativement l'activité des deux enzymes responsables de l'assimilation du CO₂, la rubisco et la PEPc. Chez les C₃, ces deux enzymes montrent une réponse opposée à l'ozone, l'inhibition de la rubisco étant coordonnée à une stimulation de la PEPc (**Leitao et al., sous presse, pin d'alep Fontaine et al. 1999**).

Les résultats concernant les conséquences d'une exposition à l'ozone sur les stomates demeurent assez contradictoires. Il est généralement admis que la réduction de la conductance stomatique en réponse au polluant serait un effet secondaire de l'atteinte de la photosynthèse plutôt qu'une de ses causes, l'augmentation de la concentration interne en CO₂ initiant la fermeture partielle des stomates (**Fiscus et al., 1997**). Pour autant, l'ozone pourrait avoir un effet direct sur les cellules de garde via la formation de peroxyde d'hydrogène et son action sur les canaux calciques membranaires (**Fiscus et al. 2005**).

II-1-2-4-Allocation des photosynthétats

La restriction de la capacité photosynthétique dans les feuilles sources réduit la quantité de glucides disponibles pour l'export vers les organes puits telles que les racines, les organes de reproduction et les méristèmes végétatifs (**Fuhrer & Booker, 2003**). La diminution de l'allocation aux organes puits peut ainsi entraîner un déficit de croissance des parties racinaires par rapport aux parties aériennes (**Grantz et al. 2006**) et une réduction du rendement des récoltes via une restriction de l'allocation aux graines et aux fruits (**Black et al. 2000**).

Un effet négatif direct sur la capacité d'allocation des organes sources a été montré chez le cotonnier et pourrait contribuer de façon importante à la réduction de croissance globale due à l'ozone (**Grantz, 2003**). Cette inhibition de la fonction de charge du phloème pourrait mettre en jeu des dommages oxydatifs sur les transporteurs membranaires impliqués (**Grantz & Farrar, 1999**).

II-1-2-5-Reproduction

Les processus liés à la reproduction peuvent être touchés par l'exposition à l'ozone, divers effets ont été rapportés pour les plantes cultivées : Inhibition de la germination du pollen et de la croissance du tube pollinique, déclenchement retardé de la floraison, modification des caractéristiques florales, réduction du nombre de fleurs produites, perte de rendement en fruits et en graines, réduction du taux de germination des graines et de la vigueur des pousses. (**Black et al. 2000**). Ces effets ont été observés pour des plantes dont les organes végétatifs et reproducteurs étaient exposés à l'ozone simultanément et peuvent donc provenir indifféremment de dommages directs au niveau des organes reproducteurs ou résulter des dommages aux organes végétatifs, via la réduction de la photosynthèse et de l'export d'assimilats.

Des expériences d'exposition directe des organes reproducteurs ont toutefois montré que l'ozone pouvait altérer le développement floral, réduire le nombre de graines, modifier leur qualité et la vigueur de pousses (**Black et al., 2000**).

II-1-2-6-Autres aspects agronomiques

L'exposition à l'ozone a des conséquences sur la qualité de divers produits agricoles : Augmentation de la concentration en azote dans les grains de blé, altération de la qualité des fibres de coton, du tubercule de pomme de terre et de la pastèque ou diminution de la teneur en huile, en protéines et en glucides dans les graines de colza. (**Black et al. 2000**).

L'ozone est aussi susceptible de modifier l'impact d'autres facteurs de réduction de croissance, maladies, prédation et compétition avec des espèces adventices. (**Fuhrer, 2003**).

La hausse des teneurs en glucides dans les feuilles de blé traités à l'ozone paraît ainsi favoriser la prédation par les insectes. Des effets directs sur les espèces prédatrices ont aussi été constatés : Augmentation de l'oviposition sur le tabac, accroissement du taux de survie et de croissance de certaines larves. La sensibilité des plantes aux maladies est modifiée par l'ozone de façon variable.

Aussi une accentuation des symptômes foliaires associés à diverses maladies chez le blé, mais une résistance accrue chez l'orge, la fétuque et colza. La sensibilité du blé au mildiou semble réduite lors d'une exposition à l'ozone mais la fréquence d'infection par des pathogènes facultatifs est accrue.

Enfin, l'ozone est susceptible de modifier les relations entre espèces cultivées et adventices en compétition pour les mêmes ressources, ainsi les interactions plantes-microorganismes dans la rhizosphère (**Fuhrer & Booker 2003**). Ces deux aspects restent

toutefois assez méconnus, tout comme les conséquences de l'augmentation de la concentration en ozone sur la qualité du fourrage. L'impact du polluant sur le métabolisme des herbacées pérennes de prairie et de pâturage provoque des modifications de la composition chimique des feuilles ainsi qu'une sénescence précoce, ce qui entraîne une altération de la digestibilité des parties aériennes par les ruminants (Ashmore 2005).

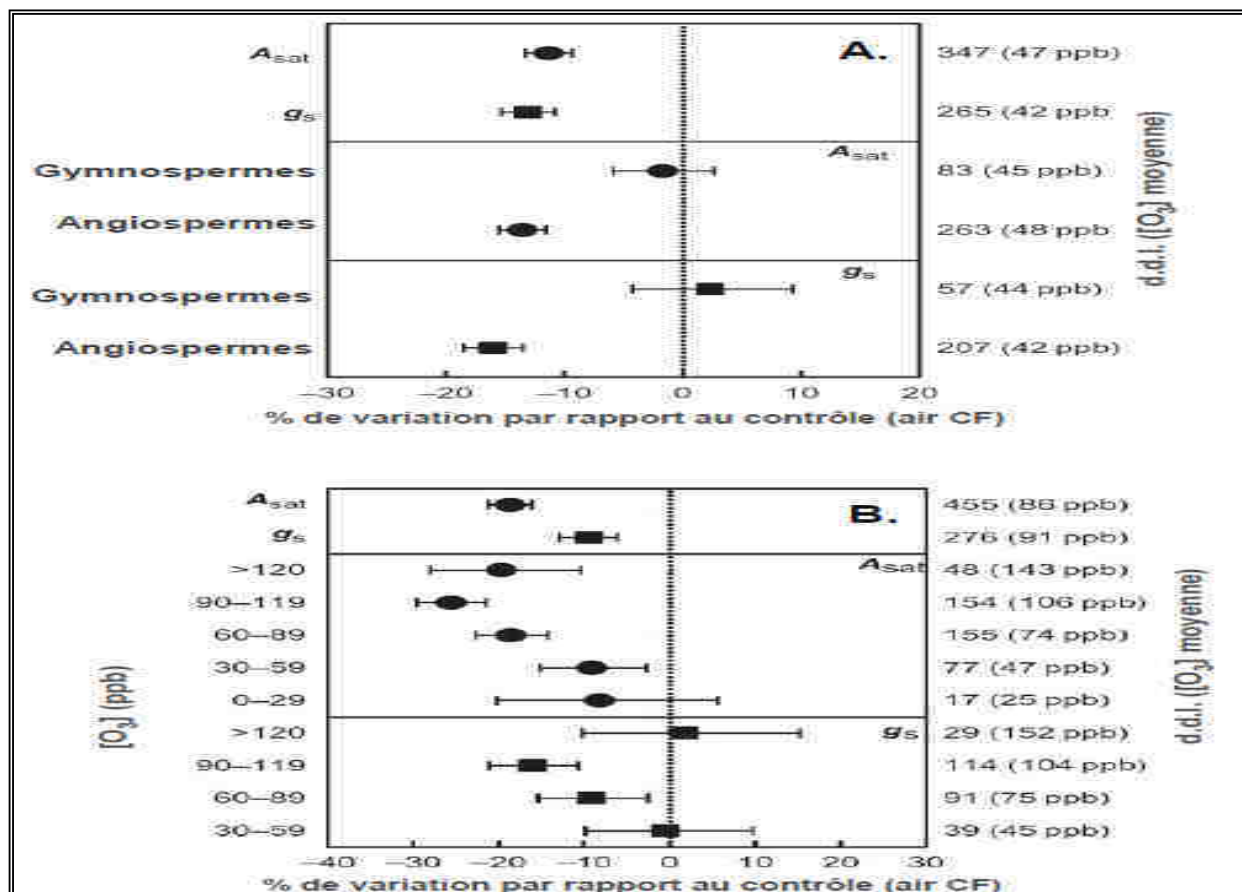


Figure 07: Effets de concentrations ambiantes (A.) et élevées (B.) en ozone sur l'assimilation de CO₂ à intensité lumineuse saturante (A_{sat}) et la conductance stomatique (g_s) des arbres :

méta-analyse de 61 (A_{sat}) et 55 (g_s) études publiées.

La figure 07: Présente la réponse de ces deux paramètres est déterminée à partir du rapport moyen entre les valeurs mesurées pour les plants traités par rapport à celles mesurées pour les plants en atmosphère filtrée.

Chaque point correspond au pourcentage de variation dans les plants traités par rapport aux plants en atmosphère filtrée avec l'intervalle de confiance à (95%) correspondant.

La réponse à l'ozone est considérée comme significative si l'intervalle de confiance ne couvre pas l'axe des ordonnées. Le degré de liberté (d.d.l.) pour chaque valeur est indiqué à droite et la concentration moyenne en ozone associée est notée entre parenthèses.

II-1-2-7-Impact sur les agro écosystèmes

A l'échelle mondiale et selon la gestion future des émissions de gaz à effet de serre et de polluants, la hausse de la concentration en ozone dans la troposphère prévue pour 2100 pourrait réduire le rendement global des récoltes de (16%) selon le scénario le plus optimiste, et de (64 %) selon les prédictions les plus pessimistes. (Reilly et al. 2007).

D'un point de vue économique, les coûts engendrés par les pertes de production agricole dues à l'ozone atteignent à l'heure actuelle de (02) à (04) milliards de dollars aux Etats-Unis et (04) milliards d'Euros en Europe (Ashmore , 2005).

La surface agricole exposée à des concentrations en ozone susceptibles de réduire de 10 % leur rendement pourrait passer de (09 à 35%) en 1985 à (30 à 75%) en 2020. (Chameides et al., 1994), et cette augmentation pourrait concerner en grande partie l'Asie. (Wang & Mauzerall, 2004).

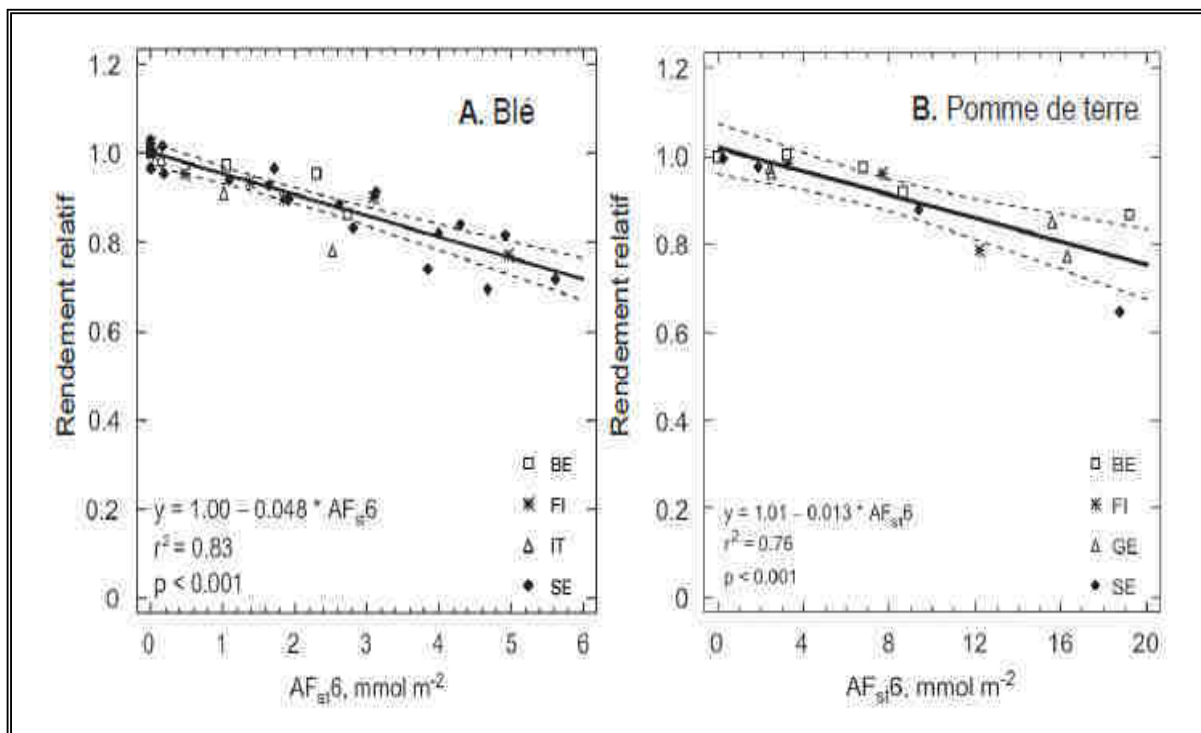


Figure 08: Relation entre le rendement relatif du blé (A.) et de la pomme de terre (B.) et la dose cumulée d'ozone décrite par l'indice AFst6.

La dose cumulée correspond à la somme des valeurs horaires du flux stomatique d'ozone intégrées sur une période de 97 jours, déterminé à partir d'un modèle de conductance stomatique et avec un seuil minimal de flux instantané de $06 \text{ nmol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

Ces deux relations ont été établies à partir de 13 expériences sur 04 sites européens (Belgique, Finlande, Italie, Suède) pour le blé et 08 expériences sur 4 sites (Belgique, Finlande, Allemagne, Suède) pour la pomme de terre.

II-1-2-8-Indices et seuils critiques d'exposition à l'ozone

La mise en évidence des effets négatifs de l'ozone sur la croissance des espèces cultivées et forestières a encouragé la mise au point d'indices permettant de relier les pertes en productivité à l'exposition à l'ozone. Les premiers indices utilisés reposaient sur la détermination d'une moyenne journalière de concentration en ozone calculée pour un intervalle de temps de 08 ou 12 heures de jour. Par la suite, des indices plus pertinents du point de vue biologique et plus performants pour la prédiction des effets de l'ozone ont été utilisés pour établir une relation exposition /réponse.

Le premier de ces indices correspond à la somme des moyennes horaires de concentration en ozone dépassant un seuil donné, par exemple 60 ppb pour l'indice le plus commun, le SUM06. Une seconde catégorie d'indices, dont le W126, est basée sur la pondération par une fonction sigmoïde de l'ensemble des concentrations horaires en ozone (**Fiscus et al. 2005**).

Enfin, les indices de type AOTx (Accumulated dose over a threshold of x ppb) sont calculés en sommant les différences entre les moyennes horaires de concentration en ozone et une valeur fixe de x ppb, en annulant les termes négatifs (**Fuhrer et al., 1997**).

En 1993, l'usage d'un indice de ce type, l'AOT40, a été validé par la Commission Economique pour l'Europe de l'ONU (UNECE) pour l'évaluation des risques liés à l'ozone pour la végétation en Europe (**Karenlämpi & Skarby, 1996**).

L'utilisation d'un seuil minimal ou d'une pondération par une fonction sigmoïde reflète la capacité de détoxification de la plante et permet d'éliminer les concentrations horaires en ozone trop faibles pour induire des effets physiologiques. De plus, ce type d'indices présente l'avantage de reposer sur la mesure physique, relativement fiable et aisée, de la concentration ambiante en ozone. Les moyennes horaires calculées selon les modalités relatives à chaque indice sont ensuite cumulées sur un intervalle de temps donné, journée ou saison de végétation, sous la forme d'une dose cumulée exprimée en ppm/heurs.

À partir de tels indices et d'expériences, des niveaux critiques correspondant à une exposition à l'ozone susceptible de réduire l'accumulation de biomasse de (10%), ont été définis pour la végétation en Europe (**Paoletti & Manning, 2007**).

Pour les céréales, le niveau critique annuel d'exposition correspond à un AOT40 de 03 ppm/heure, calculé sur une période de trois mois (Généralement du Mai-Juillet) et ne prenant en compte que les heures avec un éclaircissement minimal de 50 W.M⁻² (**Karenlämpi & Skarby, 1996**). Pour les arbres, le niveau critique d'AOT40 est fixé à 05 ppm/heure pour une période de

croissance de six mois (Généralement Avril-Septembre) et un éclairage minimal de 50 W.M^{-2} (**Karenlämpi & Skarby 1996**).

Ces niveaux critiques ont été récemment remis en cause pour :

- Le faible nombre d'expériences prises en compte (17 pour les céréales et 03 pour les arbres),
- Le nombre restreint d'espèces étudiées (Blé pour les céréales et hêtre pour les arbres),
- La grande variabilité des données utilisées selon (**Grünhage & Jager, 2003**), certaines études ont montré pour certaines espèces d'arbres de forêt des effets appréciables d'une exposition nocturne à l'ozone (**Oksanen & Holopainen, 2001**).

On s'oriente ainsi depuis quelques années vers la conception d'indices d'exposition basés sur le flux d'ozone entrant dans les tissus foliaires, correspondant à une dose cumulée d'ozone (CUO, cumulative uptake of ozone). On parle aussi de flux stomatique cumulé (AFst, accumulated stomatal flux of ozone) auquel on peut appliquer un seuil de flux instantané de $x \text{ nmol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (AFstx) qui reflète la capacité de détoxification des tissus foliaires.

En prenant en compte la quantité d'ozone réellement au contact des tissus photosynthétiques foliaires, ce type d'indices permet de définir une relation dose/effet plus pertinente d'un point de vue biologique. Comme le montre l'augmentation du coefficient de corrélation (R^2) entre biomasse relative et indice d'exposition à l'ozone, la performance de ce type d'indice pour prédire les pertes de croissance dues à l'ozone apparaît supérieure à celle de l'AOT₄₀ (**Uddling et al., 2004**).

Les relations dose/effet établies pour le blé et la pomme de terre (**Pleijel et al. 2007**) et le bouleau et le hêtre (**Karlsson et al., 2007**), ont permis de définir des seuils critiques d'exposition à l'ozone sous la forme d'une dose cumulée annuelle susceptible de réduire la croissance de 10 %.

Pour le blé et la pomme de terre, les niveaux critiques annuels correspondent à un AFst6 de 01 et 05 $\text{mmol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ respectivement. Pour le hêtre et le bouleau, c'est l'indice AFst 1,6 qui s'est montré le plus performant pour expliquer la réduction de croissance et la dose cumulée critique a été évaluée à 04 $\text{mmol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (**Paoletti & Manning, 2007**).

Le calcul des indices de flux stomatique d'ozone repose sur la conductance stomatique pour la vapeur d'eau, dont la mesure en continu reste assez contraignante. Pour pallier à ce problème, la conductance stomatique est calculée plutôt que mesurée grâce à des modèles (**Emberson et al., 2000a ; Karlsson et al., 2004**).

Ces modèles intègrent un ensemble de paramètres spécifiques de l'espèce étudiée : Conductance stomatique maximale et minimale mesurée à intensité lumineuse saturante et évolution de la conductance en fonction de la phénologie des feuilles, de l'intensité lumineuse, de la température et du déficit de pression de vapeur d'eau. (Pleijel et al., 2007)

Ce type de modèle donne accès à la conductance stomatique à partir de variables physiques mesurées en continu sur le terrain, et peut être appliqué à grande échelle.

La capacité de détoxification de la plante est traduite par un seuil de flux instantané appliqué aux indices d'exposition à l'ozone basés sur le flux stomatique. La valeur de ces seuils est déterminée de manière empirique en conservant le seuil fournissant la meilleure corrélation dose/effet. De plus, les résultats obtenus sur quelques espèces seulement sont généralisés à l'ensemble des espèces cultivées ou des arbres.

En conséquence, l'amélioration de l'évaluation des risques pour la végétation liés à l'exposition à l'ozone passe par l'élaboration d'indices prenant en compte plus finement la capacité de détoxification et la réponse du métabolisme cellulaire et leurs variations interspécifiques (Tausz et al., 2007, Wieser & Matyssek, 2007, Paoletti & Manning, 2007).

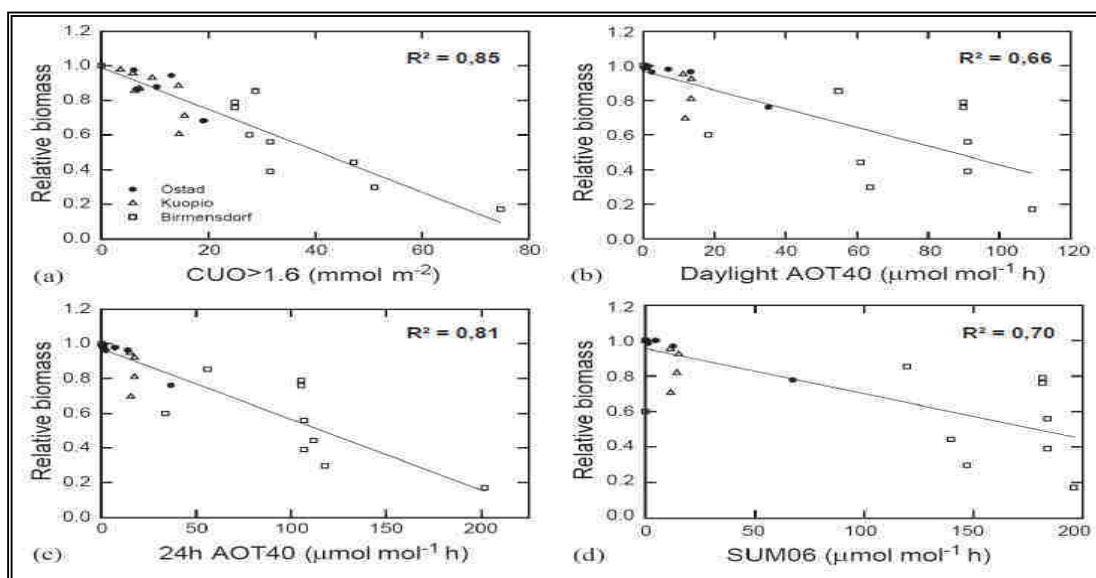


Figure 09 : Relation entre la production de biomasse relative et la dose d'ozone cumulée déterminée par différents indices pour le bouleau (*Betula pendula*).

Indice basé sur le flux stomatique d'ozone (FO_3) :

- $\text{CUO} > 1,6 = \Sigma(\text{FO}_3)$ pour $\text{FO}_3 > 1,6 \text{ nmol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ Indices basés sur la concentration ambiante en Ozone ;
- Daylight AOT40 = $\Sigma([\text{O}_3] - 40)$ pour $[\text{O}_3] > 40$ ppb et de jour ;
- 24 h AOT40 = $\Sigma([\text{O}_3] - 40)$ pour $[\text{O}_3] > 40$ ppb ;
- SUM06 = $\Sigma[\text{O}_3]$ pour $[\text{O}_3] > 60$ ppb.

Chapitre : III

Impact de l'ozone troposphérique sur la végétation

Chapitre III : Impact de l'ozone troposphérique sur la végétation

III-Mécanismes d'action de l'ozone à l'échelle cellulaire

III-1-Diffusion dans les tissus foliaires

Il n'est pas question ici de passer en revue l'ensemble des effets physiologiques de l'ozone, mais simplement de décrire les processus principaux qui affectent la productivité des cultures et des écosystèmes et qui sont utilisés en biosurveillance.

La figure 10 donne une représentation schématique de la diffusion de l'ozone vers l'intérieur des feuilles et des premières réponses physiologiques qui en résultent. Au niveau du couvert végétal, une assez grande partie du flux d'ozone capté par la végétation n'entre pas dans les feuilles, mais se dépose directement à la surface du sol et des épidermes.

Ce dépôt non stomatique, qui reste aujourd'hui encore assez difficile à quantifier, peut représenter plus de la moitié du flux total de dépôt d'ozone sur les couverts végétaux (Stella et al., 2013). Les impacts physiologiques du dépôt direct à la surface des épidermes sont encore assez mal connus, et sont souvent considérés comme négligeables par rapport à ceux provoqués par l'ozone qui pénètre à l'intérieur de la feuille.

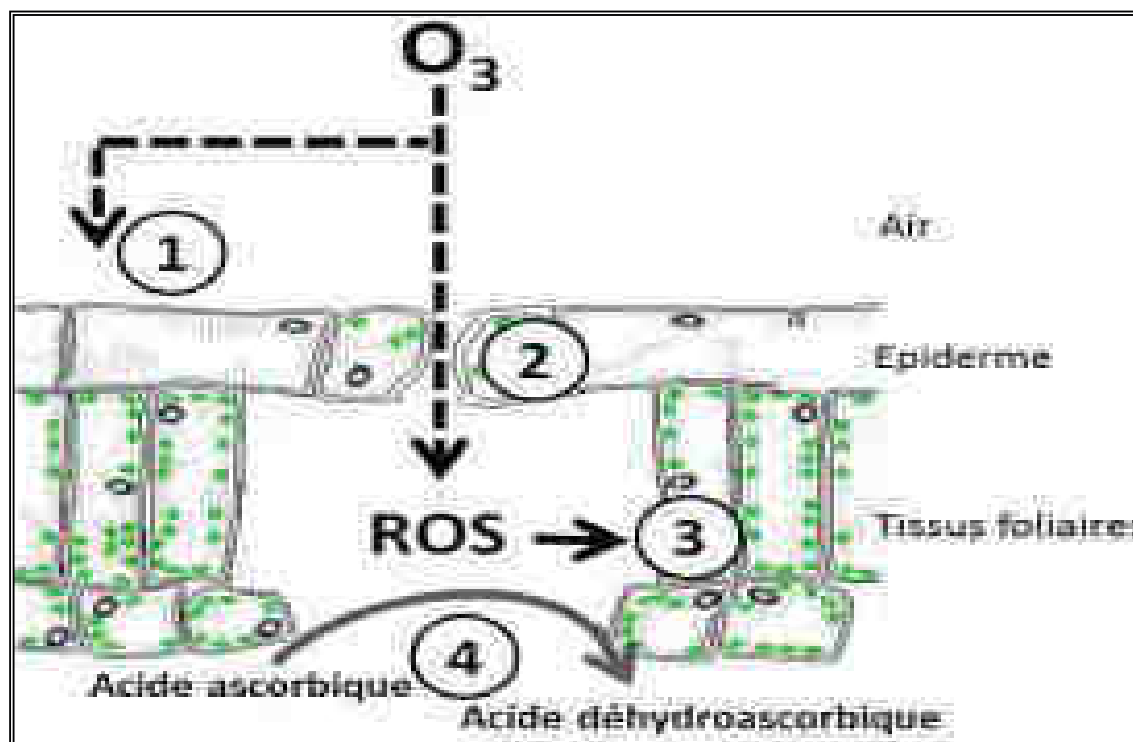


Figure 10: Représentation schématique de la diffusion de l'ozone vers l'intérieur des feuilles et des premières réponses physiologiques. (Stella et al., 2013)

1. Dépôt sur la surface externe des épidermes ; 2. Flux stomatique et production de ROS ; 3. Impacts physiologiques ; 4. Processus de détoxification.

D'une manière générale, on considère donc que les impacts physiologiques apparaissent quand l'ozone peut diffuser à travers l'épiderme jusqu'à l'intérieur des feuilles, via les stomates.

Les plantes absorbent donc davantage d'ozone quand les conditions environnementales sont favorables à l'ouverture stomatique (Rayonnement solaire important, absence de sécheresse, températures modérées, air plutôt humide) qu'en situation défavorable.

On a ainsi pu montrer que pendant la période de canicule de l'été 2003, les impacts de l'ozone sont restés modérés malgré de fortes concentrations dans l'air, en raison de la fermeture stomatique induite par les températures élevées (**Castell, 2004**).

Une fois entré dans la feuille, l'ozone, en raison de ses propriétés oxydantes, entraîne assez rapidement la formation d'espèces oxygénées réactives (On les regroupe sous l'appellation ROS : (**R**eactive **O**xygen **S**pecies) dans les espaces intercellulaires. Ce sont ces molécules, telles que le peroxyde d'hydrogène ou les radicaux hydroxyles, qui sont responsables des impacts physiologiques de l'ozone, notamment en altérant les membranes cellulaires et les protéines constitutives des enzymes, comme la Rubisco, l'enzyme-clé de la photosynthèse.

Pour résister à ce stress oxydant, les végétaux disposent de systèmes de détoxification qui permettent de piéger ozone et ROS afin d'en limiter les impacts. Ce sont des systèmes enzymatiques complexes, qui utilisent l'acide ascorbique et le glutathion (**Foyer & Noctor, 2005**).

Ces dispositifs n'ont pas tous la même efficacité d'une espèce, voire même d'une variété à l'autre. Ceci explique en partie pourquoi certains végétaux tolèrent mieux l'ozone que d'autres (**Conklin & Barth, 2004**).

Malheureusement, même chez les espèces les plus tolérantes, l'efficacité de ces systèmes est limitée et en cas d'exposition à des niveaux d'ozone élevés, ils ne permettent pas d'éliminer tous les ROS qui se forment à l'intérieur des feuilles.

Les impacts physiologiques qui en résultent sont très nombreux : la présence de ROS dans les espaces intercellulaires, sous forme dissoute dans la solution apoplasmique, est perçue comme un signal qui déclenche des réponses multiples à l'échelle tissulaire (**Vaultier & Jolivet, 2015**).

Celles-ci font intervenir plusieurs voies de signalisation impliquant des molécules comme l'éthylène, l'acide jasmonique, l'acide salicylique ou encore l'acide abscissique. Ces voies de signalisation, en interaction les unes avec les autres, induisent l'expression des gènes responsables de processus comme la mort cellulaire programmée (PCD : Programmed Cell Death), la sénescence accélérée des tissus ou la destruction des cellules par autophagie.

Bien que l'ensemble de ces mécanismes soient très étudiés, il n'est pas encore possible de savoir prédire a priori quelles voies de signalisation vont s'exprimer ni quelles réponses physiologiques seront observables sur une plante donnée après une exposition donnée.

On sait cependant que la nature des réponses observables peut dépendre de la concentration en ozone à laquelle la plante est exposée.

Les nécroses foliaires induites par la PCD ne sont observées chez la plupart des espèces végétales qu'en réponse à de forts niveaux d'exposition (Concentrations le plus souvent supérieures à 150 ppb) et apparaissent en quelques heures. Ce sont des réponses de type aigües, que l'on observe finalement assez rarement dans nos régions.

Plus généralement, les réponses sont de type chronique. Elles se manifestent après plusieurs jours d'exposition à des concentrations moins élevées (de l'ordre de 40 à 100 ppb selon les espèces), et se traduisent par l'apparition de lésions moins caractéristiques et par l'accélération de la sénescence des tissus.

La conséquence principale de ces perturbations physiologiques, notamment de l'accélération de la sénescence, est une réduction significative de la photosynthèse. Celle-ci s'explique généralement par la diminution de la concentration et de l'activité de l'enzyme Rubisco ainsi que de la teneur en chlorophylle des feuilles.

En cas de réponse aigüe, les nécroses foliaires peuvent représenter jusqu'à 20 % de la surface de la feuille, ce qui réduit d'autant la surface capable de maintenir une activité photosynthétique.

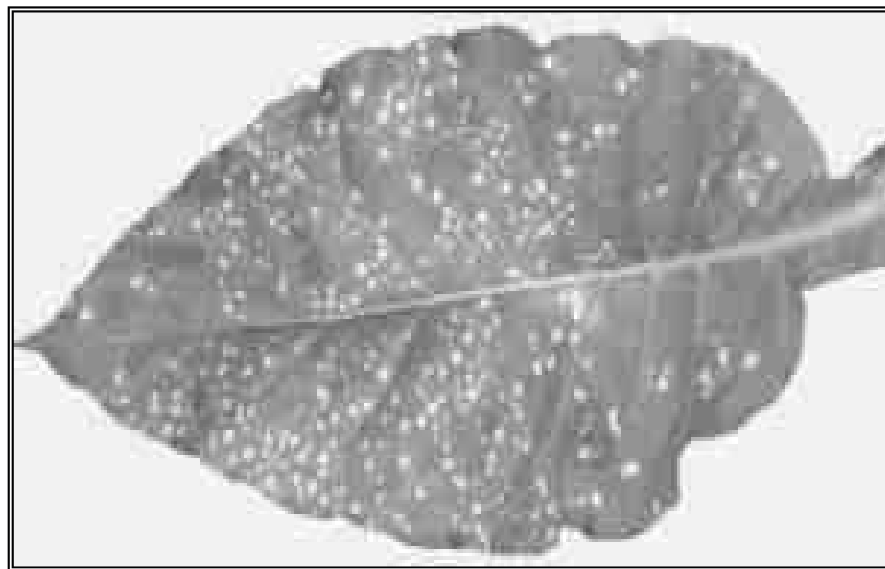


Figure 11 : Nécroses foliaires sur une feuille de tabac (*Nicotiana tabacum*, cultivar Bel W3) induites par mort cellulaire programmée (PCD) quelques heures après une exposition à l'ozone.

Sur cette photo, les nécroses couvrent environ 10% de la surface de la feuille.

D'autre part, la mise en place des systèmes de détoxication, le coût énergétique de la réparation des tissus endommagés et l'accélération de la sénescence ont pour effet d'accroître les pertes respiratoires des végétaux.

Ainsi, au final, le bilan de la réduction de photosynthèse (Fixation du CO₂ atmosphérique) et de l'augmentation de la respiration (Emission de CO₂) se traduit par une diminution de la production de matière sèche des végétaux (**Dizengremel, 2001**).

Enfin, chez beaucoup d'espèces, la façon dont les plantes répartissent leur biomasse entre leurs différents organes peut être affectée par l'ozone. En général, c'est la masse des organes reproducteurs (Fruits et graines) qui est pénalisée par rapport aux autres organes (**ICP Vegetation, 2003**).

III-2-Mécanismes d'action de l'ozone à l'échelle cellulaire

III-2-1-Diffusion dans les tissus foliaires

Le transfert entre l'atmosphère et la végétation des polluants gazeux tels que l'ozone s'opère principalement par transfert turbulent, les processus moléculaires n'intervenant qu'à une distance inférieure à 1 mm des surfaces (**Fowler et al., 1999**). Les mouvements de turbulence dans les couches d'air proches de la surface terrestre proviennent de la traînée de frottement associée à cette surface.

Les couverts forestiers, qui forment des surfaces très irrégulières, génèrent une traînée de frottement importante, ce qui amplifie l'effet de turbulence.

Le taux de transfert turbulent entre l'atmosphère et les forêts est ainsi dix fois supérieur à celui observé au dessus des couverts plus réguliers (Prairies, champs), ce qui fait des forêts un puits de dépôt important pour les polluants atmosphériques (**Fowler et al., 1999**).

Lorsqu'un mouvement turbulent de l'air amène l'ozone à proximité de la surface foliaire, la première résistance rencontrée est la résistance relativement faible de la couche limite, qui varie en fonction de la surface de la feuille et de l'agitation de l'air (Vent, turbulence). Avant de pénétrer dans les tissus foliaires, l'ozone rencontre ensuite deux résistances en dérivation, la résistance associée à la cuticule et celle associée aux stomates (Figure 10). La cuticule représente une barrière quasi absolue à la diffusion des gaz (**Müller & Riederer, 2005**).

In vitro, les cires épicuticulaires se montrent ainsi particulièrement résistantes à l'ozone (**Jetter et al., 1996 ; Vanhatalo et al., 2001**) et le flux à travers la cuticule est en conditions naturelles au minimum 10 000 fois plus faible que le flux stomatique (**Kerstiens & Lendzian, 1989**).

Par conséquent, la diffusion de l'ozone dans les tissus foliaires repose presque exclusivement sur les échanges gazeux stomatiques ;

Malgré la masse moléculaire supérieure, et donc la diffusivité plus faible, de l'ozone par rapport à la vapeur d'eau, le polluant diffuse sans difficulté dans la cavité sous-stomatique.

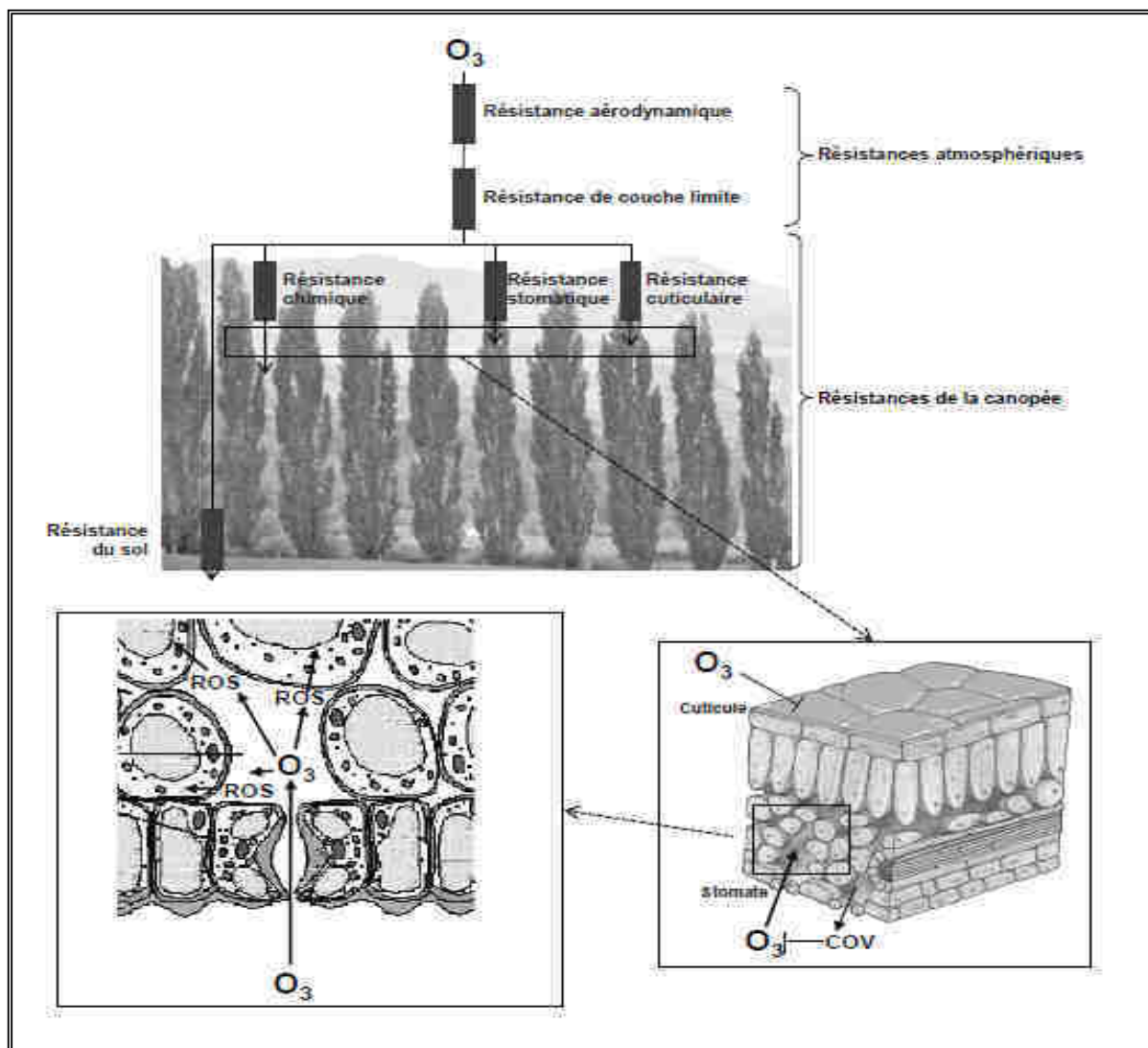


Figure 12 : Diffusion de l'ozone depuis l'atmosphère jusqu'au mésophylle.

III-2-1-1-Réponses cellulaires à une exposition chronique

Le développement de lésions foliaires nécrotiques est généralement associé à une exposition aiguë à l'ozone. Une exposition chronique à des niveaux modérés d'ozone est néanmoins capable de causer un ensemble d'effets négatifs sur la physiologie de l'arbre.

Ces effets proviennent d'une part de dommages oxydatifs directs et d'autre part de modifications de l'expression des gènes en réponse à des signaux transmis notamment par les ROS. S'il est difficile de discerner la part respective de ces deux modalités, la régulation de l'expression des gènes joue sans doute un rôle essentiel dans la réponse cellulaire à l'ozone, comme en témoigne la stimulation de la transcription de gènes codant pour des enzymes

participant au métabolisme secondaire (PAL, SHDH, STS, PMT, CHS), au catabolisme (PEPc) ou à la détoxification (APX, GST).

La modulation de l'expression des gènes en réponse à l'ozone met en jeu plusieurs voies de signalisation possibles, comportant chacune un récepteur et un médiateur du signal associé à la présence d'ozone (Baier et al., 2005). Ces différentes voies peuvent fonctionner simultanément et en interconnexion, ce qui rend la compréhension de ces mécanismes d'autant plus difficile.

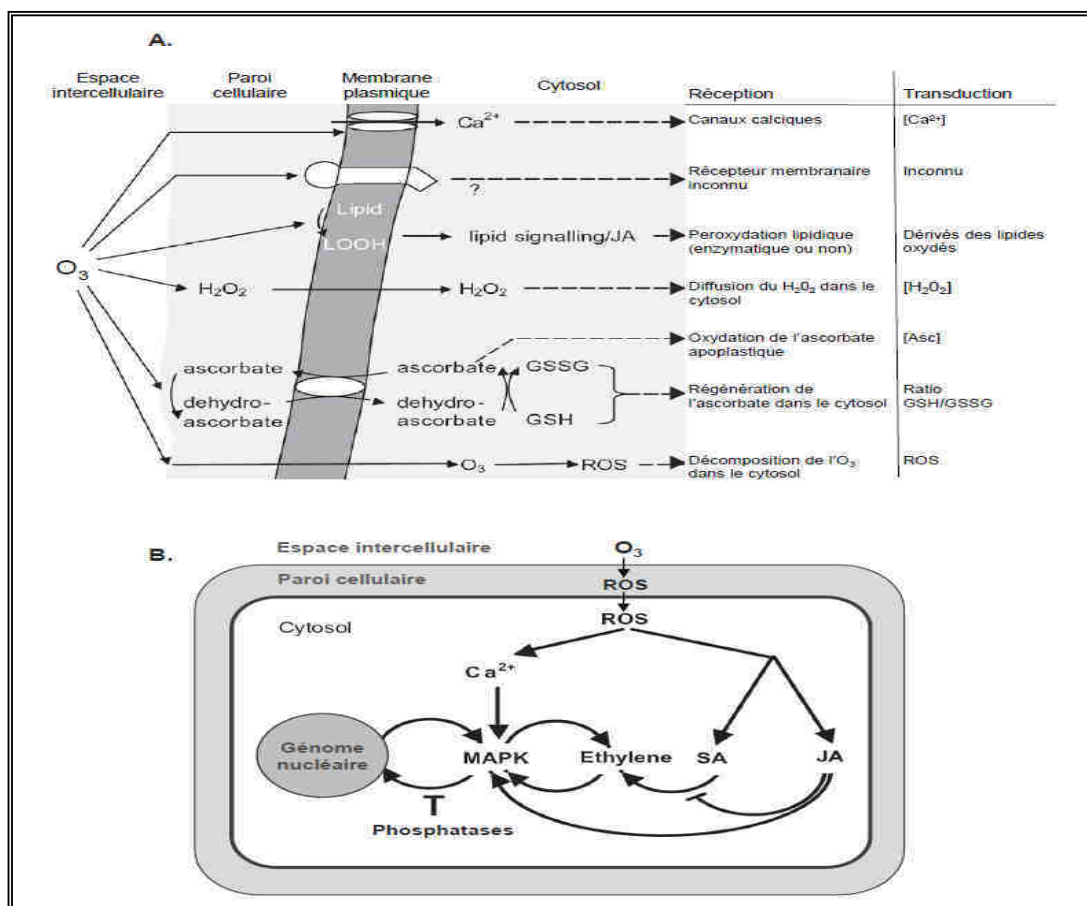


Figure 13: A. Voies potentielles de signalisation cellulaire associée à la présence d'ozone dans l'apoplasme. **B.**

Rôles et interactions possibles des ROS, des hormones, des MAP kinases et des phosphatases lors de la transduction du signal *ozone* vers le génome nucléaire.

III-2-1-2-Réactions dans l'apoplasme

Dans l'apoplasme, les processus moléculaires deviennent prépondérants et l'ozone peut s'y décomposer selon trois modalités. Il peut d'abord réagir en phase gazeuse avec des composés émis par la plante comme l'éthylène, le monoxyde d'azote ou des composés organiques volatils. Parmi les COV, l'isoprène est émis par la plupart des arbres et se montre particulièrement réactif vis-à-vis de l'ozone (Sharkey & Yeh, 2001).

En éliminant une partie de l'ozone avant que celui-ci n'entre en contact avec les tissus, l'isoprène pourrait jouer un rôle antioxydant (Loreto et al., 2001), dont le bénéfice semble atténué par les coûts métaboliques importants associés à sa biosynthèse et l'implication des COV dans la formation de l'ozone troposphérique (Fiscus et al., 2005).

Des travaux récents renforcent néanmoins l'hypothèse d'un rôle bénéfique de l'isoprène dans la résistance des plantes à l'ozone (Loreto & Fares, 2007). La réactivité des monoterpènes, COV majoritairement émis par les céréales, vis-à-vis de l'ozone a été moins étudiée mais des analogies sont possibles (Fiscus et al. 2005).

L'éthylène et le monoxyde d'azote émis sont tous deux capables également de réagir avec l'ozone, mais leur faible taux d'émission leur confère un rôle dans la signalisation plutôt que dans la détoxification directe. Si la concentration des composés volatils n'est pas suffisante pour éliminer la totalité de l'ozone, ce dernier réagit en phase liquide au niveau de l'interface entre espaces intercellulaires et paroi cellulaire, dans la paroi cellulaire elle-même et au contact de la membrane plasmique.

La réaction de l'ozone avec diverses molécules de l'apoplasme (Eau, protéines, cellulose, etc.) entraîne la formation de ROS qui peuvent à leur tour attaquer la membrane plasmique. L'action antioxydante de l'ascorbate, présent à des concentrations appréciables dans l'apoplasme, contribue en grande partie à la capacité de détoxification de ce compartiment (Smirnoff & Wheeler 2000).

A ce titre, l'ascorbate est généralement considéré comme la première ligne de défense contre l'ozone (Polle et al. 1995). Si la capacité antioxydante apoplastique est dépassée, l'ozone et les ROS dérivées réagissent avec la membrane plasmique.

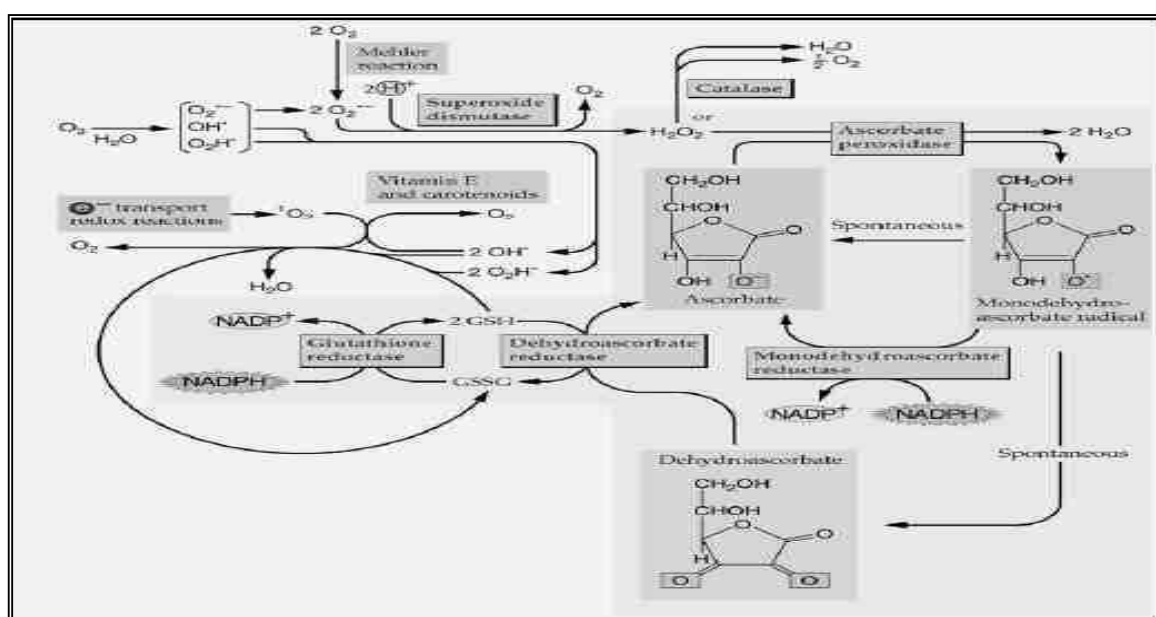


Figure 14: Système antioxydant cellulaire. (Polle et al. 1995)

Les espèces oxygénées réactives (ROS) dérivées de l’ozone (anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$, radical hydroxyle HO, radical perhydroxyle HO_2 et peroxyde d’hydrogène H_2O_2) et issues de la photochimie (Oxygène singulet 1O_2) sont pris en charge par des composés non enzymatiques (Ascorbate, glutathion, α -tocophérol ou vitamine E, caroténoïdes) et par l’activité de diverses enzymes (SOD, catalase, APX, MDHAR, DHAR, GR). Le cycle de Halliwell-Asada-Foyer figure en grisé dans la partie droite du schéma.

III-2-1-3-Stress oxydatif cellulaire

L’atteinte de la membrane plasmique, en particulier par la peroxydation des lipides polyinsaturés membranaires, constitue une étape critique de l’exposition à l’ozone pour la cellule. D’une part, cette étape initie la propagation du stress oxydatif vers l’intérieur de la cellule. D’autre part, elle représente le point de départ de plusieurs voies de signalisation potentielles. **(Baier et al., 2005).**

Dans leur ensemble, les effets physiologiques de l’ozone sur les plantes proviennent à la fois de la cytotoxicité directe des ROS et des réponses de la cellule déclenchées par les voies de signalisation faisant intervenir ces mêmes ROS. **(Foyer & Noctor, 2005).**

Dans le cytosol, le stress oxydatif généré par l’ozone est limité plus ou moins efficacement par le système antioxydant cellulaire, dont la principale composante est le cycle de Halliwell-Asada- Foyer **(Noctor & Foyer, 1998)**. Ce cycle débute dans l’apoplasme ou dans le cytosol par la réduction des ROS par l’ascorbate, lui-même oxydé en déhydroascorbate (DHA).

Dans le cytosol, l’ascorbate est régénéré par une enzyme, la DHA réductase, qui utilise le glutathion réduit (GSH) en tant que donneur d’électrons. Le glutathion réduit est à son tour régénéré par la glutathion réductase au prix de l’oxydation d’une molécule de NADPH issue des processus photochimiques et cataboliques. Le système antioxydant comprend de plus diverses enzymes capables de prendre en charge les ROS.

La superoxyde dismutase (SOD) catalyse la réduction de l’ion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) en peroxyde d’hydrogène (H_2O_2), lui-même réduit par différentes peroxydases (Catalase, ascorbate peroxydase, glutathion peroxydase) **(Pell et al., 1997)**.

Enfin, divers composés secondaires sont également capables de réduire les ROS : α - tocophérol (ou vitamine E), polyamines, xanthophylles.

Le système antioxydant dans son ensemble a pour fonction de maintenir le niveau de ROS sous un seuil de cytotoxicité. Si le rapport entre capacité antioxydante et ROS penche en la faveur de es derniers, l’équilibre redox est rompu et l’homéostasie de la cellule est menacée.

De plus, le fonctionnement du système antioxydant et la synthèse de ses composants, enzymatiques ou non, reposent pleinement sur la production d’énergie (ATP) et de pouvoir

réducteur (NAD(P)H) par le métabolisme cellulaire et implique des coûts métaboliques importants.

III-1-2-4-Déclenchement de la mort cellulaire

Chez certaines espèces, l'exposition à l'ozone conduit à l'apparition de symptômes foliaires sans que la photosynthèse ne soit touchée à l'échelle de la plante entière. Ces dommages visibles présentent l'aspect de tâches chlorotiques ou nécrotiques semblables aux lésions associées à la réponse d'hypersensibilité observée lors d'une réaction d'incompatibilité entre une plante et un pathogène (**Langebartels et al., 2002**).

Chez ces espèces, l'ozone déclenche un ensemble d'événements communs à la réponse d'hypersensibilité (HR): Induction d'un pic oxydatif apoplastique (Oxidative burst), accumulation de composés phénoliques, synthèse de protéines de type PR (Pathogenesis-related) et apparition de zones nécrotiques (**Overmyer et al., 2003**).

Le processus de mort cellulaire oxydative commun à la réaction d'incompatibilité plante / pathogène et à la réponse à l'ozone chez certaines espèces fait intervenir les ROS, le monoxyde d'azote, les dérivés de la peroxydation lipidique et des phytohormones (Acide salicylique et éthylène) dans une boucle d'amplification qui entraîne la propagation de la mort cellulaire, tandis que deux autres phytohormones (Acide jasmonique et acide abscissique) limitent quant à elles la progression du cycle. (**Kangasjärvi et al., 2005**).

Cette stratégie de la terre brûlée a pour but de restreindre le développement du pathogène dans les tissus foliaires. De plus, la réaction de type HR induit la mise en place d'une résistance locale et systémique (**Langebartels et al. 2002**).

Dans le cas de l'exposition à l'ozone, le bénéfice pour la plante de la formation de zones nécrotiques apparaît moins évident, si bien que l'on considère que l'apparition de symptômes de type HR en réponse à l'ozone résulte du déclenchement fortuit par le polluant d'un ensemble de processus dédiés normalement à la réponse à un stress biotique.

L'action de l'ozone est ainsi devenue un modèle d'étude de la mort cellulaire programmée chez les plantes (PCD) et de l'implication des ROS dans le déclenchement et la modulation de ce phénomène (**Rao et al., 2000**).

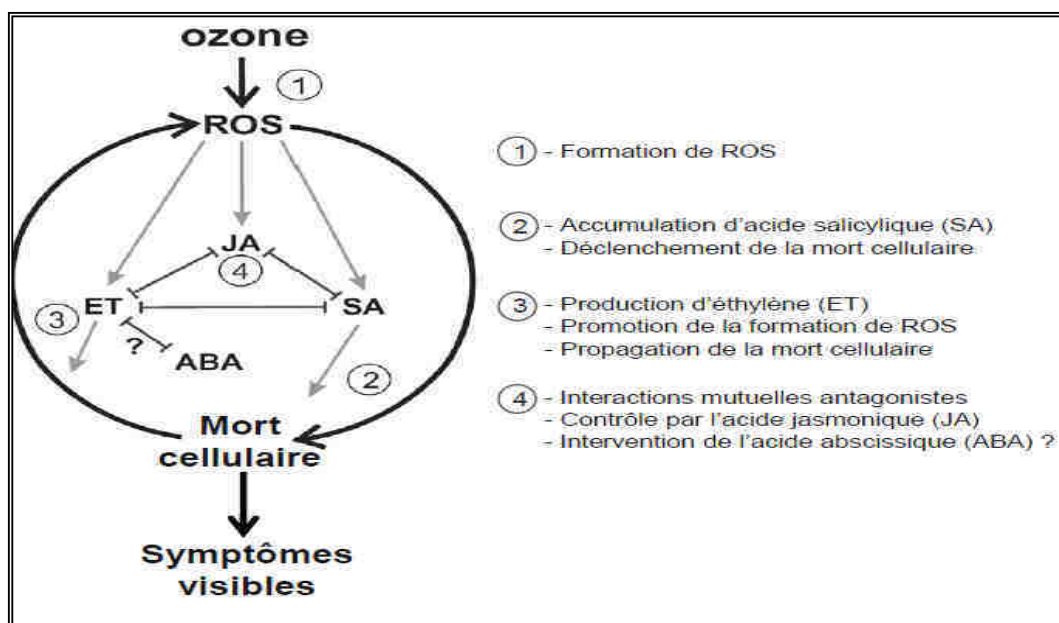


Figure 15 : Modèle du processus de mort cellulaire oxydative provoquée par l'ozone. Rôle des espèces oxygénées réactives (ROS) et des phytohormones.

III-1-2-5-Interactions avec d'autres facteurs environnementaux

En milieu naturel, les effets de l'ozone sur la végétation interagissent avec de multiples facteurs. De plus, l'augmentation à long terme de la concentration en ozone troposphérique s'inscrit dans le contexte de changements climatiques globaux.

III-1-2-6-Augmentation de la concentration en CO₂ atmosphérique

La hausse de la consommation de combustibles fossiles entraîne l'augmentation simultanée des émissions de CO₂ et des précurseurs de l'ozone (NO_x et COV). Depuis l'ère préindustrielle, la concentration en CO₂ dans la troposphère a augmenté de 35 % tandis que la teneur en ozone a presque doublé.

La teneur en CO₂ est ainsi passée d'environ 280 ppm avant l'ère industrielle à 380 ppm aujourd'hui et pourrait atteindre 500 à 1000 ppm en 2100 selon les différents scénarii de gestion des émissions (IPCC, 2007).

Chez les plantes en C₃, l'accroissement de la concentration en CO₂ stimule la photosynthèse tout en réduisant la conductance stomatique, ce qui entraîne une augmentation de l'efficacité d'utilisation de l'eau et de la productivité.

La plupart des expériences d'exposition simultanée aux deux polluants indique une atténuation des effets de l'ozone par le CO₂ élevé. (Saxe 2002, Fiscus et al. 2005, Wittig et al., 2007).

Concernant les arbres, les effets opposés des deux polluants ont notamment été observés en OTC pour le chêne, le hêtre, le pin sylvestre (Broadmeadow & Jackson, 2000), ou le

peuplier hybride (Gardner et al., 2005), ainsi qu'en système FACE (Free-Air CO₂ Enrichment) pour le tremble et le bouleau (Karnosky et al., 2003).

La protection apportée par l'enrichissement en CO₂ pourrait provenir de la stimulation de l'activité photosynthétique, qui permettrait de soutenir les processus de détoxification (Sehmer et al. 1998) et la synthèse de l'ascorbate. Néanmoins, l'effet positif du fort CO₂ sur le système antioxydant reste incertain. (Tausz et al., 2007)

La protection contre les effets de l'ozone paraît plutôt résulter de la réduction de la conductance stomatique en réponse à un ci élevé, ce qui limiterait la diffusion de l'ozone dans les tissus foliaires (Paoletti & Grulke, 2005).

Il faut cependant rappeler que la stimulation de la photosynthèse peut ne pas se maintenir sur la durée (Jacob et al., 1995) et que l'effet fertilisant du fort CO₂ varie selon les espèces, la fertilité du sol et l'âge des forêts, en ce sens, certaines expériences ont montré des effets négatifs de l'interaction entre les deux polluants (Karnosky et al. 2007).

A long terme, la hausse de la concentration en CO₂ ne pourra limiter les effets négatifs de l'ozone que si l'impact positif du fort CO₂ se maintient sur la durée, ce qui reste à démontrer (Paoletti & Grulke 2005).

En termes de gestion des émissions et de protection des écosystèmes, il convient plutôt de considérer que l'augmentation de la concentration en ozone troposphérique est susceptible d'annuler tout bénéfice potentiel de la hausse de la concentration en CO₂.

En particulier, les effets négatifs de l'ozone sur les arbres forestiers compromettent la capacité de séquestration du carbone par les forêts dans une atmosphère enrichie en CO₂ (Beedlow et al., 2004).

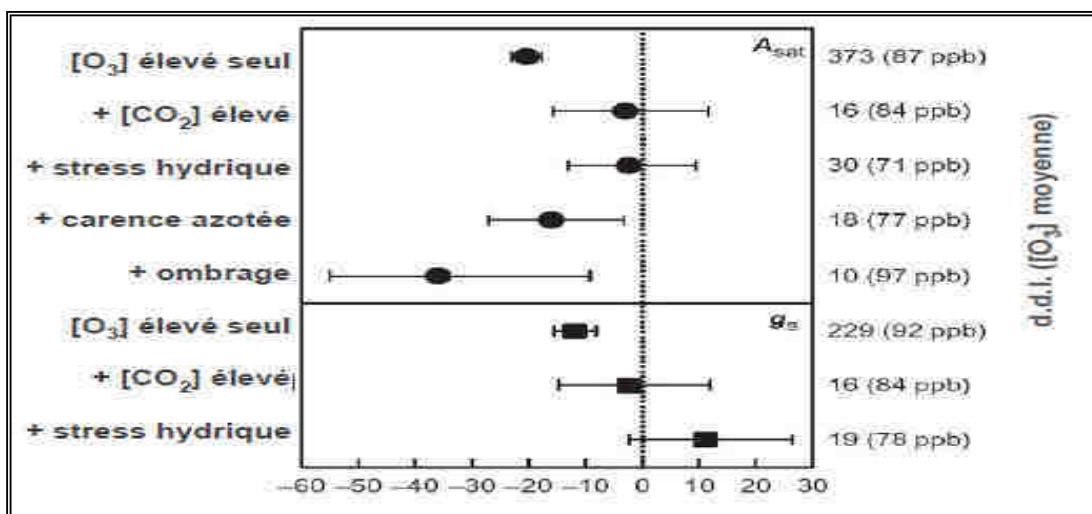


Figure 16: Effets d'une concentration élevée en ozone, seule ou en combinaison avec d'autres traitements, sur l'assimilation de CO₂ à intensité lumineuse saturante (Asat) et la conductance stomatique (gs) des arbres.

La réponse de ces deux paramètres est déterminée à partir du rapport moyen entre les valeurs rapportées pour les plants traités par rapport à celles mesurées pour les plants témoins.

Chaque point correspond au pourcentage de variation dans les plants traités par rapport aux plants témoins avec l'intervalle de confiance à 95% correspondant. La réponse au traitement est considérée comme significative si l'intervalle de confiance ne couvre pas l'axe des ordonnées.

Le degré de liberté (**ddl**) pour chaque valeur est indiqué à droite et la concentration moyenne en ozone associée est notée entre parenthèses.

III-1-2-7-Sécheresse

Dans la mesure où des températures élevées et un fort rayonnement solaire constituent des facteurs favorisant la formation de l'ozone troposphérique, les épisodes de sécheresse et de pollution à l'ozone sont souvent associés en milieu naturel.

A priori, l'interaction entre ces deux stress abiotiques apparaît simple : La fermeture stomatique induite par le déficit hydrique limite le flux d'ozone entrant dans les tissus foliaires et les dommages dus au polluant.

L'analyse proposée par (**Wittig et al., 2007**) semble corroborer cette présomption puisque l'effet négatif de l'ozone sur la photosynthèse est réduit pour les arbres soumis à un stress hydrique. De la même façon, l'épisode de sécheresse prolongée de 2003 en Europe aurait occulté les effets de l'ozone sur le hêtre (**Löw et al., 2006**).

Cependant, la réduction de la conductance stomatique ne peut pas expliquer à elle seule les effets observés sur le terrain et des interactions plus complexes apparaissent dans la plupart des cas.

L'ozone peut induire des effets directs sur les stomates et entraîne un ralentissement de leur capacité de réaction aux variations de l'environnement, ce qui affecte la capacité de la plante à contrôler ses pertes en eau et peut amplifier les effets du stress hydrique (**Paoletti & Grulke, 2005**). La mobilisation du système antioxydant étant une réponse commune à la sécheresse et à l'ozone, des mécanismes de protection croisée pourraient être envisagés.

Des épicéas soumis à un stress hydrique se sont ainsi montrés plus résistants à une exposition ultérieure à l'ozone (**Kronfuss et al., 1998**). Toutefois, des effets additifs des deux contraintes ont été relevés chez le sapin de Douglas et le peuplier.

Il est donc difficile d'établir si le stress oxydant associé au stress hydrique renforce la capacité de défense contre l'ozone en activant le système antioxydant, ou s'il contribue à l'affaiblir en exerçant une pression supplémentaire (**Tausz et al., 2007**).

De manière générale, les interactions entre ozone et sécheresse, qui affectent à la fois les stomates et le système antioxydant, sont complexes et dépendent en grande partie de la distribution temporelle des épisodes d'ozone et de sécheresse (**Matyssek et al., 2006**).

III-1-2-8-Dépôts azotés

À partir des années 1970, le dépérissement des forêts a attiré l'attention sur le phénomène des pluies acides et d'acidification des sols, dont les émissions sulfurées ont été identifiées comme principale cause. Des mesures de restriction de ce type d'émissions ont assez vite porté leurs fruits en Europe et en Amérique du Nord mais les phénomènes locaux de dépérissement des forêts ont persisté. Il s'est alors avéré que les dépôts azotés contribuaient de manière significative à l'acidification des sols à l'origine de ce phénomène (**Fowler et al., 1999**).

Les dépôts azotés (NH_x et NO_y) proviennent des émissions anthropiques issues de l'utilisation d'engrais synthétiques (NH_x) et de la combustion de carburants fossiles (NO_y) (**Felzer et al. 2007**).

L'intensification des activités humaines associées à l'agriculture intensive, aux transports et à l'industrie a provoqué une hausse considérable des apports en formes azotées assimilables par les organismes vivants.

Parmi les composés azotés (NH_x et NO_y) responsables de ce type de dépôts, les NO_y regroupent les oxydes d'azotes NO_x ainsi que les dérivés de son oxydation, tels que l'acide nitrique (HNO_3) et le nitrate de peroxyacétyle (PAN). Les NO_x , qui contribuent à plus de la moitié des dépôts azotés, participent à la formation de l'ozone, si bien que la distribution géographique des deux types de polluants est assez proche.

Un traitement au dioxyde d'azote (NO_2) seul stimule la croissance de plants de blé, de radis et de haricot, mais lorsqu'il précède un traitement à l'ozone, les effets négatifs de l'ozone sont amplifiés pour le blé et le radis, et atténués pour le haricot (**Runeckles & Palmer 1987**).

On estime que l'effet positif des NO_x sur la croissance des végétaux provient de la fertilisation du sol, mais l'assimilation du NO_2 par les stomates peut entraîner des effets physiologiques plus directs. Ainsi, des plants de tabac exposés au NO_2 affichent un doublement de nombreux paramètres de croissance (Biomasse, surface foliaire, contenu en acides aminés, en protéines et en micro- et macroéléments) sans que l'azote provenant du NO_2 fumigé ne soit incorporé à la biomasse accumulée (**Takahashi et al., 2005**).

Dans ce cas, le NO_2 atmosphérique constituerait un signal de croissance. Dans d'autres expériences, le flux stomatique de NO_2 altère le contrôle stomatique des plants traités et donc leur capacité de gestion des pertes en eau (**Felzer et al., 2007**).

A ce titre, les dépôts azotés pourraient compenser les effets négatifs de l'ozone sur la croissance des arbres des forêts tempérées. La contribution de l'effet fertilisant des dépôts azotés à la capacité de séquestration du carbone repose sur la proportion de l'azote des NO_y assimilé et intégré à la biomasse. Même si cette proportion varie de (5%) (Nadelhoffer et al., 1999) à (13%) (Felzer et al., 2007), selon les modèles utilisés, l'effet fertilisant des dépôts azotés semble suffisant pour compenser les effets négatifs de l'ozone sur la capacité de séquestration des forêts tempérées.

III-1-2-9-Changement climatique global, ozone troposphérique et végétation

Plusieurs facteurs intervenant dans les changements climatiques actuels ont pour origine commune l'accroissement des émissions anthropiques de CO₂, d'oxydes d'azote et de COV.

Les oxydes d'azote, responsables de dépôts azotés, sont aussi à l'origine de la formation de l'ozone en association avec les COV. L'ozone troposphérique contribue, avec le CO₂ et le méthane, au forçage radiatif qui entraîne le renforcement de l'effet de serre et l'augmentation de la température de l'atmosphère.

Enfin, CO₂, ozone, dépôts azotés et température sont tous susceptibles d'affecter la croissance des végétaux. L'impact de l'ozone sur la végétation s'inscrit donc dans un contexte de changement climatique global caractérisé par l'interaction de multiples facteurs environnementaux.

Cependant, cette constatation mène souvent à considérer que l'impact des uns (CO₂, dépôts azotés) pourraient compenser celui des autres (Ozone), ce qui revient à minimiser la menace encourue par les écosystèmes.

Les données dont on dispose aujourd'hui montrent au contraire qu'une gestion mesurée des émissions anthropiques est impérative. Une telle gestion passe nécessairement par la modification du mode de vie des sociétés humaines dites développées.

III-1-2-10-Estimation des impacts sur les rendements des cultures et la productivité des écosystèmes

Tableau 01: Sensibilité à l'ozone des principales espèces cultivées et essences forestières (d'après Mills et al, 2007 ; ICP Vegetation, 2011, Ulrich et al, 2006)

Espèces sensibles à l'ozone	Espèces modérément sensibles à l'ozone	Espèces peu sensibles à l'ozone
Blé	Blé	
Soja	Soja	
Cotonnier	Cotonnier	
Haricots, Pois, fèves	Haricots, Pois, fèves	
Navet	Navet	Orge
Oignon	Oignon	
Laitue	Laitue	Fraisier
Tomate	Tomate	
Pin noir	Pin noir	Seigle
Mélèze	Mélèze	
Pin sylvestre	Pin sylvestre	Brocoli
Pin maritime	Pin maritime	
	Betterave	Epicéa
	Colza	
	Pomme de terre	Hêtre
	Tabac	
	Riz	Douglas
	Vigne	
	Chou	Erable
	Maïs	
	Luzerne	
	Chêne pédonculé	
	Bouleau	
	Platane	

La sensibilité à l'ozone est très variable d'une espèce à l'autre, et même entre variétés d'une même espèce. D'une façon pratique, sur la base de données expérimentale, on a classé les végétaux en trois catégories :

Ceux qui sont très sensibles à l'ozone, ceux qui le sont moyennement, et ceux qui semblent plutôt tolérants (Mills et al., 2007 ; ICP Vegetation, 2011, Ulrich et al., 2006)

Le degré de sensibilité à l'ozone des espèces prairiales ou sauvages est beaucoup moins connu que celui des cultures et des principales essences forestières.

Ces différences de sensibilité peuvent être expliquées principalement par des différences d'efficacité des systèmes de détoxification, ainsi que par des différences anatomiques :

Les espèces ou variétés à feuilles épaisses tolèrent mieux l'ozone que celles à feuilles fines, car la diffusion du polluant à travers les espaces intercellulaires y est moins facile (Bussotti, 2008).

Aujourd'hui, l'état des connaissances ne permet pas encore de regrouper l'ensemble des impacts physiologiques dans des modèles intégrés pour pouvoir prédire la réponse des plantes à l'ozone. Il n'existe d'ailleurs que très peu de modèles de culture intégrant les effets de l'ozone sur la production agricole ou forestière.

Ceux qui existent ont été conçus il y a plus de dix ans et ne concernent pratiquement que le blé (**Martin et al., 1995; Ewert et al., 1999; Lebard, 2005**). Ils n'intègrent d'ailleurs les effets de l'ozone que de façon plus ou moins empirique sur la photosynthèse et la sénescence.

Pour la majorité des espèces cultivées, nous ne disposons pour l'instant que d'outils empiriques, fondés sur des relations statistiques reliant des niveaux de rendements à des indicateurs d'exposition à l'ozone.

Ces indicateurs reposent sur l'hypothèse selon laquelle l'impact de l'ozone est d'autant plus important que la dose (Concentration $\times$ durée d'exposition) reçue par les plantes est élevée.

Ils prennent en compte le fait que les stomates de la plupart des végétaux se ferment pendant la nuit, et que les concentrations en ozone nocturnes n'ont donc pas d'impact.

Ils supposent également que les faibles teneurs en ozone n'ont pas d'effet, et qu'il faut dépasser un certain seuil pour observer des impacts. Ces indices sont exprimés sous forme de valeurs cumulées pendant toute la durée de la période d'exposition à l'ozone (ppb/heure).

En Europe, les données expérimentales (Blé principalement et épicéa) suggèrent un seuil d'une valeur de 40 ppb, uniquement pendant les heures de jour, c'est-à-dire quand le rayonnement solaire global (R_g) est supérieur à 50 W.m^{-2} . L'indice retenu est donc l'AOT40 (Accumulation over a Threshold of 40 ppb) (**Fuhrer, 1994**) :

$$AOT40 \text{ (ppb.h)} = \sum_{i=1}^n ([O_3]_i - 40) \text{ quand } [O_3] > 40 \text{ ppb et quand } R_g > 50 \text{ W/m}^2$$

- AOT₄₀ = Indice d'exposition (Accumulation over a Threshold of 40 ppb) (ppb.h) ;
- n = nombre d'heures d'exposition à l'ozone (h) ;
- [O₃] = concentration en ozone pendant l'heure i considérée (ppb).

Compte tenu de la relative imprécision de la méthode, les relations retenues pour exprimer les rendements en fonction des AOT40 sont de simples équations linéaires. Des synthèses regroupant les paramètres de ces équations ont été établies par (**Mills et al., 2007**) pour les plantes cultivées et par (**Karlsson et al., 2007**) pour les arbres.

Des fonctions plus génériques existent également pour caractériser la sensibilité des végétations naturelles à l'ozone à partir de l'AOT40 (**Van Goethem et al., 2013**).

Le défaut principal de ces relations dose-réponse vient de ce que l'AOT₄₀ ne tient compte que des concentrations de l'air en ozone, et non du flux d'ozone entrant dans les feuilles

par voie stomatique. Ainsi, en cas de conditions défavorables à l'ouverture stomatique, comme la sécheresse, cette méthode est inefficace.

C'est pourquoi un nouvel indice, le PODY (Phytotoxic Ozone Dose over a threshold of Y nmol.m⁻².s⁻¹) a été développé au cours des dix dernières années.

Il est fondé sur le calcul du flux d'ozone entrant dans les feuilles au moyen d'estimations de la réponse de l'ouverture stomatique aux facteurs de l'environnement, (**Emberson et al., 2000 ; Grünhage et al., 2012**).

Cet indicateur exprime les valeurs cumulées de la quantité de polluant qui entre dans les feuilles par les stomates et que les végétaux ne sont pas capables de détoxifier instantanément :

$$POD_Y \text{ (mmol.m}^{-2}\text{)} = \sum_{i=1}^n [(FO_3)_i - Y] \text{ quand } FO_3 > Y$$

- POD = indice « Phytotoxic Ozone Dose » (cumul des flux horaires, exprimé le plus souvent en mmol.m⁻²) ;
- Y = flux maximum que les végétaux sont capables de détoxifier (entre 0 et 10 nmol.m⁻².s⁻¹) ;
- FO3 = flux instantané d'ozone entrant dans les feuilles par les stomates (en nmol.m⁻².s⁻¹) ;
- n = nombre d'heures d'exposition à l'ozone.

Les relations flux-impact obtenues à partir des indicateurs de flux comme le PODY semblent plus performantes que les relations dose-impacts fondées sur les indicateurs de concentrations, comme l'AOT40 (**Mills et al., 2011**), mais le calcul des flux nécessite de disposer de données climatiques et d'état hydrique des sols, qui ne sont pas toujours disponibles.

De plus, l'indicateur PODY est encore très perfectible car les modèles d'ouverture stomatique peuvent encore être améliorés, tout comme ceux qui permettent de quantifier le partage du flux d'ozone absorbé par la végétation entre la fraction qui entre effectivement dans les feuilles et celle qui se dépose sur les épidermes ou le sol (**Lamaux et al., 1994**).

Enfin, il ne prend en compte que de façon très imparfaite la capacité des plantes de détoxifier une partie du flux d'ozone absorbé par voie stomatique (la valeur de Y est pour le moment considérée comme un simple paramètre, de valeur constante).

Les fonctions d'impact basées sur les PODY n'ont pour le moment été établies que pour quelques espèces, principalement sous les climats européens : Blé, pomme de terre, tomate, et plusieurs essences ligneuses (épicéa, hêtre, chênes, peuplier, bouleau, pin sylvestre et pin d'Alep). Elles ne sont donc pas encore utilisables pour des estimations nationales ou mondiales (**Avnery et al., 2013**).

Quelques tentatives ont néanmoins été faites à partir de fonctions d'impact plus génériques, dépendant des types de végétation, voire de biomes, développées pour les modèles globaux (**Felzer et al., 2005; Sitch et al., 2007**).

Néanmoins, il a été possible d'utiliser ces fonctions pour estimer les impacts de l'ozone sur les rendements du blé et de la tomate à l'échelle des 27 pays de l'union européenne plus la Suisse et la Norvège (**Mills & Harmens, 2011**).

Pour l'année 2000, il a été calculé que l'ozone est la cause d'une perte moyenne de rendement du blé de 13%, ce qui représente un coût global de 3,2 milliards d'euros.

Les pays les plus impactés sont la France, l'Allemagne, la Bulgarie, la Grande Bretagne et l'Italie.

Pour la tomate, les pertes sont évaluées à 9 %, soit un coût d'un peu plus d'un milliard d'euros. Les pays les plus touchés sont l'Italie, l'Espagne, la Grèce, la France et le Portugal. En ce qui concerne les forêts, le rapport estime que les pertes de stockage de carbone sont de l'ordre de 10%, mais il n'existe à ce jour aucun chiffrage des impacts économiques.

III-3-Applications en biosurveillance de la qualité de l'air

La biosurveillance végétale de la qualité de l'air peut être définie comme : «L'utilisation des réponses à tous les niveaux d'organisation biologique (Moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique, tissulaire, morphologique, écologique) d'un organisme ou d'un ensemble d'organismes pour prévoir et/ou révéler une altération de l'environnement et pour en suivre l'évolution » (**Garrec & Van Haluwyn, 2002**).

Nous avons vu que l'ozone est un polluant très réactif, qui ne s'accumule pas dans les plantes. Les méthodes de biosurveillance de l'ozone sont donc basées sur la bioindication : Il est possible de déduire la présence de concentrations en ozone potentiellement dommageables pour les végétaux dans l'atmosphère d'un lieu donné à partir de l'observation de ses impacts sur les plantes.

Il n'est pratiquement pas possible d'en déduire les concentrations en ozone dans l'air, la biosurveillance permet simplement de détecter des teneurs en ozone supérieures au seuil de tolérance des espèces choisies comme indicatrices.

L'indicateur le plus simple de ces impacts est la présence de nécroses foliaires induites par la PCD à la surface des feuilles, mais on peut également utiliser des indicateurs plus intégrés comme la production de biomasse, ou la masse des organes reproducteurs produits.

Dans le cas de la bioindication passive, il s'agit d'identifier une ou plusieurs espèces sensibles à l'ozone et bien représentées sur le territoire étudié (Le noisetier, ou le mélèze par exemple). A partir d'observations spatialisées de dégâts foliaires, on peut ainsi réaliser une

cartographie des impacts. Un suivi temporel est également possible mais difficile à interpréter (Sanz et al., 2002).

Ces difficultés d'interprétation résident dans le fait que les végétaux utilisés peuvent se trouver dans des conditions environnementales très différentes d'un site à l'autre. Ceci peut induire de fortes différences à la fois de dépôts d'ozone sur les couverts végétaux et de flux absorbé par voie stomatique au niveau des feuilles.

Dans le cas de la bioindication active, il s'agit de placer des plantes connues pour leur sensibilité à l'ozone en pots ou en containers en un ou plusieurs points du territoire (Appelés biostations), afin de réaliser une cartographie et/ou un suivi temporel des impacts observés.

D'une manière générale, en biosurveillance active, il est important que les conditions d'exposition des végétaux soient rigoureusement identiques d'un site à l'autre afin que les résultats obtenus puissent être comparés entre eux.

Les plantes, préalablement cultivées dans un air sain, sont toutes implantées sur le même substrat, et bénéficient d'un niveau d'alimentation hydrique optimal. Ceci permet d'optimiser et de normaliser le niveau d'ouverture stomatique des plantes disposées en différents sites, puisque seul l'environnement atmosphérique varie d'un site à l'autre.

Théoriquement, n'importe quelle espèce sensible à l'ozone peut être utilisée en bioindication active. Cependant, quelques systèmes biologiques, bien validés par de nombreuses études, sont maintenant utilisés de façon usuelle.

Le système le plus utilisé à l'heure actuelle est celui qui repose sur l'observation des nécroses foliaires sur les plants de tabac (*Nicotiana tabacum* L.) de la variété Bel W3.

Il existe une norme française (norme AFNOR X95-900) qui précise la façon de concevoir une biostation qui permette d'exposer de façon normalisée les plants de tabac de cette variété à l'air ambiant. La variété Bel W3 est une variété d'origine américaine, créée par les sélectionneurs pour sa grande sensibilité à l'ozone (Heggstad, 1991).

Sur cette variété, des nécroses foliaires apparaissent dès que les niveaux d'ozone dans l'air ambiant dépassent un seuil que l'on peut estimer à 20-30 ppb, ce qui est très bas. Il faut donc cultiver les jeunes plants dans une serre, à l'abri de l'ozone, pendant quelques semaines, jusqu'à ce qu'ils aient 04 à 05 feuilles, puis les placer en biostation.

Pour éviter de confondre les nécroses induites par l'ozone avec des dégâts foliaires provoqués par d'autres causes (Pathogènes notamment), on expose également de jeunes plants de tabac de la variété Bel B, plus tolérante à l'ozone, et on considère que l'ozone est responsable des nécroses uniquement si celles-ci n'apparaissent que sur la variété sensible.

Compte tenu du fait que le processus impliqué est la PCD, les dégâts foliaires apparaissent très rapidement (de quelques heures à quelques jours).

Le système « Tabac Bel W3 » permet donc de caractériser les impacts potentiels d'une exposition de type « aigüe », à relativement court terme. Il impose de réaliser des observations fréquentes (hebdomadaires), et de renouveler les plants de tabac très régulièrement : dans l'idéal, le temps d'exposition est de l'ordre d'une semaine, ce qui nécessite de renouveler les plants de chaque biostation toutes les semaines. Il est possible de relier l'intensité des dégâts foliaires observés à des indicateurs d'exposition comme l'AOT₄₀ ou le PODY (**Castell et al., 2002**).

Un autre système couramment utilisé est celui d'une espèce légumineuse, le trèfle blanc (*Trifolium repens* L., variété « Regal ») (**Heagle et al., 1995**). Le principe est identique à celui de l'utilisation des variétés de tabac "Bel W3" et "Bel B" : on dispose aujourd'hui de deux écotypes de la variété "Regal" de trèfle blanc, dont la croissance répond de façon similaire aux facteurs climatiques, mais pas à l'ozone. L'écotype "NC-S" est sensible à l'ozone (sa croissance est fortement ralentie en présence du polluant) alors que l'écotype "NC-R" est plus résistant à l'ozone.

Il est possible de les utiliser de la même façon qu'avec le système tabac "Bel W3", en estimant l'impact d'une exposition « aigüe » à travers les niveaux de dégâts foliaires observés sur les feuilles. Le seuil d'apparition des dégâts foliaires est cependant plus élevé que celui du tabac Bel W3, de l'ordre de 30-40 ppb (**Pihl Karlsson et al., 2004**). On peut également les utiliser pour estimer les impacts d'une exposition « chronique » de plus long terme en calculant le rapport "NC-S/NC-R" des biomasses produites pendant les 3 ou 4 semaines qui séparent deux coupes. Il est alors également possible de relier l'évolution de ce rapport à un indicateur d'exposition tel que l'AOT₄₀ ou le PODY (**Pihl Karlsson et al., 2003**).

Enfin, le système le plus récent repose sur la sensibilité à l'ozone d'une autre légumineuse, le haricot (*Phaseolus vulgaris* L.).

En croisant la variété Oregon-91 (Sensible à l'ozone) avec la variété Wade (plus tolérante), les généticiens de l'université de Caroline du Nord ont obtenu une population de plantes présentant une très large variabilité de sensibilité à l'ozone.

Deux lignées particulières ont été obtenues à partir de cette population : "S156", une lignée particulièrement sensible à l'ozone et "R123", une lignée très tolérante à l'ozone (**Burkey & Eason, 2002**).

Une première tentative en conditions contrôlées a montré que l'on pouvait utiliser ces plants pour la biosurveillance de l'ozone. (**Burkey et al., 2005**)

En l'absence de polluant, les deux génotypes produisent des gousses de masses sensiblement identiques, alors qu'en présence d'ozone, à des niveaux voisins (autour de 50 ppb),

la masse des gousses produites par le génotype sensible est deux fois plus faible que celle du génotype résistant.

De façon analogue au système développé pour le trèfle, le rapport des biomasses de gousses produites par chacun des génotypes peut être un bon indicateur de l'impact de l'ozone sur la végétation.

Le tableau 02 : Illustre les caractéristiques de ces trois systèmes bioindicateurs. Leur utilisation combinée permet de décrire les impacts potentiels de l'ozone sur les végétaux : l'observation de dégâts foliaires traduit des effets « aigus » potentiels sur les espèces les plus sensibles et montre l'impact d'expositions à court terme, alors que la caractérisation d'une réduction de la production de biomasse de feuilles (chez le trèfle) ou de gousses (chez le Haricot) est représentative des effets chroniques, obtenus à moyen terme (pour le trèfle) ou à long terme (pour le Haricot), et voisins de ceux que l'on observe chez les plantes cultivées.

Cependant, bien qu'il soit possible de relier les impacts observés sur ces espèces bioindicatrices à des indices d'exposition comme l'AOT40 ou le PODY, ces systèmes de biosurveillance n'ont pas une très grande valeur prédictive pour estimer les impacts sur les cultures ou les écosystèmes.

Leur usage est donc généralement limité à la caractérisation de la variabilité spatiale et temporelle des impacts potentiels.

Tableau 02: Caractéristiques et conditions d'utilisation des trois principaux systèmes bioindicateurs de l'ozone.

Système biologique	Type de réponse	Seuil de sensibilité	Durée d'exposition	Indicateur
Tabac « Bel » (Bel W3 et Bel B)	Aigüe (PCD) nécroses foliaires	20-30 ppb	1-3 semaines	Pourcentage de surface foliaire nécrosée
Trèfle blanc « Regal » (NC-S et NC-R)	Aigüe (PCD) Nécroses foliaires	30-40 ppb	1-3 semaines	Pourcentage de surface foliaire nécrosée
	Chronique Croissance foliaire réduite	40 ppb	3-4 semaines	Rapport des quantités de matière sèche foliaire produites par les 02 génotypes (NC-S/NC-R)
Haricot (S156-R123)	Chronique Réduction de Production des gousses	50 ppb	1-3 mois	Rapport des poids secs des gousses produites par les 02 génotypes (S156/R123)

III-3-1-Intérêt et limites de la biosurveillance de l'ozone

La pollution de l'air par l'ozone peut avoir des impacts sensibles sur la production agricole et induire des conséquences économiques préjudiciables dans de nombreux pays. Le plus souvent, les impacts physiologiques de l'ozone ne sont pas spécifiques de ce polluant, mais du stress oxydant qu'il provoque. (Ademe, 2007)

Néanmoins, à condition d'utiliser des génotypes dont la sensibilité à ce stress est bien caractérisée, il est possible d'utiliser ces réponses pour la biosurveillance de l'ozone.

L'utilisation de plantes bioindicatrices ne permet pas de mesurer la qualité de l'air, mais elle donne une indication sur les impacts potentiels de cette qualité de l'air sur la santé des végétaux. Elle peut donc s'avérer utile pour apprécier la variabilité spatiale des impacts potentiels, ou évaluer l'efficacité des mesures de protection de la qualité de l'air au cours du temps.

La principale limite de la biosurveillance réside dans le fait que les données obtenues sont relatives, et que la relation entre les niveaux d'impacts observés (Comme le pourcentage de surface foliaire nécrosée) et les indicateurs d'exposition basés sur les concentrations en ozone dans l'air (comme l'AOT₄₀) n'est pas univoque.

En effet, la réponse physiologique des plantes dépend davantage du flux absorbé par voie stomatique que de la concentration en ozone de l'air, et les approches de biosurveillance doivent prendre en compte la variabilité induite par les variations d'ouverture stomatique. Ceci passe d'abord par la mise en oeuvre de conditions d'exposition standardisées visant à minimiser cette variabilité.

Ce n'est pas toujours suffisant, car les conditions météorologiques peuvent varier d'un site à l'autre, et il n'est pas possible de contrôler le microclimat local. Dans ce cas, il est recommandé de caractériser l'environnement climatique de chaque biostation (température, humidité, rayonnement solaire, vent).

III-3-2-Espèces végétales et protocole de bio-surveillance

La méthode de bio-indication végétale utilisée dans une étude nommée BIPA dans la région parisienne en mai 2017, repose sur l'utilisation de deux variétés de haricots (*Phaseolus vulgaris* L.) connues pour leur tolérance (R123) et leur sensibilité à l'ozone (S156). Cette méthode, décrite dans deux articles (Reinert & Eason, 2000 ; Burkey et al., 2005), est issue des travaux du PIC Végétation des Nations-Unies (ONU-CEE).

Les semences des haricots sont fournies par le PIC Végétation et leur protocole standardisé est appliqué pour la culture des plantes et la mise en oeuvre de la bio-surveillance.

Le suivi de ces bio-stations est essentiellement basé sur l'observation et l'analyse de nécroses foliaires (des symptômes typiques d'une exposition à l'ozone). L'ampleur des nécroses foliaires et leur évolution sont enregistrées de manière standardisée.

III-3-3-Niveaux d'exposition à l'ozone

Les données de concentration en ozone sont recueillies dans cette zone et l'indice l'AOT₄₀ d'exposition à l'ozone a été calculé. L'AOT₄₀ est déterminé en sommant les différences entre les moyennes horaires de concentration en ozone et une valeur fixe de 40 ppb, en annulant les termes négatifs (**Karenlämpi & Skarby 1996**).

L'utilisation d'un seuil minimal reflète la capacité de détoxification de la plante et permet d'éliminer les concentrations en ozone trop faibles pour induire des effets physiologiques.

Les résultats pour la période de 2009 à 2015 (**Figure 17**) montrent qu'en région parisienne l'exposition à l'ozone de la végétation a dépassé le seuil critique de 3000 ppb.h, au-dessus duquel (05%) de pertes en rendement sont attendus pour les espèces cultivées (**Mills et al. 2007**).

Au regard de ces données, une diminution du rendement en gousses est donc attendue pour la variété de haricot sensible (S156) en comparaison à la variété de haricot résistante (R123).

L'analyse rétrospective des concentrations en ozone montrent que des pics de pollution à l'ozone supérieurs à 80 ppb sont très rarement enregistrés sur la période 2009-2015.

L'apparition des nécroses foliaires sur la variété sensible devrait donc rester relativement rare. Le gradient attendu d'exposition à l'ozone, avec des niveaux croissants à mesure que l'on s'éloigne de la zone urbaine, est peu marqué.

Seule une station de mesure à Paris montre des niveaux d'exposition plus faibles que ceux enregistrés sur les autres stations, qui présentent des niveaux assez proches les uns des autres.

Afin de compléter les données d'Airparif un organisme de contrôle des paramètres de la qualité de l'air en France avec des mesures enregistrées au niveau des bio-stations elles-mêmes, des capteurs passifs d'ozone Gradko sont installés en 2015 de mai à septembre.

Les concentrations moyennes sont relativement faibles mais elles tendent à augmenter en fonction de la distance avec Paris, à l'exception de la bio-station des Hautes Bruyères qui se trouve à proximité d'un axe routier important ce qui limite les teneurs en ozone par excès d'oxydes d'azote.

Ce gradient reste cependant peu marqué. De plus, la méthode de mesure à l'aide de capteurs passifs, qui prend en compte l'ozone nocturne (qui n'a que très peu d'effets sur les plantes). (**ADEME, 2007**)

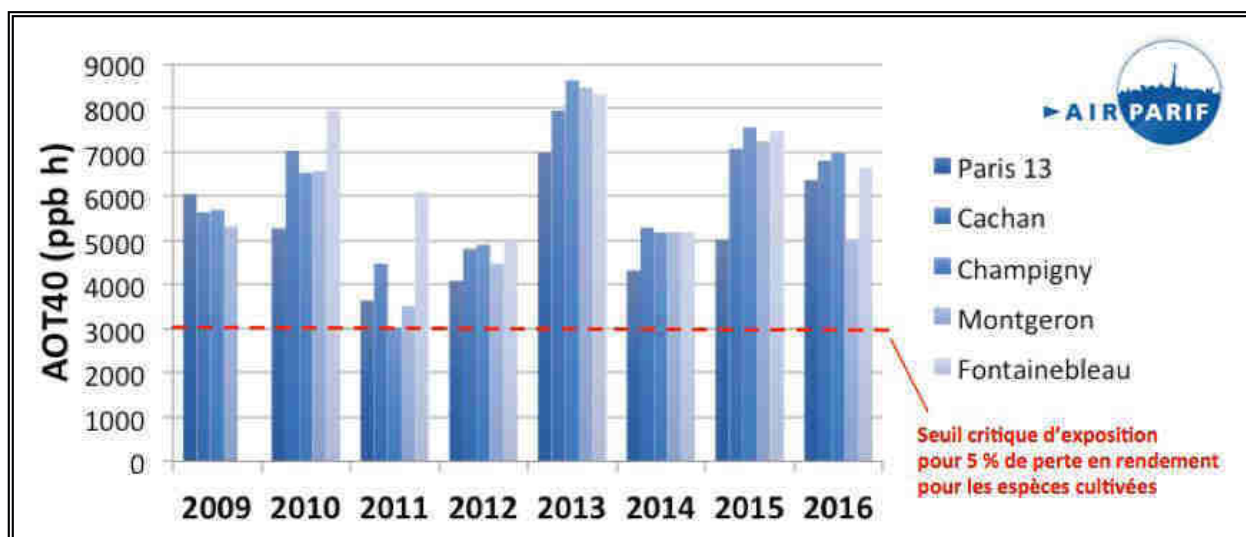


Figure 17 : Indice d'exposition à l'ozone pour la végétation (AOT₄₀) pour cinq stations Airparif (ADEME, 2007)

III-3-3-1-Bio-surveillance des épisodes de pollution forte

En 2014, les concentrations moyennes horaire en ozone (données Airparif) pour région Île-de-France ne dépassent le seuil de 80 ppb d'ozone (seuil de détection du système bio-indicateur pour une exposition aigüe).

De façon concordante, aucun dommage foliaire visible (nécroses brun/noir), caractérisant un effet de l'ozone, n'a été observé sur la variété sensible de haricot (S156).

En 2015, des nécroses caractéristiques sont observés au début du mois de juillet sur les feuilles de la variété sensible (S156) au Parc des Lilas à Vitry-sur-Seine.

L'observation de ces symptômes coïncide avec un épisode de pollution à l'ozone mesuré en région Île-de-France du 30 juin au 4 juillet, épisode ayant déclenché le dispositif préfectoral d'information du public. La distribution spatiale de l'ozone, observée en Île-de-France au cours de cet épisode de pollution, montre que le département du Val-de-Marne n'a pas été exposé aux concentrations les plus fortes. (Ademe, 2007)

Pour autant, des symptômes caractéristiques sont observés sur le site Vitry-sur-Seine. Les stations Airparif situées à proximité du Parc des Lilas n'ont pas enregistré de teneurs dépassant les 80 ppb, ce qui suggère qu'une forte hétérogénéité spatiale peut exister à une échelle très fine dans la distribution des concentrations en ozone et des impacts dus à l'ozone.

L'absence de symptôme sur d'autres bio-stations du réseau BIPA tend à confirmer cette distribution hétérogène du polluant, que le réseau Airparif, avec sa résolution actuelle peut difficilement appréhender.

En 2016, la concentration en ozone a dépassé cinq fois la valeur cible pour la santé (> 60 ppb pour le maximum journalier de la moyenne sur 8h), avec un dépassement du seuil

réglementaire de recommandation et d'information (> 80 ppb en moyenne heure sur 1h) du 24 au 26 août 2016. Chacun des épisodes de pollution a pu être détecté par le système bio-indicateur du réseau BIPA. Aucuns symptômes foliaires n'ont été observés sur la totalité des bio-stations, ce qui met en évidence la forte hétérogénéité spatiale des concentrations en ozone.

III-3-3-2-Bio-surveillance de la pollution chronique par l'ozone

La méthode de bio-indication utilisée dans cette étude permet de mettre en évidence une exposition chronique à la pollution par l'ozone grâce au suivi des paramètres suivants :

- La teneur foliaire en chlorophylles ;
- Le rendement en gousses.

Chez la variété sensible de haricot (S156), la teneur foliaire en chlorophylles permet de révéler le début d'une sénescence foliaire précoce et/ou accélérée, qui est un effet connu d'une exposition chronique à l'ozone sur les espèces végétales sensibles (**Pell et al., 1997**).

En 2014, une seule mesure réalisée 15 jours après la floraison a montré que la variété sensible présentait une teneur en chlorophylles plus faible que celle de la variété résistante.

En 2015, deux mesures effectuées au moment de la floraison et 15 jours après la floraison indiquent que la teneur en chlorophylles a moins augmenté, voire pour certains sites a chuté plus rapidement, entre ces deux temps de mesure chez la variété sensible S156 comparé à la variété résistante R123. Des tendances similaires sont observées en 2016 mais sans différences significatives.

Le rendement en gousses est un paramètre intégrant, au cours d'une saison, les effets cumulés des différentes contraintes de l'environnement. Avec des conditions de croissance équivalentes (conditions climatiques, alimentation hydrique et minérale, etc.), une différence de rendement entre les variétés de haricot, sensible S156 et résistante R123, doit refléter les effets de l'ozone sur les composantes du rendement, principalement la photosynthèse.

En 2014, le rendement en gousses s'est révélé systématiquement inférieur pour la variété sensible S156 en comparaison à la variété résistante R123, avec des effets allant de -5 % pour le à Ivry-sur-Seine jusqu'à -20 % pour le à Valenton.

En 2015, des résultats plus contrastés sont observés, avec une diminution du rendement en gousses pour trois sites avec une diminution significative à Vitry-sur-Seine et une absence d'effet, voire une légère augmentation, pour les trois autres sites.

En 2016, un soin plus important apporté à l'entretien des cultures a permis d'atténuer les variations de rendement entre les sites d'exposition. Quatre des cinq sites étudiés en 2016 ont

montré une diminution du poids moyen d'une gousse chez la variété sensible S156 par rapport à la variété résistante R123, mais la perte de rendement s'est révélée modeste (-5 % à -15 %).

Concernant les plantes de haricots étudiées, les résultats chez la variété sensible (S156) en comparaison à la variété résistante (R123) mettent en évidence une exposition chronique à l'ozone, que l'on a pu révéler par la sénescence accélérée et la diminution du rendement en gousses. (Ademe, 2007)

Les résultats obtenus pour le rendement en gousses montrent une plus grande disparité inter-sites et n'ont pas pu rendre compte de l'exposition plus forte des années 2015 et 2016 en comparaison à l'année 2014.

En 2016, la réduction de la variabilité inter-sites n'a pas permis de mettre en évidence de manière plus claire une relation linéaire entre l'exposition à l'ozone et la perte de rendement.

Les résultats de l'étude BIPA confirment que l'exposition actuelle à l'ozone des cultures dans le département du Val-de-Marne pourrait causer des pertes de rendement d'environ 10 %.

Enfin, la teneur foliaire en chlorophylles mesurée dans l'étude BIPA, et en particulier ses variations observées autour de la période de floraison chez la variété de haricot sensible, apparaît être comme un indicateur fiable de l'exposition chronique à l'ozone.

III-4-Quelques recommandations en Bio-surveillance

Les résultats des trois campagnes, 2014, 2015 et 2016, montrent que la méthode de bio-indication utilisée dans l'étude BIPA avec des plants de haricots (S156 et R123) est un système bio-indicateur pertinent. Il a mis en évidence les épisodes de pollution constatés en juillet 2015 et en août 2016, ainsi que l'exposition chronique à laquelle les écosystèmes, et donc la population, sont soumis dans le département du Val-de-Marne.

Pour autant, des limites apparaissent dans l'exploitation d'un tel dispositif de bio-indication.

La première limite est la difficulté de mettre en oeuvre des conditions de culture optimales et surtout parfaitement homogènes d'un site à l'autre :

L'arrosage est un élément critique puisque la fermeture des stomates causée par un déficit hydrique limite l'entrée de l'ozone dans les tissus foliaires et donc l'impact du polluant sur la plante.

Un problème d'arrosage, surtout s'il précède un épisode de pollution, peut rendre inopérant le système bio-indicateur. En cas de difficultés pratiques à assurer un arrosage régulier des cultures (site reculé, accès difficile à l'eau, personnel peu informé), il sera recommandé sur chaque bio-station l'installation d'un dispositif d'arrosage automatique au goutte à goutte piloté par un programmeur (ou au moins l'installation de dispositifs d'arrosage retardé).

Le suivi de l'état phytosanitaire des cultures est un autre élément important du succès d'une campagne de bio-indication végétale, puisque les plants de haricots peuvent subir des dégâts ayant de multiples origines (dégâts causés par les pucerons, les limaces et les lapins).

Par cohérence avec la politique « zéro phyto » du département du Val-de-Marne, il sera recommandé de traiter les plants de haricot avec des produits utilisés en agriculture biologique (savon noir dilué contre les pucerons, granulés anti-limaces) et de les protéger avec l'installation de grillages. (**Ademe, 2007**)

De manière générale, l'information et l'implication des personnels en charge du suivi des cultures sont des facteurs essentiels de réussite d'une campagne de bio-surveillance.

La deuxième limite est de pouvoir apporter une information complémentaire aux données existantes (physico-chimiques) de surveillance de la qualité de l'air :

Avant d'étendre le réseau de bio-surveillance, les résultats obtenus sur un tel réseau pilote de bio-stations doivent être comparés aux mesures physico-chimiques dans l'air des concentrations en ozone. Les mesures physico-chimiques montrent en général des résultats ayant une sensibilité, une précision et une robustesse plus importantes (comparé aux mesures d'un système de bio-indication) mais sont encore très onéreuses et demandent un niveau de technicité plus élevé.

III-5-Perspectives en biosurveillance

La méthode de bio-surveillance mise en oeuvre a permis de mettre en évidence l'occurrence d'épisodes de pollution à l'ozone ainsi que l'exposition chronique des écosystèmes à la pollution de l'air (Notamment à l'ozone). (**Ademe, 2007**)

Le dispositif de bio-surveillance s'est montré un outil très efficace pour la sensibilisation du public à la problématique de la pollution atmosphérique et de ses conséquences sur le vivant.

Partie N°02
Etude Expérimentale

Chapitre : IV
Matériels et Méthodes

Chapitre IV : Matériels & Méthodes

IV-Problématique de la recherche

IV-1-Contexte scientifique local

L'unité de recherche stress végétatif, phytoprotection et pollution de l'air du laboratoire LANZA. s'attache à étudier les bases biologiques des interactions entre les facteurs de l'environnement et le fonctionnement de certaines espèces végétales.

Dans ce contexte, l'équipe de recherche se consacre à l'étude des impacts des facteurs environnementaux tels que l'ozone troposphérique sur les réponses morphologiques. L'utilisation des végétaux bioindicateurs d'ozone permet d'évaluer les doses et les concentrations d'ozone cumulées vis-à-vis les réponses des plantes en conditions d'exposition à l'air libre.

IV-2-Contexte scientifique global

IV-2-1-Modèle biologique

En plus de l'importance agronomique, l'Haricot et le Blé proposent un certain nombre d'avantages pour l'expérimentation : Croissance rapide a renforcé l'intérêt d'utilisation de ces derniers comme modèle biologique. Au sein de notre équipe, le choix du modèle biologique s'est porté sur des variétés d'Haricot (*Phaseolus vulgaris L.*).

Deux géotypes d'haricot [résistant (R123) et (S156) sensible à l'ozone], (**Burkey et al., 2005**), ces deux géotypes sont importées depuis le centre of Ecology and Hydrology UK par l'équipe de recherche responsable du programme (ICP), et une variété locale sélectionnée pour comparer la sensibilité. Aussi les variétés du blé utilisées dans cette expérience : (*Triticum durum L.*) nommé Semito et (*Triticum aestivum L.*) nommé Ain-abid, deux variétés utilisées pour explorer la sensibilité au cumul des concentrations en ozone ; Ces variétés particulières ont été testées par d'autres chercheurs, le cas de (**Castel JF, 2016**).

IV-2-2-Type d'exposition à l'ozone

Les études menées sur les effets de l'ozone sur les plantes mettent en jeu deux types d'exposition : **Aiguë** ou **chronique**. L'exposition aiguë consiste à appliquer une exposition plus rapide à l'extérieur pendant une période relativement courte, d'une durée de quelques jours.

Ce type d'expérience met en jeu des concentrations en ozone très rarement mesurées en milieu naturel mais se révèle précieux dans l'étude des réponses à court terme et des voies de signalisation associées. De tels protocoles sont particulièrement utilisés pour l'étude du phénomène de blessures sur la biomasse foliaires.

La concentration en ozone détecté est souvent basée sur un enrichissement modéré de l'air ambiant. La durée de la période d'exposition peut varier de quelques jours à plusieurs semaines à 60 ppb de cumules. C'est dans cette démarche que s'inscrit notre étude.

IV-3-Problématique scientifique

IV-3-1-Impact de l'ozone et développement foliaire

D'après les résultats de l'étude méta-analytique de (**Wittig et al., 2007**), les données publiées depuis trente ans sur l'impact de l'ozone ne permettent pas de considérer que l'âge des feuilles comme un facteur de variabilité de la réponse à l'ozone.

En effet, un grand nombre d'études individuelles indiquent une plus grande sensibilité à l'ozone des feuilles matures par rapport aux feuilles en expansion, mais cette différence s'observe parmi les feuilles d'une même saison de croissance.

D'après les observations au niveau des processus photosynthétiques (**Maurer et al., 1997**) ont de plus montré que des mécanismes de compensation pouvaient intervenir chez les feuilles jeunes. Dans ces deux études, la sensibilité des feuilles à l'ozone varie en fonction de leur âge mais aussi du niveau de fertilisation, les effets les plus forts étant relevés pour les végétaux carencés.

Les seuils critiques d'exposition au polluant pour la végétation sont déterminés en cumulant des moyennes horaires de concentration ou de flux sur une saison de croissance entière (**Paoletti & Manning, 2007**). Si la sensibilité des feuilles varie en fonction de leur phénologie, la période d'occurrence des épisodes d'ozone au cours de la saison de croissance doit être prise en compte.

Les indices de flux rendent compte en partie du développement foliaire en intégrant la conductance stomatique, mais d'autres facteurs peuvent expliquer la résistance plus importante des feuilles jeunes.

Dans notre travail, l'impact de l'ozone sur les réponses nécrotiques et le nombre de feuilles atteints par les nécroses ont été envisagés en relation avec le développement des feuilles. Pour cela, l'ensemble de la masse foliaires ont été considérés après l'exposition à l'ozone.

IV-3-2-Objectifs de la recherche

Le travail présenté dans cette thèse comporte deux objectifs principaux :

- Améliorer la compréhension des effets de l'ozone sur les réponses nécrotiques primaires en relation directe au développement foliaire ;
- Caractériser le comportement global l'établissement des relations entre la masse foliaire en réponse à différents cumules à l'ozone.

IV-4-Zone d'étude

Cette étude se déroule sur le campus Halouz Ahmed(Ancien appellation campus Karman) de l'Université de Tiaret, dans la ville de Tiaret, au nord-ouest de l'Algérie, sur les hauts plateaux occidentaux, entre la chaîne tellienne au nord et la chaîne de l'Atlas saharien au sud.

Tiaret est une petite ville d'environ 276 330 habitants selon le dernier recensement, située dans une région essentiellement agricole.

L'université est située à la périphérie est de la ville de Tiaret ($35^{\circ}23'12.8528''$ N ; $1^{\circ}20'57.0809''$ E). Le site est situé à 1080 m d'altitude, se caractérise par un hiver rigoureux, souvent accompagné de chutes de neige, avec une température moyenne de 12°C , ainsi que par un été chaud et sec avec une température moyenne de 38°C .

Les principales sources de pollution atmosphérique dans la région sont : Le potentiel du trafic routier, l'activité agricole et certaines activités industrielles.

IV-5-Expérience de biosurveillance

On prévoit qu'en raison du trafic routier incontrôlé et des émissions industrielles, combinés à un ensoleillement intense et à un climat chaud, cela favoriserait la formation de fortes concentrations d'ozone initialement. (Bang QH, 2012)

Les modèles de qualité de l'air prédisent que les concentrations d'ozone dans la zone sont significativement importantes. Ces concentrations ne sont pas systématiquement mesurées en Algérie.

Cependant, certaines mesures de concentration d'ozone ont été effectuées au cours de cette étude.

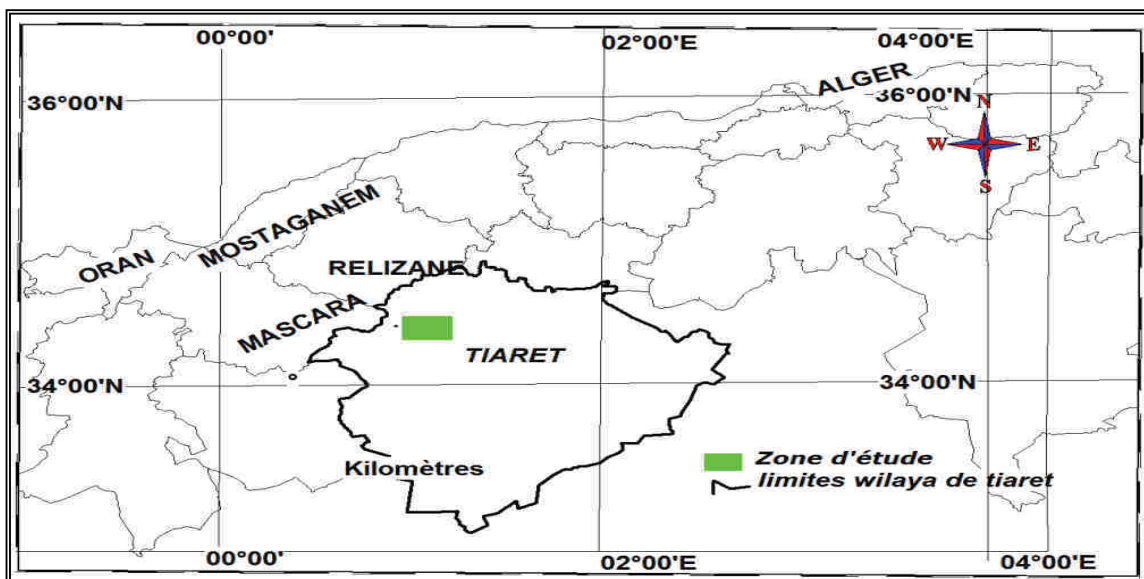


Figure 18: Localisation de l'expérience dans la ville de Tiaret. (Azzaoui, 2013)

IV-6-Génotypes et variétés utilisés dans l'expérience

Certaines espèces et variétés utilisées ont été sélectionnées en fonction de leur sensibilité connue à l'ozone, complétées par des variétés locales.

Deux génotypes de haricot ont été utilisés (*Phaseolus vulgaris* L). Le haricot résistant (R123) et le haricot sensible à l'ozone (S156) importées depuis ICP-CEH UK (Burkey et al., 2005), et une variété local ont été sélectionnés pour comparer leurs sensibilité.

Les deux variétés de blé utilisées dans cette étude sont les suivantes : (*Triticum durum* L) appelé Semito et (*Triticum aestivum* L) appelé Ain-abid. Ces variétés ont été testées pour explorer leur sensibilité à la concentration d'ozone. Ces variétés ont été testées par d'autres chercheurs (Castel JF, 2016).

IV-3-1-Conditions de culture

Les graines ont été plantées et cultivées dans une chambre de culture où la température et l'humidité relative étaient maintenues à (23) °C et 75 % le jour et à (20) °C et (85) % pendant la nuit, avec un photopériode de 10 h (8 h-17 h). Les plantes étaient irriguées manuellement chaque jour avec la même quantité d'eau.

IV-4-Exposition à l'air ambiant

L'exposition à l'air ambiant a commencé lorsque les plantes atteint une taille suffisante, c'est-à-dire lorsque les plantes sont a (03-05) feuilles pour l'haricot et le blé en phase de développement (Montaison).

À ce stade, les plants sont placés dans une chambre de culture à ciel ouvert. En raison du temps chaud, les plants ont été irrigués manuellement chaque jour.

Tableau 03: Espèces et variétés étudiées.

Espece / Varietie	Description	Origine	Sensibilité	Référence
<i>Phaseolus vulgaris</i> L	R123	ICP/CEH UK	Résistante	Burkey et al., 2005
<i>Phaseolus vulgaris</i> L	S156	ICP/CEH UK	Sensible	Burkey et al., 2005
<i>Phaseolus vulgaris</i> L	Haricot français	Local	Inconnue	/
<i>Triticum durum</i> L	Variété Semito	Local	Sensible	Castel JF, 2016
<i>Triticum aestivum</i> L	Variété Ain-abid	Local	Sensible	Castel JF, 2016



Figure 19 : Plan d'haricot (S156), (R123) et local en exposition dans la chambre de culture.



Figure 20 : Mise en place de l'expérience dans la chambre de culture (Essai de la germination).

Tableau 04 : Description des haricots testés dans l'expérience.

Désignation	Haricot Mgt Djedida
Poids net (g) :	500
Année de récolte :	2020
Date de fermeture :	12/2020
Germination :	85 %
Pureté :	99 %
Traitement :	Thrame
Origine	France
Lot N ^o :	G2005241

Les plantes ont été évaluées quotidiennement pendant la période d'exposition. Par souci de cohérence, les évaluations des plantes ont été effectuées entre 11 h et 13 h.

Les évaluations comprenaient le comptage des feuilles pour déterminer la proportion de feuilles présentant des symptômes nécrotiques et la quantification de l'étendue de la nécrose sur l'ensemble des feuilles.

Tableau 05: Fiche descriptive (Blé dur variété Sémito).

Variété	Sémito
Origine	Italie
Rendement	Elevé
Qualité semoulière	Très bonne
Teneur en protéines	15.80%
Poids de mille grains (PMG)	Elevé

Tableau 06 : Fiche descriptive (Blé tendre variété Ain-Abid).

Variété	Ain-Abid
Origine	Espagne
Rendement	Elevé
Qualité semoulière	Très bonne
Teneur en protéines	13.80%
Poids de mille grains (PMG)	Elevé



Figure 21: Germination de blé (blé tendre (*Triticum aestivum*) Variété AIN-ABID, et le blé dur (*Triticum durum*) Variété Semito) dans l'incubateur à 27 C°.



Figure 22: Implantation du blé (blé tendre et le blé dur) dans une Chambre de culture à ciel ouvert.

IV-7-Mesure de l'ozone

Des mesures quotidiennes de l'ozone troposphérique ont été effectuées à l'aide d'un capteur Cairsens CCB0100002695 (Cairsens® | Micro-capteurs | Ambient | Envea | Français).

Les résultats de concentration en ozone ont été obtenus à partir d'expériences d'exposition à l'air ambiant à proximité de la végétation.

IV-8-Évaluation des dommages causés par l'ozone

Les dommages causés par l'ozone sur certaines espèces se présentent sous la forme de lésions de couleur bronze qui se rejoignent progressivement pour couvrir de larges parties de la surface foliaire. Des évaluations hebdomadaires des dommages sont encouragées dans la mesure du possible. Si cela n'est pas possible, deux évaluations au minimum seront réalisées :

- Au début de la croissance (Lorsque 50 % ou plus des plantes sont en feuilles) ;
- Deux semaines après le début de la floraison. (**ICP Végétation, 2012**). Des planches guide pour la détermination du taux de nécrose(%) selon (**Castell JF ,2000**)

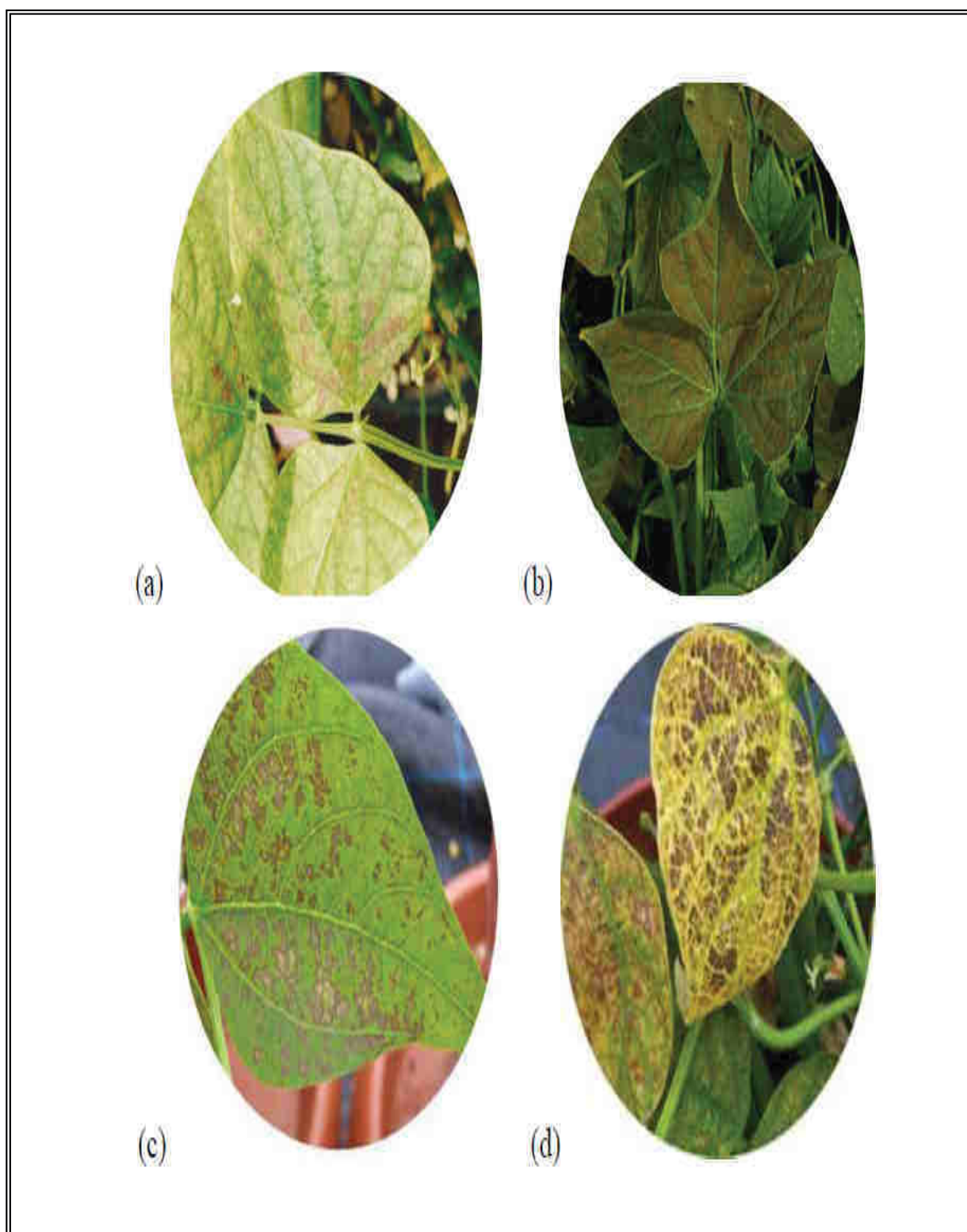


Figure 23 : Blessures due à l'Ozone sur un trifoliolé de *Phaseolus vulgaris* (a) a reçu comme 5-25% de la feuille blessés, (b) et (c) la feuille gravement endommagé (> 25% des blessures) et(d) la feuille sénescence (ICP-Végétation 2012).

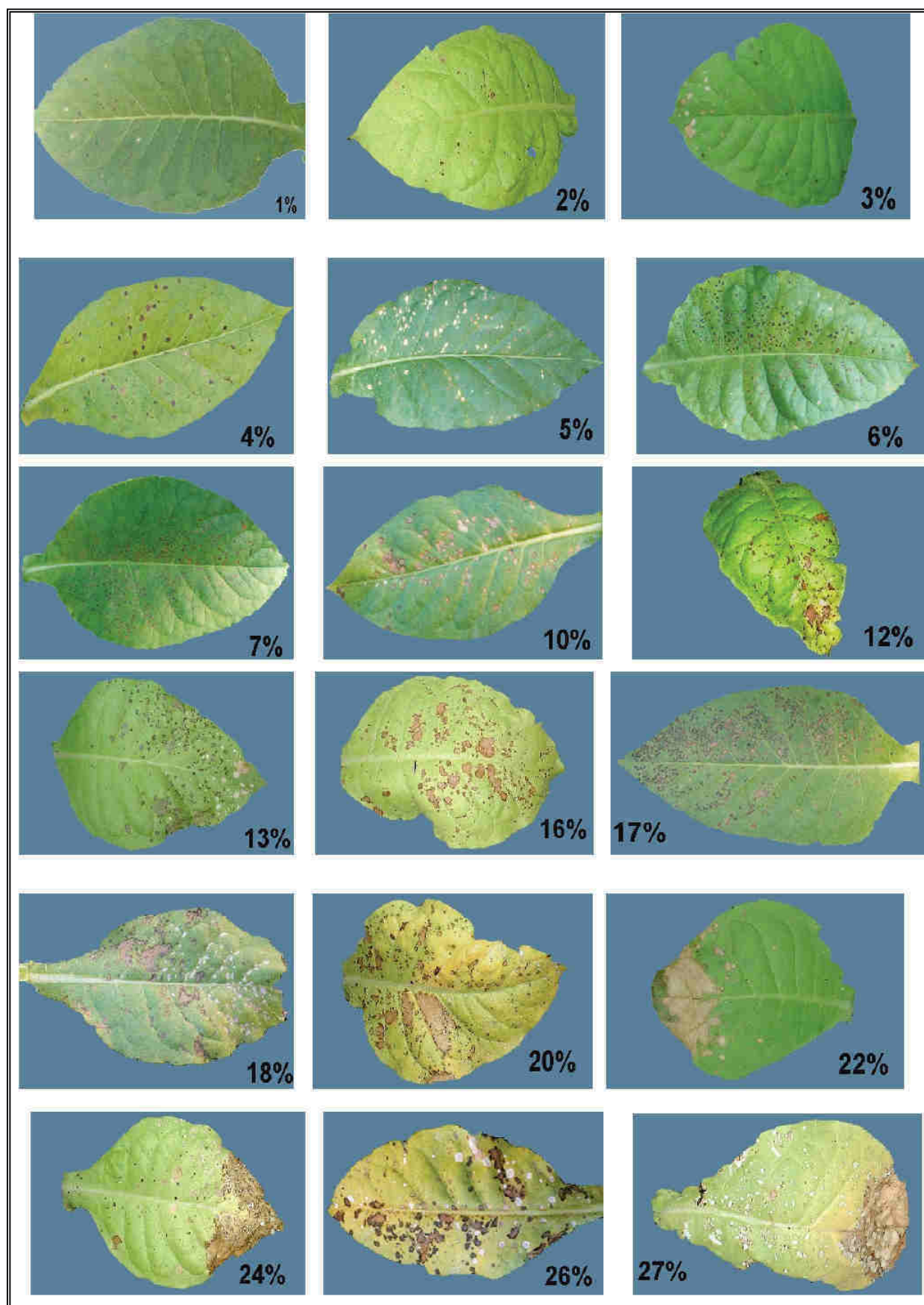


Figure 24 : Planche guide pour la détermination de pourcentage de nécrose (Castell, 2000).

IV-9-Analyse statistique

L'analyse des données a été réalisée à l'aide du programme Statistica 12.0 et les résidus du modèle ont été vérifiés pour vérifier la pertinence de chaque modèle. Les données relatives aux dommages foliaires et au pourcentage de nécrose foliaire ont été analysées séparément pour chaque année expérimentale.

Les réponses des dommages foliaires et du pourcentage de nécrose foliaire aux facteurs fixes de chaque période de l'année et à la concentration en $[O_3]$ (ainsi que leurs interactions) ont été explorées séparément à l'aide de modèles mixtes linéaires (**Pinheiro et al., 2017**), avec l'effet aléatoire de la réponse de la plante (%) et l'estimation du maximum de vraisemblance (%).

Les données relatives aux dommages foliaires et au pourcentage de nécrose foliaire ont été transformées par l'analyse linéaire.

Les résultats ont été analysés en jours et en années. La pertinence de l'inclusion d'un terme de corrélation autorégressif (AR) pour les mesures répétées a été déterminée par des graphiques et l'ajustement du modèle.

Chapitre : V
Résultats & Discussion

Chapitre VI : Résultats & Discussions

VI-1-Résultats des mesures des concentrations en Ozone [O₃]

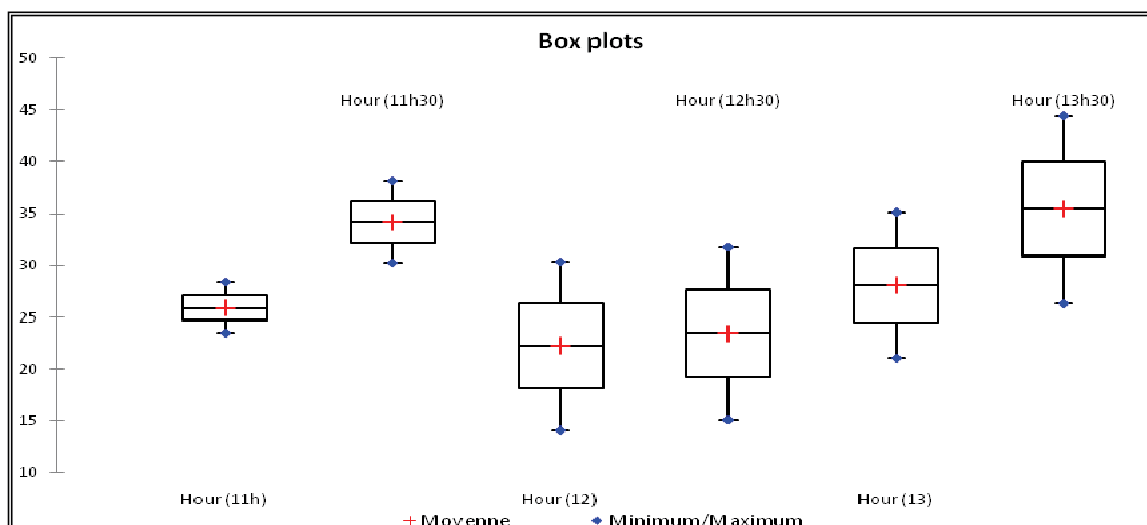


Figure 25 : Variabilité horaire des concentrations en ozone [O₃] durant la période (2016-2022).

La figure 25 présente les concentrations d'Ozone [O₃] entre 11 h 30 et 13 h 30, avec des moyennes comprises entre (22,01±8,72 ppb) et (34,86±4,14 ppb), dans la zone d'étude.

Différentes observations ont été réalisées en mois de juin entre 2016 et 2022, avec des fluctuations possibles selon la période d'observation. L'analyse des données peut montrer une certaine variabilité au cours des jours d'observation.

Les concentrations peuvent atteindre un maximum et un minimum de (28,36 ppb) (44,49 ppb) respectivement.

L'effet des cumules des concentrations en [O₃] figure 26, peuvent être manifestées par l'apparition des réactions nécrotiques sur les feuilles déclenchées dès les premiers jours d'exposition. Les mesures ont été faites en fonction des concentrations cumulée en [O₃].

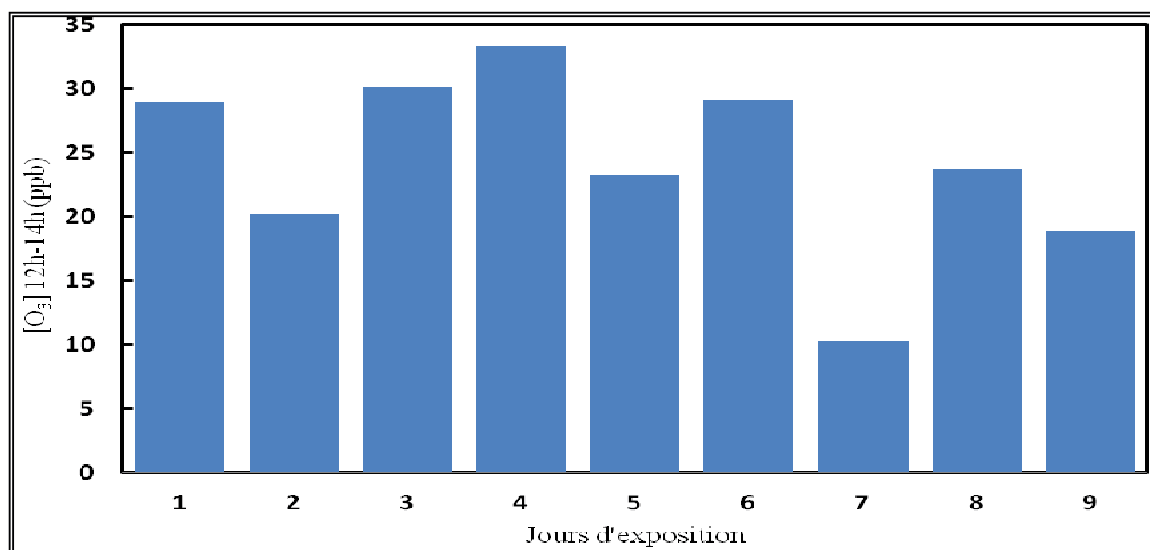


Figure 26 : Cumule des concentrations en Ozone [O₃] ppb durant les jours d'exposition.

VI-2-Analyse des réponses morphologiques et les cumules d'ozone pour l'haricot variété locale

VI-2-1-Dégâts foliaire sur l'Haricot variété locale

Tableau 07: Analyse descriptive de comparaison entre les dégâts foliaires (2016-2022)

Haricot variété locale	N	Moy	Min	Max	Ecart-type
Dégâts foliaire (%) (2016-2019)	8	2,71	1,22	4,9	1,20
Dégâts foliaire (%) (2021-2022)	8	7,16	3,53	9,18	1,99

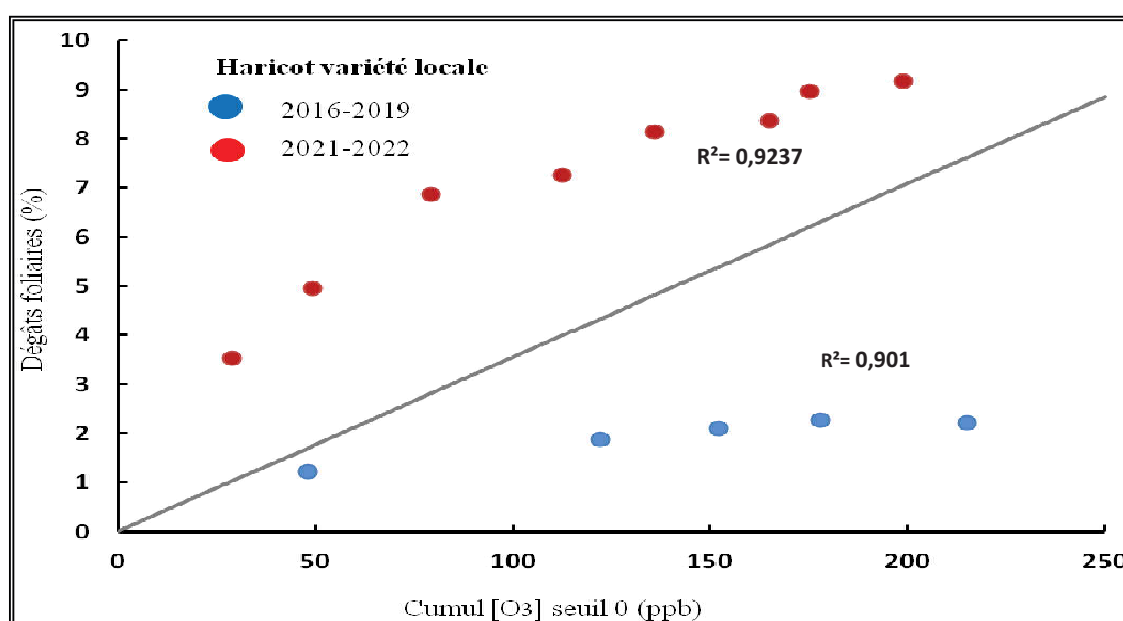


Figure27 : Cumules des concentrations en Ozone [O₃] et les dégâts foliaires sur la variété de haricot local de la période (2016-2019) et (2021-2022)

L'examen du tableau 07 et la figure 27 permet de nous montrées une variabilité des réponses morphologiques présenter par les dégâts foliaires sur deux périodes d'observations :

En période (2016-2019) une moyenne de (2,71±1,20 %) de dégâts foliaires avec un écart de maximum égale à (4,9 %) et un minimum de (1,22 %). Aussi à titre de corrélation entre les cumules d'Ozone et les dégâts foliaires qui se traduit par un coefficient de corrélation égale à 0,91.

En deuxième période (2021-2022), une moyenne fortement supérieure à l'autre égale à (7,16±1,99 %), dont le maximum à (9,18%) et un minimum de (3,53%). L'analyse des relations de cumule d'Ozone et dégâts foliaires dans cette période à confirmer une relation hautement significative avec un coefficient de corrélation égale à (0,92).

VI-2-2-Pourcentage moyenne des feuilles nécrosées de l'haricot local

Tableau 08 : Analyse descriptive de comparaison entre le pourcentage moyenne des feuilles nécrosées (2016-2022).

Haricot variété locale	N	Moy	Min	Max	Ecart-type
PMN (%) (2016-2019)	8	18,15	3,51	28,00	8,98
PMN (%) (2021-2022)	8	24,11	16,20	32,32	6,03

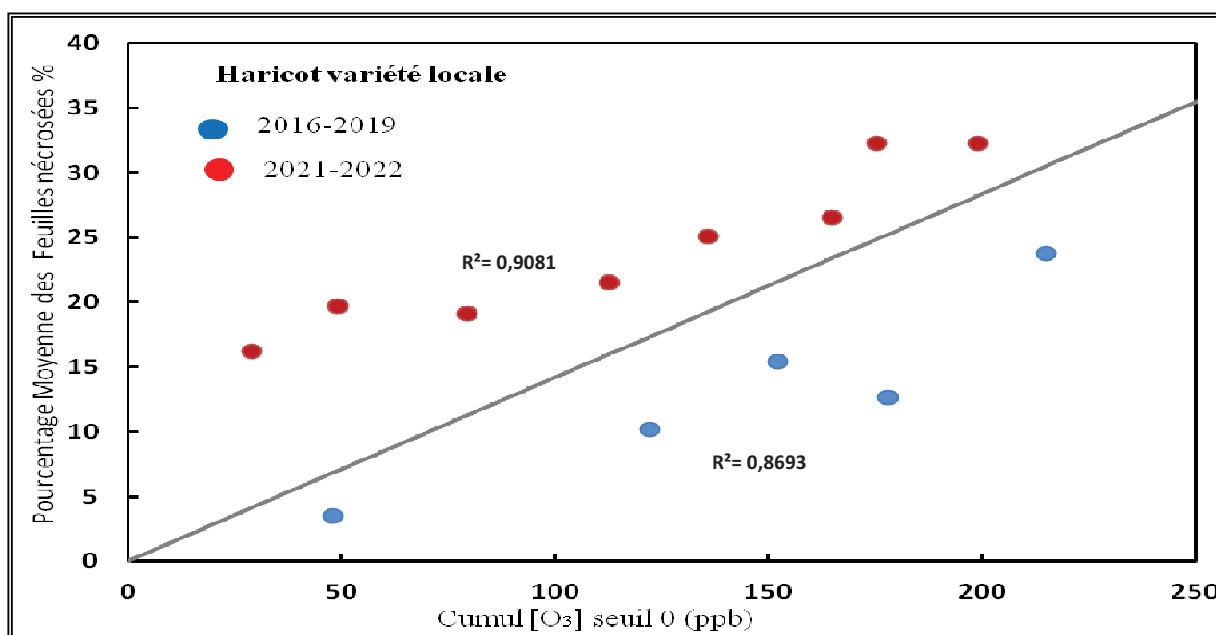


Figure 28 : Cumule des concentrations en Ozone [O₃] et le pourcentage des feuilles nécrosées sur la variété de haricot locale de la période (2016-2019) et (2021-2022)

Le pourcentage moyenne des feuilles nécrosées est un indicateur de sensibilité du végétale, si le nombre augmente signifie qu'il ya une sensibilité.

Le tableau 08 et la figure 28 confirme les mêmes remarques vis-à-vis le paramètre dégât foliaire, qui se traduit par le suivant :

En période (2016-2019), une moyenne de (18±8,98%) des feuilles nécrosées qui prend un maximum de (28%) et un minimum de (3,51%). L'analyse de corrélation présentée dans la figure sur cette période se marque par un coefficient de corrélation égale à (0,86).

La deuxième période (2021-2022) se présente par une moyenne de (24,11±6,03%), comme valeur supérieur à l'ancienne période, les écarts en maximum de (32,32%) et le minimum de (16,20%).

Pour l'analyse des relations cumulées d'Ozone et le PMN, marqué par un coefficient de corrélation à (0,90).

VI-3-Analyse des réponses morphologiques et les cumules d'Ozone pour l'haricot sensible (S156)

VI-3-1-Dégâts foliaire sur Haricot sensible (S156)

Tableau 09 : Analyse descriptive de comparaison entre les dégâts foliaires (2016-2022)

Haricot sensible (S156)	N	Moy	Min	Max	Ecart-type
Dégâts foliaire (%) (2016-2019)	8	2,02	0,25	3,88	1,06
Dégâts foliaire (%) (2021-2022)	8	5,29	2,51	8,67	2,07

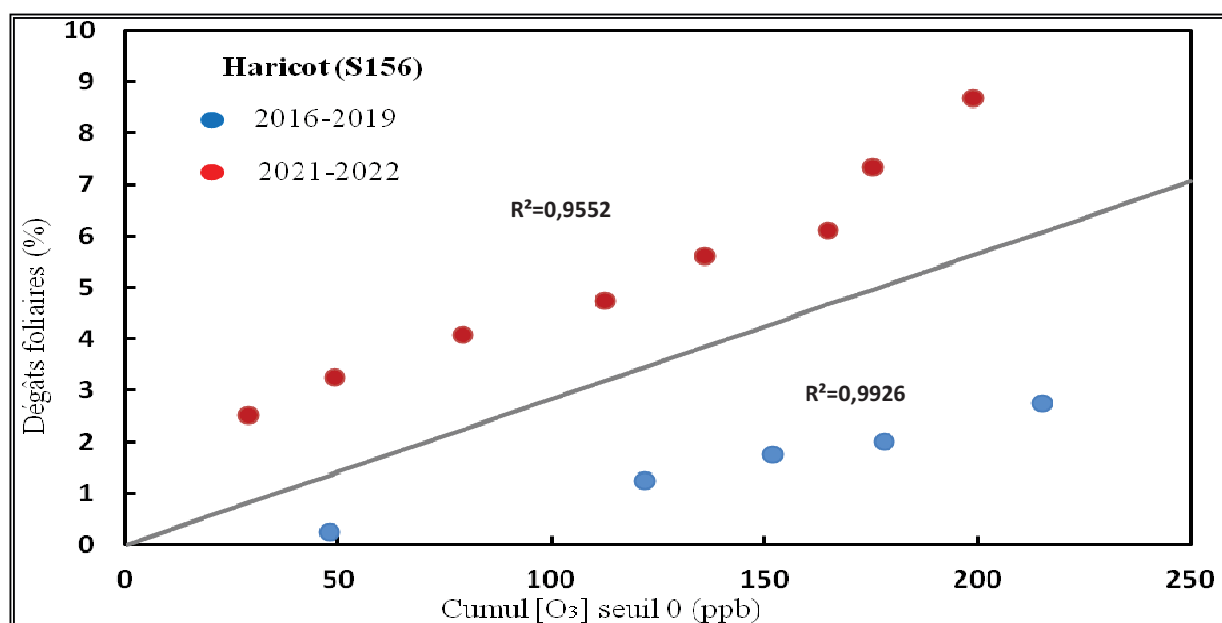


Figure 29 : Cumules des concentrations en Ozone [O₃] et les dégâts foliaires sur la variété de haricot (S156) de la période (2016-2019 et 2021-2022)

L'examen du tableau 09 et la figure 29, la relation entre l'Haricot sensible (S156) et les dégâts foliaires dans la première période sur cette espèce se traduisent par des nécroses avec une moyenne de (2,02±1,06%), un maximum atteint le (3,88%) et le minimum de (0,25%).

Nous observons pour l'Haricot sensible (S156) une sensibilité confirmée selon la bibliographie représentée par un coefficient de corrélation hautement significative à (0,99).

Dans la deuxième période (2021-2022) une augmentation de sensibilisé pour le (S156) avec moyenne de (5,29±5,29%) de dégâts foliaires avec une évolution linéaire positive de maximum (8,67%) et de minimum à (2,51%).

Aussi, un coefficient de corrélation associé avec les cumules d'ozone d'une valeur égale à (0,95).

VI-3-2-Pourcentage moyenne des feuilles nécrosées de l'haricot sensible (S156)

Tableau 10 : Analyse descriptive de comparaison entre le pourcentage moyenne des feuilles nécrosées (2016-2022)

Haricot (S156)	N	Moy	Min	Max	Ecart-type
PMN (%) (2016-2019)	8	32,80	17,65	38,00	6,72
PMN (%) (2021-2022)	8	14,11	4,38	21,54	6,87

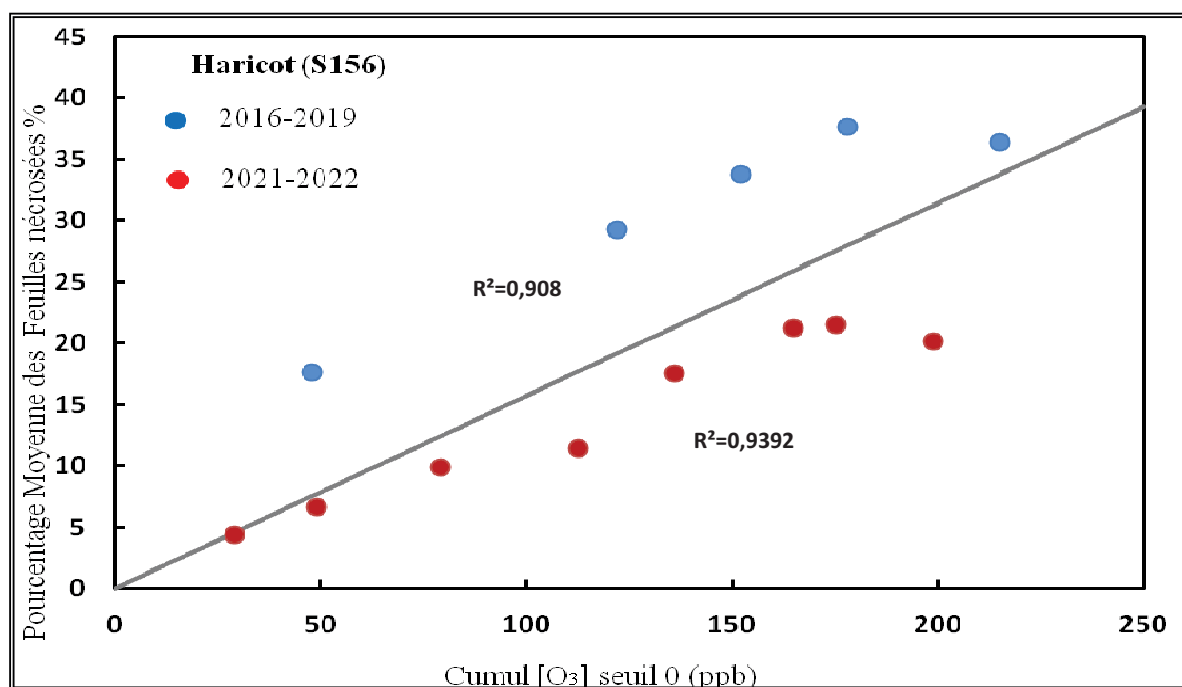


Figure 30 : Cumules des concentrations en Ozone [O₃] et le pourcentage des feuilles nécrosées sur la variété de haricot sensible (S156) de la période (2016-2019 et 2021-2022)

Dans le cas de pourcentage des feuilles nécrosées sur le (S156) présenté dans le tableau 10 et la figure 30, par une relation proportionnelle associé au cumule d'ozone se traduit par des fluctuations de réponses critiques entre les deux périodes d'exposition :

En période (2016-2019), une moyenne de (32,80±6,72%) des feuilles affectées, se semblent par un maximum de (38%) et un minimum de (17,65%).

La deuxième période (2021-2022) se distingue par une diminution de la moyenne de pourcentage de feuilles nécrosées estimé à : (14,11±6,87 %), et un minimum maximum (4,38%, 21,54%) respectivement.

Le coefficient de corrélation dans cette période reste significatif pour une valeur de (0,90).

VI-4-Analyse des réponses morphologiques et les cumules d'Ozone pour l'haricot résistant (R123)

VI-4-1-Dégâts foliaire sur l'Haricot résistant (R123)

Tableau 11: Analyse descriptive de comparaison entre les dégâts foliaires entre (2016-2022)

Haricot résistant (R123)	N	Moy	Min	Max	Ecart-type
Dégâts foliaire (%) (2016-2019)	8	1,03	0,22	1,67	0,66
Dégâts foliaire (%) (2021-2022)	8	3,36	0,33	7,87	2,68

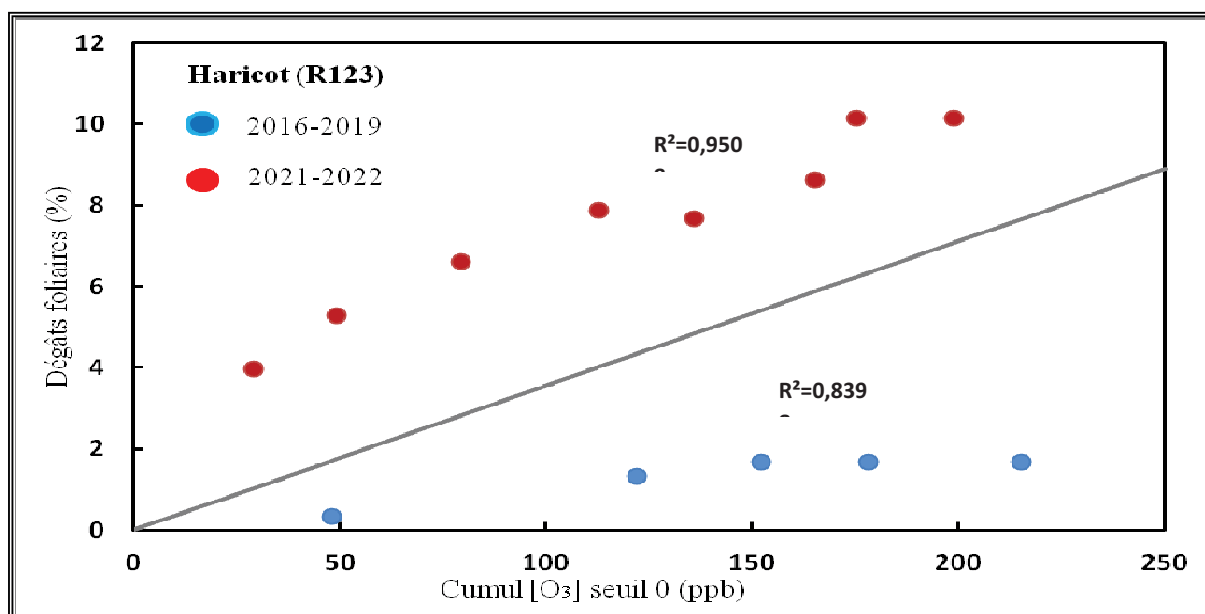


Figure 31 : Cumule des concentrations en Ozone [O₃] et les dégâts foliaires sur la variété de Haricot résistant (R123) de la période d'exposition (2016-2019) et (2021-2022)

Le tableau 11 et la figure 31, montre les réponses de l'haricot résistant (R123), comparable au cumule d'ozone calculé au cours de deux périodes d'exposition :

La première période d'exposition (2016-2019), exprime une moyenne de résistance de $(1,03 \pm 0,66\%)$ confirmé par sa tolérance à la pollution due au cumule d'Ozone, aussi dans l'analyse des relations représentée par un coefficient de corrélation égale à $(0,84)$.

Dans la seconde période d'exposition une légère augmentation à $(3,36 \pm 2,68\%)$, comme valeur moyenne, mais avec un écart très large entre le maximum $(7,87\%)$ et le minimum $(0,33\%)$.

Tandis que l'analyse relationnelle entre le cumule d'ozone et les dégâts foliaires assure l'augmentation des manifestations critiques contre l'Haricot résistant par un coefficient de corrélation égale à $(0,95)$.

VI-4-2-Pourcentage moyenne des feuilles nécrosées de l'haricot résistant (R123)

Tableau 12 : Analyse descriptive de comparaison entre les pourcentages moyenne des feuilles nécrosées (2016-2022)

Haricot résistant (R123)	N	Moy	Min	Max	Ecart-type
PMN (%) (2016-2019)	8	23,90	9,66	31,50	6,76
PMN (%) (2021-2022)	8	19,59	7,87	26,88	6,11

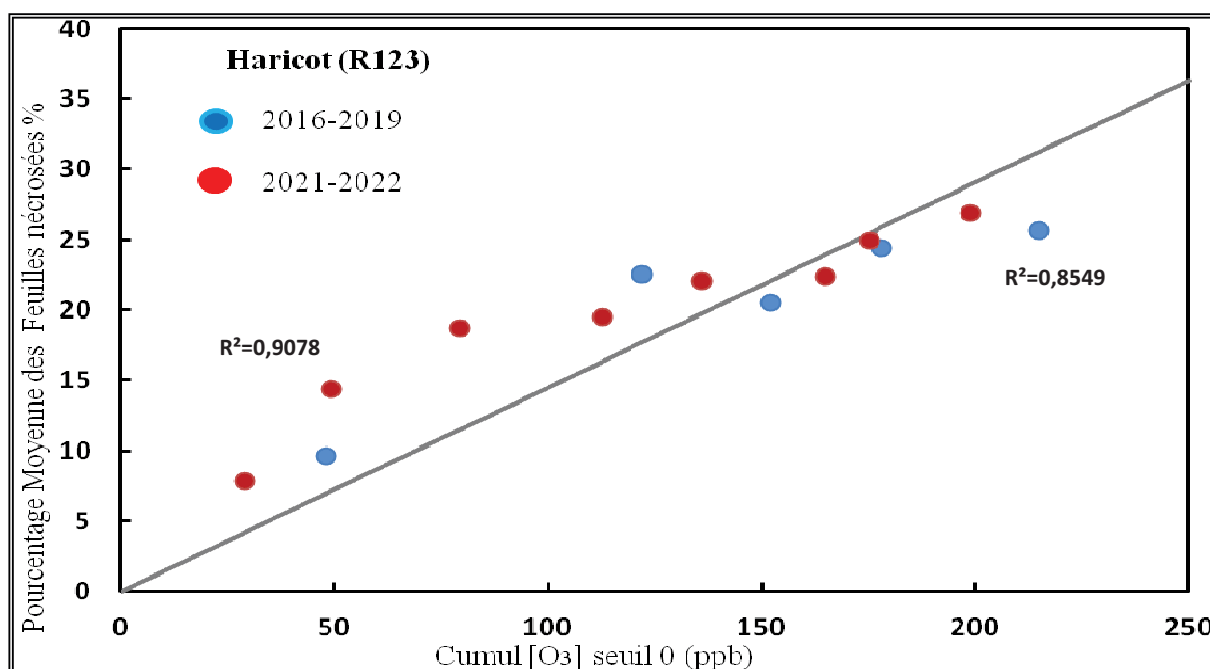


Figure 32 : Cumule des concentrations en Ozone [O₃] et le pourcentage des feuilles nécrosées sur la variété de haricot résistant (R123) de la période (2016-2019) et (2021-2022)

Suite à l'observation du tableau 12 et la figure 32, qui nous permet de constater un pourcentage pratiquement de moyenne similaire.

Pour la période (2016-2019) une moyenne de (23,90±6,76%), dont le maximum de (31,50%) et un minimum de (9,66 %).

Pour la deuxième période (2021-2022), la moyenne calculée est de (19,59±6,11%), d'un maximum de (26,88%) et un minimum de (7,87 %).

L'analyse de corrélation présentée dans la figure permet de définir un coefficient de corrélation légèrement différent estimé à (0,85%) pour la période (2016-2019) et à (0,90) de la période (2021-2022).

VI-5-Analyse des réponses morphologiques et les cumules d'Ozone pour blé dur et le blé tendre

VI-5-1-Effet des cumuls d'ozone [O₃] sur les dommages foliaires pour le blé dur et le blé tendre

Tableau 13 : Analyse descriptive de comparaison entre les réponses de blé dur et tendre

Dégâts foliaire %	N	Moy	Min	Max	Ecart-type
Blé dur	8	10,02	1,40	21,44	6,89
Blé tendre	8	9,73	1,29	20,61	6,85

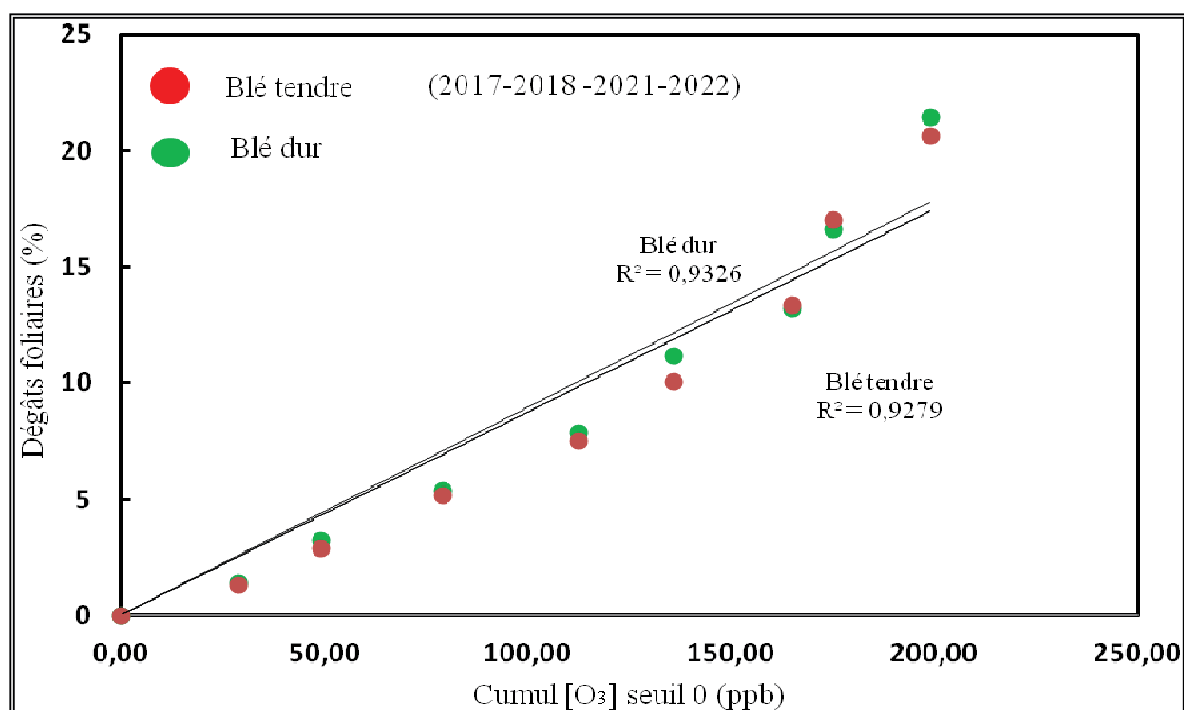


Figure 33 : Cumule des concentrations en Ozone [O₃] et les dégâts foliaires du blé dur et blé tendre entre la période (2017-2018) et (2021-2022).

L'examen du tableau 13 et de la figure 33 permet de nous montrés les relations de réponse entre les dommages foliaires cumulés à des concentrations en ozone cumulés [O₃], chez les deux variétés du blé (dur et tendre), qui présente une moyenne sensiblement homogène pour le blé dur estimé à (10,02±6,89 %) et pour le blé tendre à (9,73±6,85 %), avec les mêmes écarts de maximum minimum qui s'étale de (1,29%) à (21,44%).

Aussi grâce à l'examen des relations entre le cumule d'ozone et les dégâts foliaires noté respectivement par un coefficient de corrélation à (0,93) pour le blé dur et à (0,92) pour le blé tendre.

VI-5-2-Effet des cumuls d'ozone [O₃] sur le pourcentage moyenne des feuilles nécrosées pour le blé dur et le blé tendre

Tableau 14 : Analyse descriptive de comparaison entre les réponses de blé dur et tendre.

PMN %	N	Moy	Min	Max	Ecart-type
Blé dur	8	22,36	3,89	41,37	14,75
Blé tendre	8	33,41	8,01	63,90	20,42

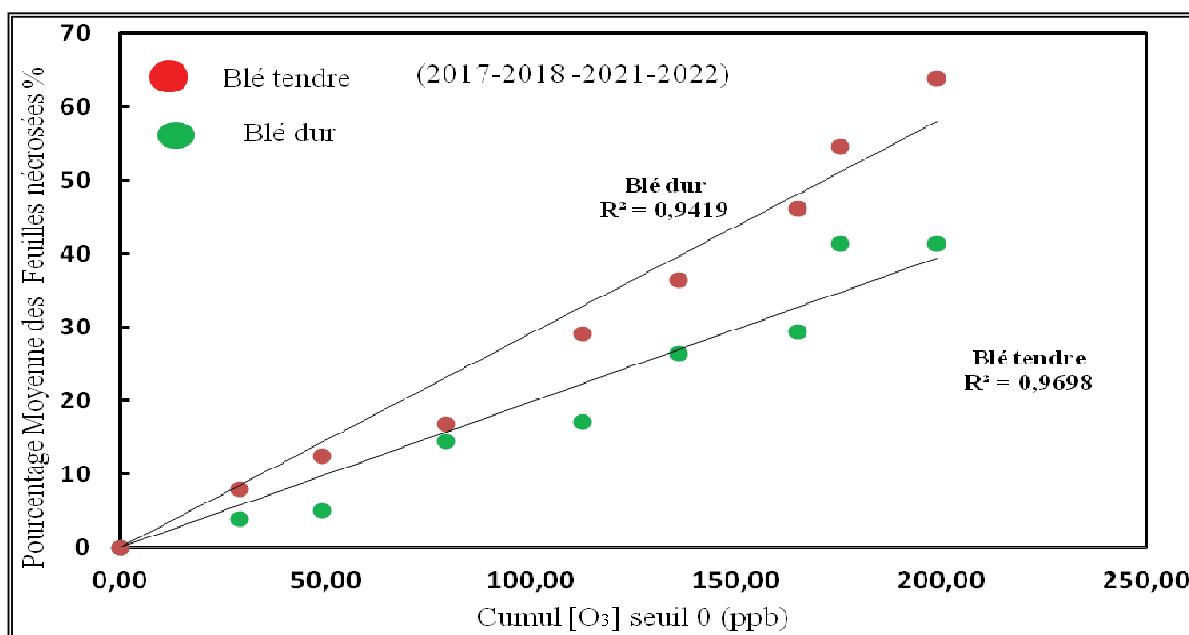


Figure 34 : Relation entre les concentrations d'ozone en fonction du pourcentage cumulé des feuilles nécrosées pour le blé dur et le blé tendre.

On observe dans le tableau 14 et la figure 34 qui concerne le paramètre pourcentage cumulé des feuilles nécrosées durant la période d'exposition (2017-2018) et (2021-2022), certaine différence des pourcentages de feuilles nécrosées ($22,36 \pm 14,75\%$); ($33,41 \pm 20,41\%$) respectivement.

Un maximum à (41,37 %) pour le blé dur contre (63,90 %) pour le blé tendre qui témoigne une fonction d'impact hautement significatif au cumule d'Ozone [O₃].

Les dommages sur le système foliaire sont analysés par le coefficient de corrélation confirmant la liaison positif marqué par des valeurs entre (0,94) pour le blé dur et (0,96) pour le blé tendre.

VI-6-Analyse de sensibilité des réponses morphologique sur les trois variétés d'Haricot

VI-6-1-Analyse de sensibilité par les dégâts foliaires sur les variétés d'Haricot.

Tableau 15 : Analyse descriptive des cumules dégâts foliaires sur les variétés de Haricot testées.

Haricot	Paramètre de réponse	N	Moy±Ecart-type	R ²
Haricot (Local)	Cumule des dégâts foliaires (%)	8	4,93±1,51	0,95
	Cumule des PMN %		21,13±7,37	0,97
Haricot Sensible (S156)	Cumule des dégâts foliaires (%)	8	3,66±1,52	0,96
	Cumule des PMN %		23,46±6,28	0,94
Haricot Résistant (R123)	Cumule des dégâts foliaires (%)	8	2,19±1,36	0,95
	Cumule des PMN %		21,75±6,36	0,93

L'examen du tableau 15, montre une analyse des dommages foliaires cumulés et de pourcentage de feuilles nécrosées sur les variétés des haricots testés pendant les périodes d'exposition. L'analyse de sensibilité avec les niveaux critiques de réponses basée sur le pourcentage le plus élevé avec les mêmes doses de cumules d'ozone sur une période restreinte, permet de classer les trois variétés d'haricots suivant le pourcentage le plus élevées en dégâts foliaires comme suivant :

VI-6-1-1-L'Haricot locale

Une moyenne de (4,93±1,51%) de dégâts foliaires et de (21,13±7,37 %) de pourcentage de feuilles nécrosées pour la variété locale d'Haricot, qui classe la variété comme sensible.

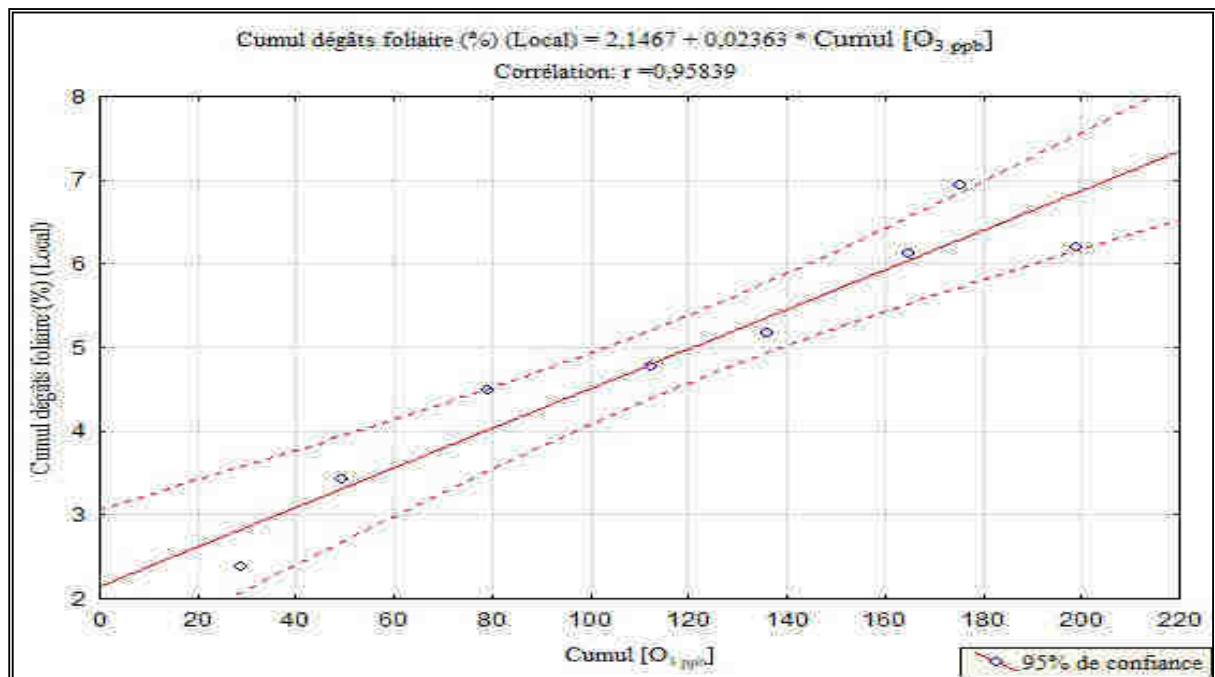


Figure 35: Relation entre le cumul des concentrations en [O₃] et le cumule en dommages foliaires pour l'Haricot locale.

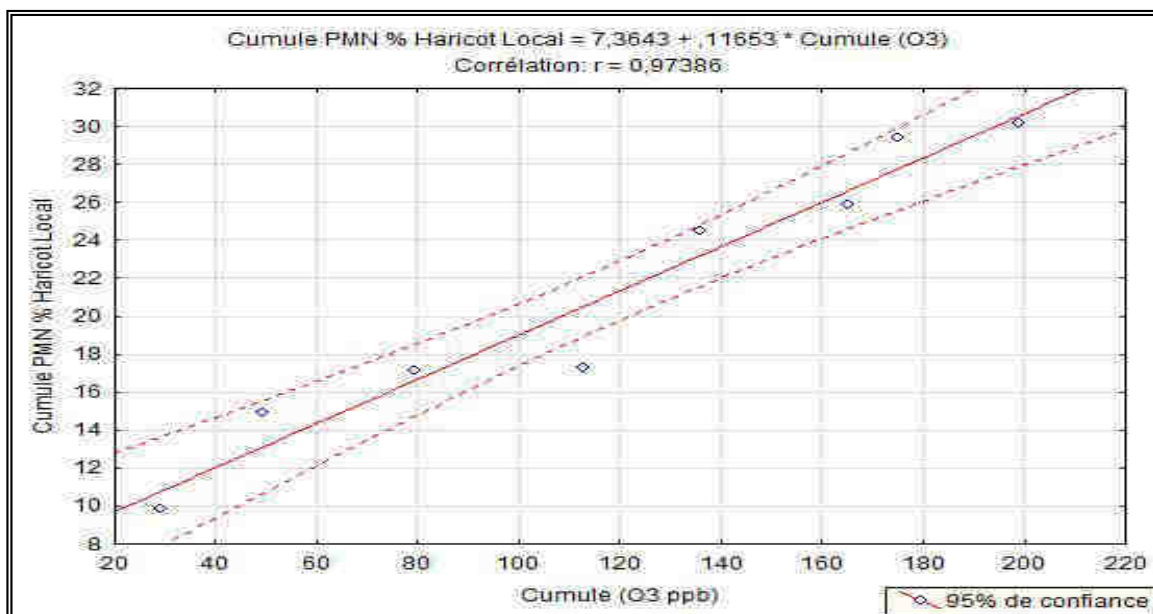


Figure 36 : Relation entre le cumul des concentrations en $[O_3]$ et le pourcentage cumulé de feuilles nécrosées de la variété de Haricot locale.

VI-1-1-2-L'Haricot sensible (S156)

L'analyse permet de définir une relation linéaire de réponse critique accordée à la variété sensible à l'ozone (S156), qui prend des valeurs moyennes en dommages foliaires estimées à $(3,66 \pm 1,52\%)$, de même pour le pourcentage de feuilles nécrosées dont les valeurs de $(23,46 \pm 6,28\%)$.

Cette variété garde toujours sa sensibilité vis-à-vis au cumul d'Ozone.

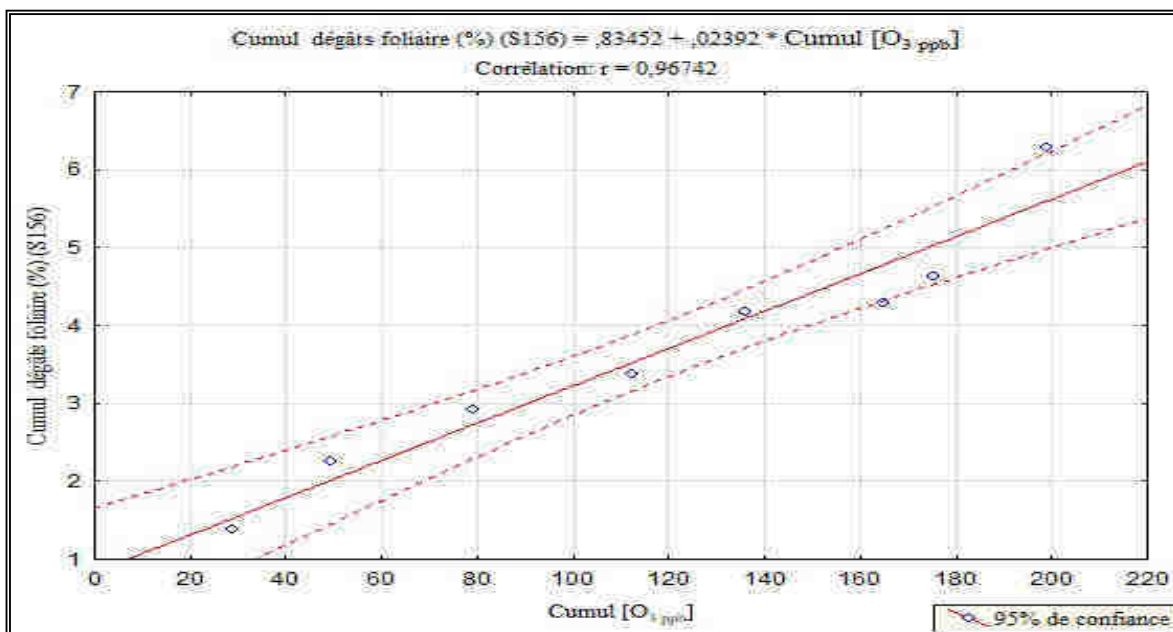


Figure 37: Relation entre le cumul des concentrations en $[O_3]$ et les cumules en dommages foliaires pour l'Haricot sensible (S156).

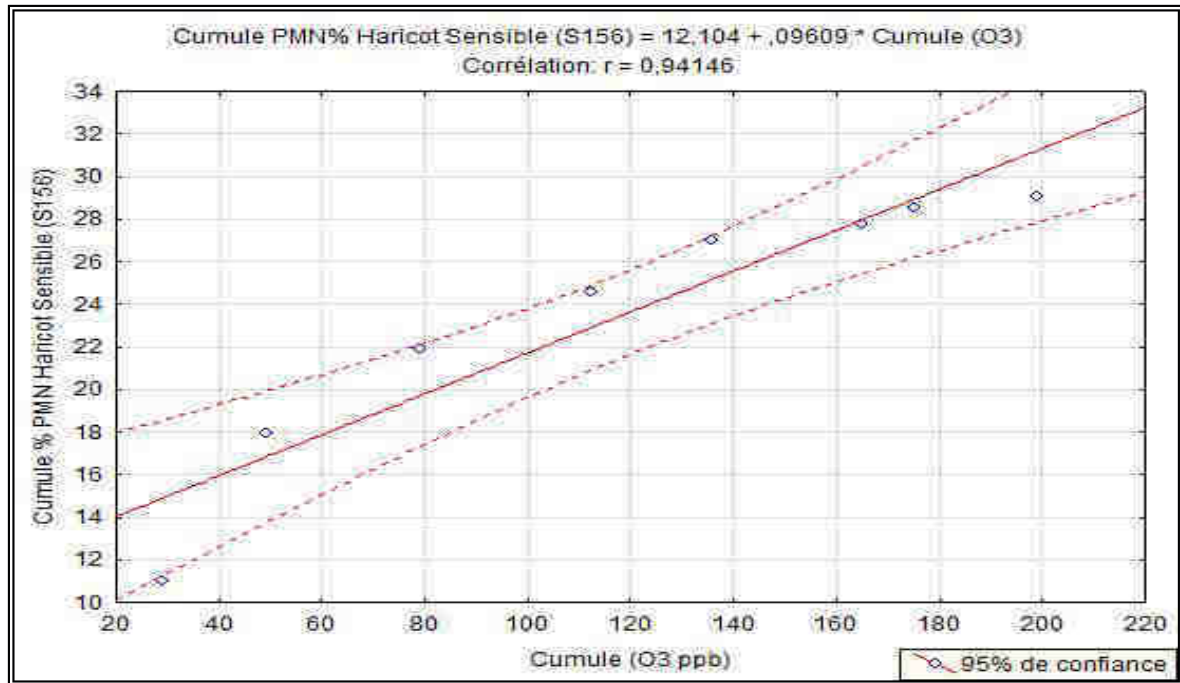


Figure 38 : Relation entre le cumul des concentrations en $[O_3]$ et le pourcentage cumulé de feuilles nécrotiques des variétés de haricot Sensible (S156).

VI-6-1-3-L'haricot résistant (R123)

Pour l'Haricot résistant (R123), des dommages foliaires de moyenne ($2,19 \pm 6,36$ %), et dont le pourcentage de feuilles nécrosées à ($21,75 \pm 6,36\%$).

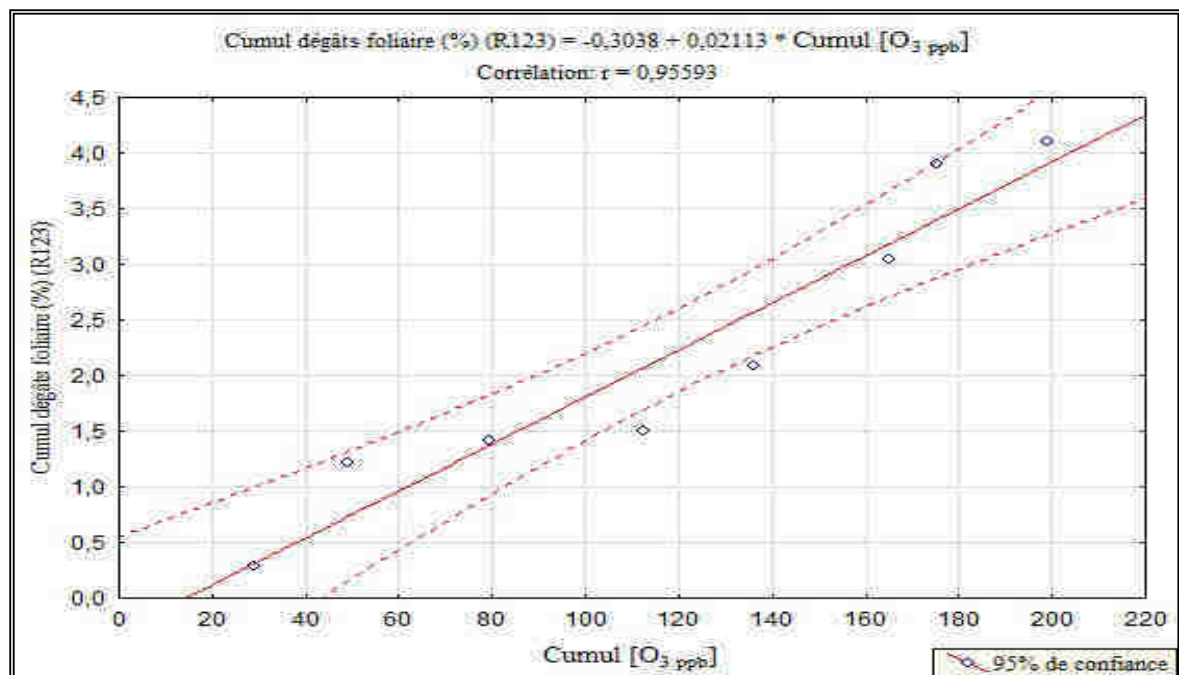


Figure N°39: Relation entre le cumul des concentrations en $[O_3]$ et le cumule en dommages foliaires pour l'Haricot résistant (R123).

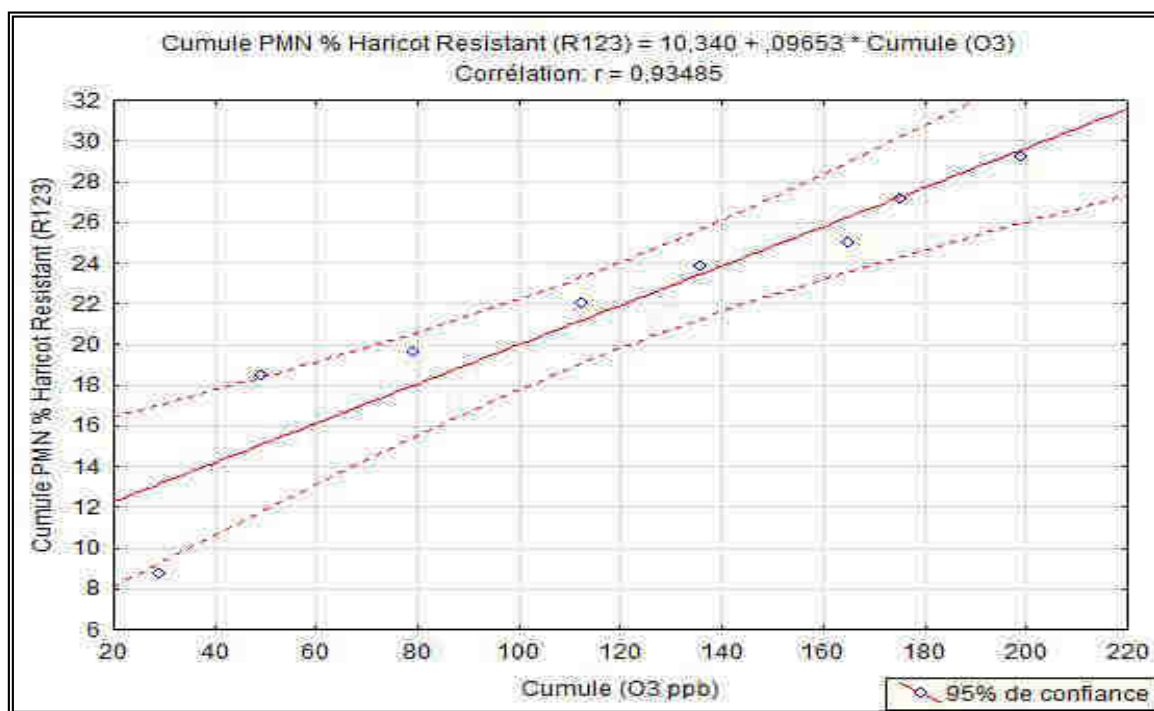


Figure 40 : Relation entre le cumul des concentrations en $[O_3]$ et le pourcentage cumulé de feuilles nécrosées de l'haricot résistant (R123).

VI-7-Analyse de la sensibilité des variétés de blé testées dans l'expérience

Tableau 16: Analyse de sensibilité on utilisant les dégâts foliaires et le pourcentage de feuilles nécrotiques.

Blé	Dégâts foliaires (%)		Pourcentage moyenne des feuilles nécrosées (%)	
	Moy±Ecart-type	R^2	Moy±Ecart-type	R^2
Blé dur	10,02±6,89	0,93	22,36±14,75	0,94
Blé tendre	9,73±6,85	0,92	33,41±20,41	0,96

L'examen du tableau 16 montre une analyse de la sensibilité et des réponses morphologiques des variétés du blé testées dans l'expérience, une sensibilité beaucoup plus élevée pour les deux variétés de (blé dur et blé tendre), avec une corrélation dont la valeur est comprise entre (0,92-0,96).

Aussi les variétés prend une moyenne de (10,02±6,89 %), évaluée pour le blé dur, suivie par un taux de (9,73±6,85) pour le blé tendre, ce qui permet de dire qu'il y a un niveau de réponse de sensibilité devient de plus en plus vulnérable à l'ozone $[O_3]$.

VI-8-Analyse de la sensibilité par comparaison de l'ensemble des plantes testées

Tableau 17 : Analyse de la sensibilité par comparaison de l'ensemble des plantes testées

Plante	Dégâts foliaires (%)	Pourcentage moyenne des feuilles nécrosées (%)
	Moyenne des nécroses (%)	Moyenne des PMN (%)
Blé	9,87	27,88
Haricot	3,59	22,11

L'analyse du tableau 17, permet de comparé l'ensemble des plantes testées dans l'expérience d'exposition des végétaux au contrainte abiotiques, il apparait que la variété du blé est beaucoup plus sensible avec des moyennes de (9,87%), suivie par l'haricot à (3,59%)

Concernant le pourcentage de feuilles nécrosées le blé prend la situation d'espèce vulnérable à l'ozone par une moyenne de (27,88%), et pour l'Haricot moins sensible par rapport au blé à (22,11%).

Chapitre V : Interprétation des résultats

L'expérience des dommages foliaires visibles causés par le cumule d'[O₃] au plan végétatif a été déterminée selon le taux de dommages ou les dommages foliaires simples, conçus pour être efficaces dans le temps et applicable à toutes les espèces végétales.

Pour les variétés testés d'haricot (S156), (R123) et l'haricot (local) comme variétés sensibles, par l'utilisation du pourcentage le plus élevé des nécroses estimé à (4,93±1,51%) pour la variété locale et une moyenne de (3,66±1,52%), pour la variété sensible (S156%), en terme de résistance par une moyenne de (2,19±1,36%) pour la variété résistante (R123).

Au vu de ces données, une diminution des réponses est donc attendue pour la variété d'haricot sensible (S156) par rapport à la variété d'haricot résistante (R123). Il apparait comme nouvelle espèce sensible de l'haricot exprimé par la variété locale.

Ces résultats sont validées par (**Bagard M, 2017**) qui a mené une étude sur une région parisienne sur la période 2009-2015, et qui a confirmé que l'exposition de la végétation à l'ozone a dépassé le seuil critique de (3 000 ppb/h), au-delà du quel des nécroses, taches foliaires et des pertes de rendement à (05%) sont attendues pour les espèces cultivées (**Mills et al., 2007**).

L'apparition des nécroses foliaires sur la variété sensible devrait donc rester relativement rare. Le gradient attendu d'exposition à l'ozone, avec des niveaux croissants à mesure que l'on s'éloigne de la zone urbaine, est peu marqué.

Au regard de ces données, une diminution du rendement en gousses est donc attendue pour la variété d'haricot sensible (S156) en comparaison à la variété d'haricot résistante (R123).

Chez la variété sensible d'haricot (S156), la teneur foliaire en chlorophylles permet de révéler le début d'une sénescence foliaire précoce et/ou accélérée, qui est un effet connu d'une exposition chronique à l'ozone sur les espèces végétales sensibles (**Pell et al. 1997**).

Les relations entre dommages et blessures due à l'ozone, sont souvent suggérés en termes de « Dose-Réponse » cités dans (**Pleijel et al., 2002 ; Danielsson et al., 2003**), la dose et la concentration moyenne déterminées pour chaque plante.

La dose est définie comme la concentration moyenne cumulée en relation directe avec les différents pourcentages calculés.

Les observations de l'apparition des nécroses à partir de l'ozone [O_3], sont confirmées et citées dans les études de (**Gelang et al., 2000 ; Pleijel et al., 2007**), qui ont démontrées qu'il y a une fonction de sensibilité des céréales qui devient dans un niveau alarmant par l'influence des cumules en concentrations d' [O_3] sur les réponses écophysologiques.

La relation entre la concentration et les dommages est présentée dans le tableau N°17, des dommages ont été observés sur toutes les plantes testées.

Si les concentrations étaient supérieures à 20 ppb ou si les paramètres étaient satisfaisants pour déterminer l'apparition des dommages, les points de données correspondant aux plantes blessées apparaissaient à une concentration de réponse critique, avec des signes de nécrose et de perte de rendement.

Il est clair que la concentration et les dommages ne sont pas satisfaisants pour déterminer l'apparition des dommages visuels. De nombreuses plantes exposées à des concentrations et des doses relativement faibles ont été observées, contrairement à de nombreuses plantes exposées à des concentrations ou des doses élevées.

Les variétés altérées par l'ozone [O_3] ont été raisonnablement observés lorsque la densité moyenne du flux d'ozone et l'absorption totale (Produit de la densité moyenne du flux par la durée de l'exposition) ont été prises en compte.

La densité du flux [O_3] est variée cumulativement de 0 ppb à 250 ppb, à différents stades d'exposition dans cette expérience.

La densité du flux [O_3] en fonction de la durée de l'exposition ($t = 09$ jours pour chaque année) a donné une relation linéaire dans laquelle les dommages sont survenus beaucoup plus rapidement.

Les points représentent la combinaison du flux d' $[O_3]$ et des dommages observés pour la première fois sur des plantes avec une originalité locale.

Cependant, il existe un délai entre l'exposition et l'apparition des symptômes visibles de dommages, selon l'effet variétal (Légumineuses et Céréalière), de sorte que le seuil de dommages est légèrement dépassé lorsque le point est représenté.

Par conséquent, la discussion se concentre sur un critère de dommages légèrement supérieur au seuil minimal.

Conclusion Générale

CONCLUSION GÉNÉRALE

La culture dans les zones semi-aride, est exposée à une sérieuse menace provoquée par de nombreux stress dont celui de l'Ozone qui présente un impact négatif qui se reflète sur la croissance et le rendement des plantes cultivées.

Une étude approfondie et sérieuse s'impose pour comprendre les mécanismes de réponse des plantes face au stress à l'ozone et pouvoir élaborer une stratégie d'amélioration des rendements agricoles.

Le présent travail comporte deux objectifs principaux :

- Améliorer la compréhension des effets de l'ozone sur les réponses nécrotiques primaires en relation direct au développement foliaire ;
- Caractériser le comportement global et l'établissement des relations entre la masse foliaire en réponse à différentes concentrations cumulées de l'ozone.

La diversité des techniques utilisées a permis d'identifier un certain nombre de réponses à l'exposition à l'ozone et de les relier à des effets mesurés à l'échelle de la feuille voire de la plante entière. Les symptômes visibles (tâches nécrotiques) observés chez les espèces testées attestent en premier lieu de la sensibilité marquée des espèces locales à une exposition excessive à l'ozone.

Selon les résultats obtenus, les haricots ont affichés une réduction de croissance qui s'est manifestée, en particulier, au niveau de la croissance et de la production de biomasse foliaire. Aussi cette recherche expérimentale, a mis en évidence les concentrations critiques en $[O_3]$ estimées sur une période de six années successives, au cours desquelles les tests de sensibilité des espèces végétales testées ont été réalisés, marquées par l'intensité des lésions foliaires visibles sur les feuilles des génotypes de *Phaseolus vulgaris*, ainsi que sur pour les variétés de ble testées.

Les concentrations cumulées en $[O_3]$ dans la ville de Tiaret présentent des concentrations significativement élevées pouvant causer des dommages foliaires, ou en terme de masse foliaire affectée, entraînant des pertes de rendement, notamment dans la perspective d'étudier des espèces de grande valeur et d'utilisation répandue.

Nous pouvons confirmer dans cette étude l'originalité expérimentale dans la zone d'étude qui présente un potentiel agricole.

En conclusion, deux perspectives de recherche émergent en priorité sur le travail présenté dans cette thèse :

La première consiste en l'étude ciblée des réponses à l'ozone. Une telle étude permettrait d'étendre notre champ d'investigation aux interconnexions entre un niveau critique et ceux des plantes testées.

La deuxième perspective concerne la question de l'origine et de l'utilisation des Pourcentage des feuilles nécrosées dans un contexte de modélisation induite par l'ozone.

La simulation constitue une caractéristique des réponses à l'ozone et mérite un examen approfondi. En plus de ces deux perspectives majeures, cette étude a mis en évidence l'importance des changements physiologiques qui accompagnent le développement foliaire dans la sensibilité provoquée par les cumules d'ozone [O₃].

Références Bibliographiques

Référence bibliographiques

1. Azzaoui ME, 2013 Contribution à l'étude phytoécologique des tetracinaies dans la région de Beni affene, Tiaret. Thèse de magister, Univ Ibn Khaldoun, Tiaret.
2. Ashmore, M. R. (2005). Assessing the future global impacts of ozone on vegetation. *Plant, Cell & Environment*, 28 (8): 949-964.
3. Avnery S, Mauzerall DL, Fiore AM (2013) Increasing GLobal Agricultural production by reducing ozone damages via methane emission controls and ozone-resistant cultivar selection. *Global Change Biology*, 19, 1285–1299.
4. Bagard Matthieu, (2017) Bioindication végétale de la pollution de l'air - Mesure et cartographie de la pollution à l'ozone du réseau départemental des bio-stations du Val-de-Marne. Rapport ADEME, 19 pages.
5. Basha, M., Gross, K., Gwizdala, C., Haidar, A. & Popovich, J., Jr (1994). Bronchoalveolar lavage neutrophilia in asthmatic and healthy volunteers after controlled exposure to ozone and filtered purified air. *Chest*, 106 (6) : 1757-1765.
6. Baier, M., Kandlbinder, A., Golldack, D. & Dietz, K.-J. (2005). Oxidative stress and ozone: perception, signalling and response. *Plant, Cell & Environment*, 28 (8): 1012-1020.
7. Bang Quoc Ho, 2012 Air Pollution – Monitoring, Modelling and Health Institute of Environment and Resources, Vietnam National University.
8. Black, V. J., Black, C. R., Roberts, J. A. & Stewart, C. A. (2000). Tansley Review No. 115. Impact of ozone on the reproductive development of plants. *New Phytologist*, 147 (3): 421-447.
9. Black, JR, Yin QZ, Rustad, JR. and W H Casey, (2007) Magnesium-isotopic Equilibrium in Chlorophylls.
10. Broadmeadow, M. S. J. & Jackson, S. B. (2000). Growth responses of *Quercus petraea*, *Fraxinus excelsior* and *Pinus sylvestris* to elevated carbon dioxide, ozone and water supply. *New Phytologist*, 146 (3): 437- 451.
11. Burkey KO, Eason G (2002) Ozone tolerance in snap bean is associated with elevated ascorbic acid in the leaf apoplast. *Physiologia Plantarum*, 114, 387–394.

12. Burkey, K.O., Miller, J.E., Fiscus, E.L., 2005. Assessment of ambient ozone effects on vegetation using snap bean as a bioindicator species. *Journal of Environmental Quality* 34, 1081–6.
13. Chameides, W. L., Kasibhatla, P. S., Yienger, J. & Levy, H., 2nd (1994). Growth of continental-scale metro-agro-plexes, regional ozone pollution, and world food production. *Science*, 264 (5155): 74-77.
14. Chapman, S. (1930). A theory of upper atmospheric ozone. *Memoirs of the Royal Meteorological Society*, 3: 103–125.
15. Conklin PL, Barth C (2004) Ascorbic acid, a familiar small molecule intertwined in the response of plants to ozone, pathogens, and the onset of senescence. *Plant, Cell and Environment*, 27, 959–970.
16. Dizengremel P (2001) Effects of ozone on the carbon metabolism of forest trees. *Plant Physiology and Biochemistry*, 39, 729–742.
17. Emberson, L. D., Ashmore, M. R., Cambridge, H. M., Simpson, D. & Tuovinen, J. P. (2000a). Modelling stomatal ozone flux across Europe. *Environmental Pollution*, 109 (3): 403-13
18. Farman, J. C., Gardiner, B. G. & Shanklin, J. D. (1985). Large losses of total ozone in Antarctica reveal seasonal ClO_x/NO_x interaction. *Nature*, 315 (6016): 207-210.
19. Fowler, D., Cape, J. N., Coyle, M., Flechard, C., Kuulenstierna, J., Hicks, K., Derwent, D., Johnson, C. & Stevenson, D. (1999a). The global exposure of forests to air pollutants. *Water, Air & Soil Pollution*, 116 (1): 5-32.
20. Felzer B, Reilly J, Melillo J et al. (2005) Future effects of ozone on carbon sequestration and
21. climate change policy using a global biogeochemical model. *Climatic Change*, 73, 345–373.
22. Felzer, B. S., Cronin, T., Reilly, J. M., Melillo, J. M. & Wang, X. (2007). Impacts of ozone on trees and crops. *Comptes Rendus Geosciences*, 339 (11-12): 784-798.
23. Fiscus EL, Booker FL, Burkey KO (2005) Crop responses to ozone: uptake, modes of action, carbon assimilation and partitioning. *Plant, Cell and Environment*, 28, 997–1011. Foyer CH, Noctor G (2005) Oxidant and antioxidant signalling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. *Plant, Cell and Environment*, 38, 1056–1071.

24. Fuhrer, J. (2003). Agroecosystem responses to combinations of elevated CO₂, ozone, and global climate change. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 97 (1-3): 1-20.
25. Gamon, J.A., Serrano, L., Surfus, J.S., 1997. The photochemical reflectance index: An optical indicator of photosynthetic radiation use efficiency across species, functional types, and nutrient levels. *Oecologia* 112, 492–501.
26. Garrec J-P, Van Haluwyn C (2002) Biosurveillance végétale de la qualité de l'air. Lavoisier, Paris, 117 pages p.
27. Gardner, S. D. L., Freer-Smith, P. H., Tucker, J. & Taylor, G. (2005). Elevated CO₂ protects poplar (*Populus trichocarpa* x *P. deltoides*) from damage induced by O₃: identification of mechanisms. *Functional Plant Biology*, 32 (3): 221-235.
28. Gelang J. et al. (2000) Rate and duration of grain filling in relation to flag leaf senescence and grain yield in spring wheat (*Triticum aestivum*) exposed to different concentrations of ozone, *Physiol. Plantarum*.
29. Glaze, W. H. (1986). Reaction products of ozone: a review. *Environmental Health Perspectives*, 69: 151–157.
30. Grantz, D. A. (2003). Ozone impacts on cotton: towards an integrated mechanism. *Environmental Pollution*, 126 (3): 331-44.
31. Guenther, A., Hewitt, N. C., Erickson, D., Fall, R., Geron, C., Graedel, T., Harley, P., Klinger, L., Lerdau, N., McKay, W. A., Pierce, T., Scholes, B., Steinbrecher, R., Tallamraju, R., Taylor, J. & Zimmerman, P. (1995). A global model of natural volatile organic compound emissions. *Journal of Geophysical Research*, 100 (5): 8873–8892.
32. Grulke N E , Heath R L , (2019) Ozone effects on plants in natural ecosystems, PMID: 30730096 DOI: 10.1111/plb.12971.
33. Grünhage, Ludger; Pleijel, Håkan; Mills, Gina; Bender, Jürgen; Danielsson, Helena ; Lehmann, Yvonne; Castell, Jean-Francois ; Bethenod, Olivier. 2012 Updated stomatal flux and flux-effect models for wheat for quantifying effects of ozone on grain yield, grain mass and protein yield. *Environmental Pollution*, 165. 147-157.
34. Gunilla Pihl Karlsson, 2003 Clover as bioindicator for phytotoxic ozone, Departement of applied environmental science, Göteborg University, ISBN 91-88376-18-4.
35. Haagen-Smit, A. J., Darley, E. F., Zaitlin, M., Hull, H. & Noble, W. (1952). Investigation on Injury to Plants

36. from Air Pollution in the Los Angeles Area. *Plant Physiology*, 27 (1): 18-34.
37. Hayes, F., Mills, G., Harmens, H., Norris, D., 2007. Evidence of widespread ozone damage to vegetation in Europe. Bangor, UK: ICP Vegetation Programme Coordination Centre, Centre for Ecology & Hydrology (<http://icpvegetation.ceh.ac.uk>)
38. Hollosy, F. (2002). Effects of ultraviolet radiation on plant cells. *Micron*, 33 (2): 179-97.
39. Heggstad HE (1991) Origin of Bel-W3, Bel-C and Bel-B tobacco varieties and their use as indicators of ozone. *Environmental Pollution*, 74, 264–291.
40. Heagle AS, Miller JE, Chevone BI et al. (1995) Response of a white clover indicator system to tropospheric ozone at eight locations in the United States. *Water, Air, and Soil Pollution*, 85, 1373–1378.
41. Helena Danielsson, Gunilla Pihl Karlsson, Per Erik Karlsson, H. Hakan Pleijel (February 2003) Ozone uptake modelling and flux-response relationships, an assessment of ozone-induced yield loss in spring wheat, *Atmospheric Environment* Volume 37, Issue 4, Pages 475-485.
42. IPCC (2001). Intergovernmental Panel on Climate Change - Third Assessment Report.
43. Ihorst, G., Frischer, T., Horak, F., Schumacher, M., Kopp, M., Forster, J., Mattes, J. & Kuehr, J. (2004). Long- and medium-term ozone effects on lung growth including a broad spectrum of exposure. *European Respiration Journal*, 23 (2) : 292-299.
44. I. A. Hassan, M. R. Ashmore & J. N. B. Bell April 1994 Effect of ozone on radish and turnip under egyptian field conditions Department of Biology, Imperial College at Silwood Park, Ascot, Berks, UK, SL5 7P Y *Environmental Pollution* 89 (1995) 107 114.
45. Ilka Wittig , Michael Karas, Hermann Schägger, (2007) High resolution clear native electrophoresis for in-gel functional assays and fluorescence studies of membrane protein complexes, DOI: 10.1074/mcp.M700076-MCP200.
46. International cooperative Programme, 2012 Yield response and ozone injury on *Phaseolus vulgaris*, Experimental Protocol.
47. Jetter, R., Riederer, M. & Lendzian, K. J. (1996). The effects of dry O₃, SO₂ and NO₂ on reconstituted epicuticular wax tubules. *New Phytologist*, 133 (2): 207-216.

48. Jacob, J., Greitner, C. & Drake, B. G. (1995). Acclimation of photosynthesis in relation to Rubisco and nonstructural carbohydrate contents and in situ carboxylase activity in *Scirpus olneyi* grown at elevated CO₂ in the field. *Plant, Cell & Environment*, 18 (8): 875-884.
49. Jean-François Castell (2016) Ozone impacts on agriculture and forests and economic losses assessment, pollution atmosphérique.
50. Jean-François Castell (2004) Ozone et canicule : quel impact sur les cultures et les écosystèmes? *Pollution Atmosphérique*, 21–25.
51. Jean-François Castell, Maton C, Vivant AC (2002) An empirical model of Bel-W3 leaf stomatal conductance for ozone biomonitoring studies. In: *Urban air pollution, bioindication and environmental awareness* (eds Klumpp A, Ansel W, Klumpp G), pp. 263–269. Cuvillier Verlag.
52. Jenkin, M. E. & Clemitshaw, K. C. (2000). Ozone and other secondary photochemical pollutants: chemical processes governing their formation in the planetary boundary layer. *Atmospheric Environment*, 34 (16): 2499-2527.
53. José Pinheiro, Douglas Bates, Saikat DebRoy, Deepayan Sarkar, EISPACk, Siem Heisterkamp, Bert Van Willigen, Johannes Ranke , R Core Team , August 14, 2024, Linear and Nonlinear Mixed Effects Models Package ‘nlme’ <https://svn.r-project.org/R-packages/trunk/nlme/>
54. Karlsson, P. E., Braun, S., Broadmeadow, M., Elvira, S., Emberson, L., Gimeno, B. S., Le Thiec, D., Novak, K., Oksanen, E., Schaub, M., Uddling, J. & Wilkinson, M. (2007). Risk assessments for forest trees : the performance of the ozone flux versus the AOT concepts. *Environmental Pollution*, 146 (3): 608-16.
55. Karnosky, D. F., Zak, D. R., Pregitzer, K. S., Awmack, C. S., Bockheim, J. G., Dickson, R. E., Hendrey, G. R., Host, G. E., King, J. S., Kopper, B. J., Kruger, E. L., Kubiske, M. E., Lindroth, R. L., Mattson, W. J., McDonald, E. P., Noormets, A., Oksanen, E., Parsons, W. F. J., Percy, K. E., Podila, G. K., Riemenschneider, D. E., Sharma, P., Thakur, R., Sober, A., Sober, J., Jones, W. S., Anttonen, S., Vapaavuori, E. & Mankovska, B. (2003). Tropospheric O₃ moderates responses of temperate hardwood forests to elevated CO₂: a synthesis of molecular to ecosystem results from the Aspen FACE project. *Functional Ecology*, 17 (3): 289-304.

56. Karnosky, D. F., Skelly, J. M., Percy, K. E. & Chappelka, A. H. (2007). Perspectives regarding 50 years of research on effects of tropospheric ozone air pollution on US forests. *Environmental Pollution*, 147 (3): 489-506.
57. Karlsson, P. E., Medin, E. L., Ottosson, S., Sellden, G., Wallin, G., Pleijel, H. & Skarby, L. (2004). A cumulative ozone uptake-response relationship for the growth of Norway spruce saplings. *Environmental Pollution*, 128 (3): 405-17.
58. Karenlämpi, L. & Skarby, L. (1996). Critical levels for ozone in Europe: Testing and finalizing the concepts. UN-ECE Workshop Report.
59. Kerstiens, G. & Lenzian, K. J. (1989). Interactions between ozone and plant cuticles. I. Ozone deposition and permeability. *New Phytologist*, 112 (1): 13-19.
60. Kleinfeld, M., Giel, C. & Tabershaw, I. R. (1957). Health hazards associated with inert gas shield metal arc welding. *American Medical Association Archives of Industrial Health*, 15: 27-31.
61. Kent O. Burkey, Edwin L. Fiscus, Fitzgerald L. & Booker 2005 Crop responses to ozone: uptake, modes of action, carbon assimilation and partitioning ; US Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Plant Science Research Unit, and Department of Crop Science, North Carolina State University, 3908 Inwood Road, Raleigh, NC 27603, USA.
62. Kucera, V. & Fitz, S. (1995). Direct and indirect air pollution effects on materials including cultural monuments. *Water, Air & Soil Pollution*, 85 (1): 153-165.
63. Kim, J. G., Yousef, A. E. & Khadre, M. A. (2003). Ozone and its current and future application in the food industry. *Advances in food and nutrition research*, 45: 167-218.
64. Kangasjärvi, J., Jaspers, P. & Kollist, H. (2005). Signalling and cell death in ozone-exposed plants. *Plant, Cell & Environment*, 28 (8): 1021-1036. Kronfuss, G., Polle, A., Tausz, M., Havranek, W. M. & Wieser, G. (1998). Effects of ozone and mild drought stress on gas exchange, antioxidants and chloroplast pigments in current-year needles of young Norway spruce [*Picea abies* (L.) Karst.]. *Trees - Structure and Function*, 12 (8): 482-489.
65. Langebartels, C., Wohlgemuth, H., Kschieschan, S., Grun, S. & Sandermann, H. (2002). Oxidative burst and cell death in ozone-exposed plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 40 (6-8): 567-575.

66. Langford, S. D., Bidani, A. & Postlethwait, E. M. (1995). Ozone-reactive absorption by pulmonary epithelial lining fluid constituents. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 132 (1): 122-130.
67. Lamaux E, Labatut A, Fontan J, Lopez A, Druilhet A, Brunet Y (1994) Biosphere atmosphere.
68. exchanges: ozone and aerosol dry deposition velocities over a pine forest. *Environmental Monitoring and Assessment*, 31, 175–181.
69. Leitaó, L., Bethenod, O. & Biolley, J.-P. (2007). The impact of ozone on juvenile maize (*Zea mays* L.) plant photosynthesis: effects on vegetative biomass, pigmentation, and carboxylases (PEPc and Rubisco). *Plant Biology*, 9 (4): 478-488.
70. Lee, B.-S. & Wang, J.-L. (2006). Concentration variation of isoprene and its implications for peak ozone concentration. *Atmospheric Environment*, 40 (28): 5486-5495.
71. Lehnherr, B., Grandjean, A., Machler, F. & Fuhrer, J. (1987). The effect of ozone in ambient air on ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase activity decreases photosynthesis and grain yield in wheat. *Journal of Plant Physiology*, 130: 189–200.
72. Long SP, Naidu SL (2002) Effects of oxidants at the biochemical, cell and physiological levels, with particular reference to ozone. In JNB Bell, M Treshow, eds, *Air Pollution and Plants*, Ed 2. J. Wiley, London, pp 69–88.
73. Loreto, F., Mannozi, M., Maris, C., Nascetti, P., Ferranti, F. & Pasqualini, S. (2001). Ozone quenching properties of isoprene and its antioxidant role in leaves. *Plant Physiology*, 126 (3): 993-1000.
74. Loreto, F. & Fares, S. (2007). Is ozone flux inside leaves only a damage indicator? Clues from volatile isoprenoid studies. *Plant Physiology*, 143 (3): 1096-1100.
75. Löw, M., Herbinger, K., Nunn, A., Hãrberle, K.-H., Leuchner, M., Heerdt, C., Werner, H., Wipfler, P., Pretzsch, H., Tausz, M. & Matyssek, R. (2006). Extraordinary drought of 2003 overrules ozone impact on adult beech trees (*Fagus sylvatica*). *Trees - Structure and Function*, 20 (5): 539-548.
76. María J. Sanz, , Francisco Sanz, Vicent Calatayud, and Gerardo Sanchez-Peña, (2007). Ozone in Spain's national parks and protected forests the scientific world journal 7(S1), 67–77 ISSN 1537-744X; DOI 10.1100/tsw.2007.8.

77. Maurer, S., Matyssek, R., Günthardt-Goerg, M., Landolt, W. & Einig, W. (1997). Nutrition and the ozone sensitivity of birch (*Betula pendula*) - I. Responses at the leaf level. *Trees - Structure and Function*, 12 (1): 1-10.
78. Martin, M. J., Host, G. E., Lenz, K. E. & Isebrands, J. G. (2001). Simulating the growth response of aspen to elevated ozone: a mechanistic approach to scaling a leaf-level model of ozone effects on photosynthesis to a complex canopy architecture. *Environmental Pollution*, 115: 425-436.
79. María J. Sanz, , Francisco Sanz, Vicent Calatayud, and Gerardo Sanchez-Peña, (2007) Ozone in Spain's national parks and protected forests the scientific world journal 7(S1), 67–77 ISSN 1537-744X; DOI 10.1100/tsw.2007.8.
80. Matyssek, R., Le Thiec, D., Löw, M., Dizengremel, P., Nunn, A. J. & Häberle, K.-H. (2006). Interactions between drought and O₃ stress in forest trees. *Plant Biology*, 1: 11-17.
81. Mills G, Wagg S, Harmens H (2013) Ozone Pollution: Impacts on ecosystem services and biodiversity. ICP vegetation Coordination Center - CEH, CEH Bangor.
82. Mills G, Buse A, Gimeno B, Bermejo V, Holland M, Emberson L, Pleijel H, (2007) A synthesis of AOT40-based response functions and critical levels of ozone for agricultural and horticultural crops, *Atmospheric Environment*, Volume 41, Issue 12, April 2007, Pages 2630-2643.
83. Mills, G, Hayes, F., Simpson, D., Emberson, L., Norris, D., Harmens, H., Büker, P., 2011a. Evidence of widespread effects of ozone on crops and (semi-)natural vegetation in Europe 3 (1990-2006) in relation to AOT40- and flux-based risk maps. *Global Change Biology* 17, 592- 4 613.
84. Mills, G., Pleijel, H., Braun, S., Büker, P., Bermejo, V., Calvo, E., Danielsson, H., Emberson, L., González Fernández, I., Grünhage, L., Harmens, H., Hayes, F., Karlsson, P.-E., Simpson, D., 2011b. New stomatal flux-based critical levels for ozone effects on vegetation. *Atmospheric Environment*, 45, 5064 – 5068.
85. Mills G, katrina sharps, david simpson, håkan pleijel, michael frei, kent burkey, lisa emberson, johan uddling, malin broberg, zhaozhong feng, kazuhiko kobayashi, madhoolika agrawal, (2018), closing the global ozone yield gap: quantification and cobenefits for multistress tolerance.
86. Molina, M. J. & Rowland, F. S. (1974). Stratospheric sink for chlorofluoromethanes: chlorine atomcatalysed destruction of ozone. *Nature*, 249 (5460): 810-812.

87. Müller, C. & Riederer, M. (2005) Plant surface properties in chemical ecology. *Journal of Chemical Ecology*, 31 (11): 2621-2651.
88. McDonnell, W., Stewart, P., Smith, M., Pan, W. & Pan, J. (1999). Ozone-induced respiratory symptoms : exposure-response models and association with lung function. *European Respiration Journal*, 14 (4): 845- 853.
89. Mudway, I. S. & Kelly, F. J. (2000). Ozone and the lung: a sensitive issue. *Molecular Aspects of Medicine*, 21 (1-2): 1-48.
90. Miller, F. J., Overton, J. H., Jaskot, R. H. & Menzel, D. B. (1985). A model of the regional uptake of gaseous pollutants in the lung : I. The sensitivity of the uptake of ozone in the human lung to lower respiratory tract secretions and exercise. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 79 (1): 11-27.
91. Middleton, J. T., Kendrick, J. B. & Schwalm, H. W. (1950). Injury to herbaceous plants by smog or air pollution. *Plant Disease Reports*, 34: 245-252.
92. Mills, G., Harmens, H. (eds). 2011. Ozone pollution: A hidden threat to food security. Programme Coordination Centre for the ICP Végétation, Centre for Ecology and Hydrology, Bangor, UK. ISBN 978-1-906698-27-0. (<http://icpvegetation.ceh.ac.uk>)
93. Morgan, P. B., Ainsworth, E. A. & Long, S. P. (2003). How does elevated ozone impact soybean? A metaanalysis of photosynthesis, growth and yield. *Plant, Cell and Environment*, 26 (8): 1317-1328.
94. Mouillon, J. M., Aubert, S., Bourguignon, J., Gout, E., Douce, R. & Rebeille, F. (1999). Glycine and serine catabolism in non-photosynthetic higher plant cells: their role in C1 metabolism. *Plant Journal*, 20 (2): 197- 205.
95. Noctor, G. & Foyer, C. H. (1998). Ascorbate and glutathione: Keeping Active Oxygen Under Control. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 49: 249-279.
96. Oksanen, E. & Holopainen, T. (2001). Responses of two birch (*Betula pendula* Roth) clones to different ozone profiles with similar AOT40 exposure. *Atmospheric Environment*, 35 (31): 5245-5254.
97. Overmyer, K., Brosche, M. & Kangasjarvi, J. (2003). Reactive oxygen species and hormonal control of cell death. *Trends in Plant Science*, 8 (7): 335-42. Ojenperä, K., Pätsikkä, E. & Ylänta, T. (1998). Effects of low ozone exposure of spring wheat on net CO₂ uptake, Rubisco, leaf senescence and grain filling. *New Phytologist*, 138: 451-460.

98. Paoletti, Elena, November (2006) Impact of ozone on Mediterranean forests: A review
Istituto Protezione Piante, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Via Madonna del Piano 10, I-
50019 Sesto Fiorentino, Italy Environmental Pollution Volume 144, Issue 2, , Pages 463-474.
99. Pell, E. J., Schlagnhauser, C. D. & Arteca, R. N. (1997). Ozone-induced oxidative stress:
mechanisms of action and reaction. *Physiologia Plantarum*, 100: 264-273.
100. Pihl Karlsson G, Karlsson PE, Soja G, Vandermeiren K, Pleijel H (2004) Test of the
shortterm
101. critical levels for acute ozone injury on plants—improvements by ozone uptake
modelling and the use of an effect threshold. *Atmospheric Environment*, 38, 2237–2245.
102. Pihl Karlsson G, Karlsson PE, Danielsson H, Pleijel H (2003) Clover as a tool for
bioindication
103. of phytotoxic ozone—5 years of experience from southern Sweden— consequences for
the short-term critical levels. *The Science of the Total Environment*, 301, 205–213.
104. Pleijel, H., Ojanperä, K., Danielsson, H., Sild, E., Gelang, J., Wallin, G., Skärby, L.,
Selldén, G., 1997. Effects of ozone on leaf senescence in spring wheat - possible
consequences for grain yield. *Phyton (Horn, Austria)* 37, 227-232.
105. Pleijel, H., Danielsson, H., Vandermeiren, K., Blum, C., Colls, J., Ojanperä, K., 2002.
Stomatal conductance and ozone exposure in relation to potato tuber yield - results from the
European CHIP programme. *European Journal of Agronomy* 17, 303-317.
106. Pleijel, H., Danielsson, H., Ojanperä, K., De Temmerman, L., Högy, P., Badiani, M.,
Karlsson, P.E., 2004. Relationships between ozone exposure and yield loss in European
wheat and potato - a comparison of concentration- and flux-based exposure indices.
Atmospheric Environment 38, 2259-2269.
107. Pleijel, H., Danielsson, H., Emberson, L., Ashmore, M., Mills, G., (2007) Ozone risk
assessment for agricultural crops in Europe: Further development of stomatal flux and flux-
response relationships for European wheat and potato. *Atmospheric Environment* 41, 3022-
3040.
108. Pryor, W. A. (1992). How far does ozone penetrate into the pulmonary air/tissue
boundary before it reacts? *Free Radic Biol Med*, 12 (1): 83-8.

109. Polle, A., Wieser, G. & Havranek, W. M. (1995). Quantification of ozone influx and apoplastic ascorbate content in needles of Norway spruce trees (*Picea abies* L., Karst) at high altitude. *Plant, Cell & Environment*, 18 (6): 681-688.
110. Rapport de l'environnement de l'Académie des sciences le 5 mai 2015 et par l'académie des sciences en séance plénière le 16 juin 2015.
111. Rao, M. V., Koch, J. R. & Davis, K. R. (2000). Ozone: a tool for probing programmed cell death in plants. *Plant Molecular Biology*, 44: 345-358.
112. Rainer Matyssek & Heinrich Sandermann Jr , (2003) Impact of Ozone on Trees : an Ecophysiological Perspective *Progress in Botany*, Vol. 64 © Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
113. Rowland, F. S. (2006). Stratospheric ozone depletion. *Philosophical Transactions Of The Royal Society Of London. Series B, Biological Sciences*, 361 (1469): 769-790.
114. Reinert A. and Eason G, (2000). Genetic control of O₃ sensitivity in a cross between two cultivars of snap bean. *J. American Society of Horticultural Science* 125(2):222-227.
115. Reilly, J., Paltsev, S., Felzer, B., Wang, X., Kicklighter, D., Melillo, J., Prinn, R., Sarofim, M., Sokolov, A. & Wang, C. (2007). Global economic effects of changes in crops, pasture, and forests due to changing climate, carbon dioxide, and ozone. *Energy Policy*, 35 (11): 5370-5383.
116. Runeckles, V. C. & Palmer, K. (1987). Pretreatment with nitrogen dioxide modifies plant response to ozone. *Atmospheric Environment*, 21 (3): 717-719.
117. Rubin, M. (2001). The history of ozone. The Schönbein period, 1839-1868. *Bulletin for the History of Chemistry*, 26 (1): 40-56.
118. Rapport de l'environnement de l'Académie des sciences le 5 mai 2015 et par l'académie des sciences en séance plénière le 16 juin 2015.
119. Roux, E., Ouedraogo, N., Hyvelin, J.-M., Savineau, J.-P. & Marthan, R. (2002). In vitro effect of air pollutants on human bronchi. *Cell Biology and Toxicology*, 18 (5): 289-299.
120. Sharkey, T. D. & Yeh, S. (2001). Isoprene emission from plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 52: 407-436.

121. Santé publique France, 2016. Impacts de l'exposition chronique aux particules fines sur la mortalité en France continentale et analyse des gains en santé de plusieurs scénarios de réduction de la pollution atmosphérique. Santé Publique France.
122. Sanz MJ, Calatayud V, Cervero J (2002) Visible injury in native vegetation as a tool for detecting ozone in rural areas in Spain. In: Urban air pollution, bioindication and environmental awareness (eds Klumpp A, Ansel W, Klumpp G), pp. 147–156. Cuvillier Verlag.
123. Saxe, H. (2002). Physiological responses of trees to ozone - interactions and mechanisms. *Current Topics in Plant Biology*, 3: 27-55.
124. Sillman, S. (1999). The relation between ozone, NO_x and hydrocarbons in urban and polluted rural environments. *Atmospheric Environment*, 33 (12): 1821-1845.
125. Smirnoff, N. & Wheeler, G. L. (2000). Ascorbic acid in plants: biosynthesis and function. *Critical Review in Biochemistry and Molecular Biology*, 35 (4): 291-314.
126. Sivasakthivel T and K.K Siva, Kumar Reddy, February 2011, Ozone layer depletion and its effects: A review international journal of environmental science and development, Vol.2, No.1, ISSN: 2010-0264.
127. Stella P, Personne E, Lamaud E, Loubet B, Trebs I, Cellier P (2013) Assessment of the total, stomatal, cuticular, and soil 2 year ozone budgets of an agricultural field with winter wheat and maize crops. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*, 118, 1120–1132.
128. Stefania pasqualini, Francesco paolocci, Andrea borgogni, Roberta morettini & Luisa ederli, (2003) The overexpression of an alternative oxidase gene triggers ozone sensitivity in tobacco plants, *Plant, Cell and Environment* (2007) 30, 1545–1556.
129. Takahashi, M., Nakagawa, M., Sakamoto, A., Ohsumi, C., Matsubara, T. & Morikawa, H. (2005). Atmospheric nitrogen dioxide gas is a plant vitalization signal to increase plant size and the contents of cell constituents. *New Phytologist*, 168 (1): 149-154.
130. Tausz, M., Grulke, N. E. & Wieser, G. (2007). Defense and avoidance of ozone under global change. *Environmental Pollution*, 147 (3): 525-531.
131. Uddling, J., Gunthardt-Goerg, M. S., Matyssek, R., Oksanen, E., Pleijel, H., Sellden, G. & Karlsson, P. E. (2004). Biomass reduction of juvenile birch is more strongly related to stomatal uptake of ozone than to indices based on external exposure. *Atmospheric Environment*, 38 (28): 4709-4719.

132. Ulrich E, Dalstein L, Günthardt-Goerg MS et al. (2006). Renecofor. Effets de l’ozone sur la végétation, concentrations d’ozone (2000-2002) et symptômes d’ozone sur la végétation forestière (2001-2003). Ed: Office national des forêts, direction technique, département recherche, 126 p.
133. Vanhatalo, M., Huttunen, S. & Bäck, J (2001). Effects of elevated [CO₂] and O₃ on stomatal and surface wax characteristics in leaves of pubescent birch grown under field conditions. *Trees structure and Function*, 15 (5): 304-313.
134. Vaultier M-N, Jolivet Y (2015) Ozone sensing and early signaling in plants: An outline from the cloud. *Environmental and Experimental Botany*, 114, 144–152.
135. Von Gunten, U. (2007). The basics of oxidants in water treatment. Part B: ozone reactions. *Water Science and Technology*, 55 (12): 25-29.
136. Van Goethem TMWJ, Azevedo LB, van Zelm R, Hayes F, Ashmore MR, Huijbregts MAJ (2013) Plant Species Sensitivity Distributions for ozone exposure. *Environmental Pollution*, 178, 1–6.
137. Wang, X. & Mauzerall, D. L. (2004). Characterizing distributions of surface ozone and its impact on grain production in China, Japan and South Korea: 1990 and 2020. *Atmospheric Environment*, 38 (26): 4383- 4402.
138. Wittig, V. E., Ainsworth, E. A. & Long, S. P. (2007). To what extent do current and projected increases in surface ozone affect photosynthesis and stomatal conductance of trees? A meta-analytic review of the last 3 decades of experiments. *Plant Cell Environ*, 30 (9): 1150-62.
139. WHO, 2013. Review of evidence on health aspects of air pollution – REVIHAAP Project Technical Report. Bonn.
140. Zhaozhong Feng, Kazuhiko Kobayashi, (2009). Assessing the impacts of current and future concentrations of surface ozone on crop yield with meta-analysis, *Atmospheric Environment* Volume 43, Issue 8, March 2009, Pages 1510-1519.

<https://doi.org/10.48047/AFJBS.7.2.2025.250-264>



African Journal of Biological Sciences

Journal homepage: <http://www.afjbs.com>



Research Paper

Open Access

Visible foliar damage to *Phaseolus vulgaris* L. and *Wheat* L. varieties demonstrates tropospheric ozone impacts in the city of Tiaret (West of Algeria)

Bourbatache Mansour^{1*}, Hassani Abdelkrim², Maatoug Mhamed³, Mohamed Negadi⁴

^{1*} Ibn khaldoun University of Tiaret, Laboratory of Agro-biotechnology & Nutrition in Semi-Arid Areas/Tiaret, Algeria. Email: mansour.bourbatache@univ-tiaret.dz Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-8759-2293>

² Ibn khaldoun University of Tiaret, Laboratory of Agro-biotechnology & Nutrition in Semi-Arid Areas/Tiaret, Algeria. Email: abdelhass61@gmail.com Orcid: <https://orcid.org/0009-0008-8365-2798>.

³ Ibn khaldoun University of Tiaret, Laboratory of Agro-biotechnology & Nutrition in Semi-Arid Areas/Tiaret, Algeria. Email: maatoug.moh@gmail.com Orcid: <https://orcid.org/0000-0001-5620-0931>

⁴ Ibn khaldoun University of Tiaret, Laboratory of Agro-biotechnology & Nutrition in Semi-Arid Areas/Tiaret, Algeria. Email: mohamednegadi@univ-tiaret.dz Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-7144-5627>

Volume 7, Issue 2, Feb 2025

Received: 05 Nov 2024

Accepted: 26 Jan 2025

Published: 18 Feb 2025

[doi:10.48047/AFJBS.7.2.2025.250-264](https://doi.org/10.48047/AFJBS.7.2.2025.250-264)

Abstract

The objectives of this resarche were to find and describe the minimum ozone exposure needed to cause visible injury on bioindicators, to make comparaison between concentration-based ozone exposure indices and ozone uptake based exposure, to develop a new uptake-based model of ozone into bean and wheat plants and suggest and define a new short-term critical level for tropospheric ozone effects. Another objective was to describe and analyse factors influencing the ozone sensitivity of the local tested plants.

We use genotypes of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and (*Wheat* L.) with various degrees of sensitivity to investigate the impacts of ozone on the morphology and development of the plants. We use ozone-induced foliar injury index and we measure the percentage of leaves necrosis to quantify the ozone stress on the plants.

We expected that the local plants used in the experiment would have the same responses as the ozone-sensitive genotypes. However, the results show that the soft wheat variety shows a remarkable sensitivity similar as the ozone-sensitive genotype suffering higher ozone-induced leaf damage.

But the resistant or local genotype is postulated that the high ozone sensitivity of sensitive genotypes causes leaf damage and therefore results in higher marked-sensitivity responses.

Keywords: Bean, Wheat, Ozone, Resistance, Sensitive, Leaf damage.

1-Introduction

Ground-level ozone is a secondary pollutant, chemically produced from precursors (CO, COV, NOX), in the presence of solar radiation. Although there is ozone present all year a round, there are episodic peaks of higher concentrations that occur mainly in spring and summer. High ozone concentrations are observed in the mediterranean area because this region combines a high level of sunshine, stratospheric intrusions and a high production of precursor molecules particularly from road transport and nearby cities. (Environmental science committee, 2015).

Although much is known about ozone concentrations and ozone impacts in the European mediterranean region, including Spain in (Sanz MJ *et al.*, 2007), Greece in (Sivasakthivel *et al.*, 2011), and Italy (Paoletti, 2006; Tamara *et al.*, 2021), very little is known about ozone concentrations and impacts in the African mediterranean region.

The few studies in Egypt have shown the impact of ozone on the growth and yield in local varieties of radish (*Raphanus sativus* L.) and turnip (*Brassica rapa* L.) at two sites in northern Egypt, at a suburban site, in Alexandria cited in (Hassan *et al.*, 1994).

Model data of ozone impacts predicts that there are high ozone concentrations and reduced crop growth in the African mediterranean region, including Algeria (Mills *et al.*, 2018) but until this date we have not been verified using local data.

One of the first symptoms of ozone damage to vegetation is visible lesions on the leaves (Black *et al.*, 2007). These can be an early sign of plant stress that indicate that there is damage to physiological and biochemical processes essential to plant development. This can include decreased photosynthesis, decreased vegetative and reproductive growth (Long and Naidu, 2002), and decreased yields of crops (Fiscus *et al.*, 2005 ; Wittig *et al.*, 2007; Feng and Kobayashi, 2009).

There is a very high variability in sensitivity to ozone from one species to another, and even between varieties of the same species (Mills *et al.*, 2007; ICP Vegetation, 2011; Ulrich *et al.*, 2006). Ozone sensitive species are widely grown in Algeria include the food crops wheat, bean, pea and tomato. Surveys of plants for visible injury symptoms have shown ozone damage to vegetation in many locations.

This includes the studies of Ozone effects on plants in natural ecosystems in USA by (Grulke and Heath, 2019), also the risk factor for trees and forests in europe presented by (Matyssek and Innes, 2003) and widespread damage due to ozone has been found in Europe (Mills *et al.*, 2018).

Biomonitoring of ozone impacts by observing visible leaf damage has been carried out for many years particularly in Europe and in the USA. This has often used ozone-sensitive species for example tobacco in ozone induced cell death in Tobacco cultivar (*Bel W3*) Plants (Pasqualini *et al.*, 2003) and clover in (Pihl Karlsson *et al.*, 1994).

Some biomonitoring studies used variations in ozone sensitivity between varieties that give an

ozone-sensitive and an ozone-resistant genotype. One such pairing used for plant biomonitoring of ozone impacts is based on the use of two genotypes of beans (*Phaseolus vulgaris* L.) known for their tolerance (R123) and sensitivity to ozone (S156) (Reinert and Eason, 2000; Burkey *et al.*, 2005).

In this study we investigate the potential impact of ozone on vegetation in the city of Tiaret, Algeria through the use of local a legume (beans) and a cereal species (wheat). We use many years of observation between (from 2016 till 2022) by evaluating the potential necrotic symptoms and average percentage necrotic leaves.

2-Materials and methods

2-1-Study area

This study is located into Karman Campus of Tiaret University in the city of Tiaret, located in northwest of Algeria, western highlands between the tellienne chain to the north and the Sahara Atlas chain to the south. Tiaret is a small city of approximately à 276 330 people according to the latest population census within a predominantly agricultural region, and the university is located on the outskirts to the East of the city, (35°23'12.8528" N; 1°20'57.0809"E).

The site is at an altitude of 1080 m, it is characterized by a harsh winter, often accompanied by snowfall, with an average temperature of 12°C together with a hot and dry summer with an average temperature of 38°C. Major sources of air pollution in the region are agricultural activity and some industrials activities with other important sources of road traffic.

2-2-Biomonitoring experiment

It is anticipated that due to uncontrolled road traffic and industrial emissions, combined with intense sunshine and a hot climate, this would favour the formation of high ozone concentrations (Bang, 2012).

Models of air quality predict that ozone concentrations in the area significantly important ozone concentrations are not routinely measured within Algeria, however, some measurements of ozone concentration were made during the course of this study.

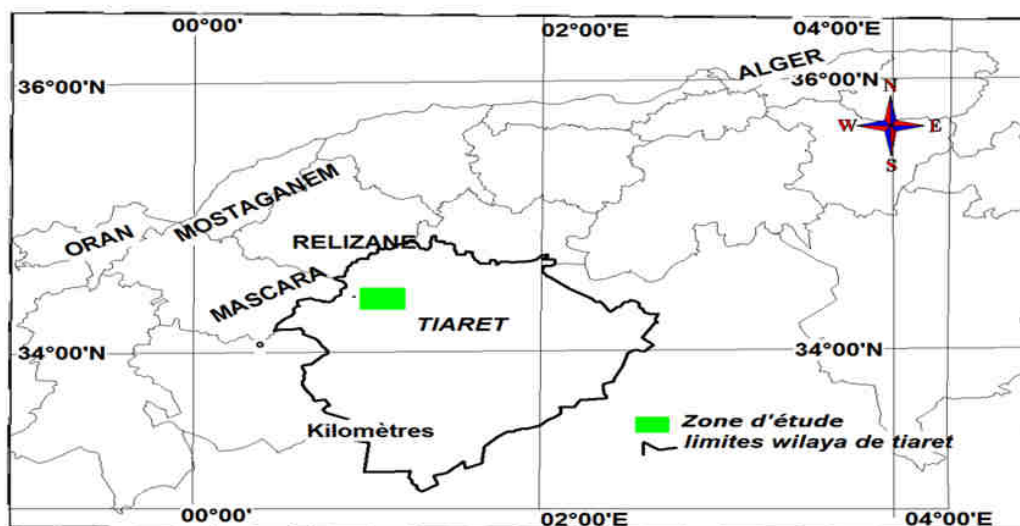


Fig 1: Location map of the wilaya of Tiaret (Azzaoui, 2013)

2-3-Genotypes and varieties used in the experiment

Some of species and varieties used were selected based on known sensitivity to ozone and these were complemented by some local varieties. Two genotypes of bean were used (*Phaseolus vulgaris* L). The (R123) resistant bean and (S156) sensitive to ozone (Burkey et al., 2005), a local variety (of French origin) is selected to compare its sensitivity.

The two varieties of wheat which are used in this study are as follows: (*Triticum durum* L.) named Semito and (*Triticum aestivum* L.) named Ain-abid, are tested to explore sensitivity to ozone concentration of these particular varieties were tested by other researchers (Castel, 2016).

2-4-Growing conditions

Seeds were planted and raised in a growth room where temperature and relative humidity were maintained at 23°C and 75 % during the day and 20°C and 85% at night, and with a photoperiod of 10 h (08 h-17 h). The plants were manually irrigated every day by the same quantity of water.

2-5-Exposure to ambient air

Exposure to ambient air began after plants had reached sufficient size, which for bean was when the plants had (05) leaves, and for wheat when the plants are in booting (GS41) of development. At this point the plants were placed in a protected area within the grounds. Due to the hot and dry conditions the plants were irrigated by hand every day and shade netting was used around the sides of the enclosure.

Table 1: Species and varieties of experience study

Species / Variety	Description	Origin	Ozone sensitivity	Reference
<i>Phaseolus vulgaris</i>	R123	ICP/CEH UK	Resistant	Burkey et al., 2005

<i>Phaseolus vulgaris</i>	S156	ICP/CEH UK	Sensitive	Burkey et al., 2005
<i>Phaseolus vulgaris</i>	French variety	Local	Unknown	/
<i>Durum Wheat</i>	Semito variety	Local	Sensitive	Castel JF, 2016
<i>Common Wheat</i>	Ain-abid variety	Local	Sensitive	Castel JF, 2016

Plants were assessed daily during the exposure period, for consistency the plant assessments were made between 11 a.m, and 13 p.m. Assessments comprised leaf counts to determine the proportion of leaves that showed necrotic symptoms, and quantification of the extent of necrosis on a selection of mature leaves.



Fig 2: Growth of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and (*Wheat* L.) in the open chamber

2-6-Ozone measurement

Daily measurements of tropospheric ozone were carried out with a Cairsens-sensor CCB0100002695 (Cairsens® | Micro-sensors | Ambient | Envea| French). The readings of results for concentration of ozone were made from ambient air near vegetation exposure experiments.

2-7-Assessment of ozone injury

Ozone injury on sepecies consists of bronze-coloured lesions that gradually join together to cover large parts of the leaf surface. Weekly assessments of injury are encouraged wherever practical. If this is not possible, as a minimum, there will be two assessment times:

1. The onset of flowering (When 50% or more of the plants are flowering).
2. Two weeks after the onset of flowering (ICP Vegetation, 2012).

2-8-Statistical analysis

Data analysis was carried out using programme (Satistica 12.0) and model residuals were checked for the appropriateness of each model. Data of leaf damage and percentage of leaf necrosis was analysed separately for each experimental year.

The responses of leaf damage and percentage of leaf necrosis to the fixed factors of each periode of days in each year and ozone concentration (as well as their interactions) were separately explored using linear mixed models (Pinheiro *et al.*, 2017), with the random effect of plant response (%) and maximum likelihood (%) estimation.

Leaf damage and percentage of leaf necrosis data was transformed by the linear analysis. Dates were analysed using days and years. The suitability of the inclusion of an autoregressive (AR) correlation term for repeated measures was determined by plots and model fit.

3-Results

The next figure shows ozone concentrations between (11:30 and 13:30) am, with concentrations between ($22,01 \pm 8,72$ and $34,86 \pm 4,14$) ppb, in the study area with various observations during the month of june between the years (2016-2022) that can be present with fluctuations in ozone concentrations which depends on the time of the observations.

Data analysis may show some variability during the examination days, the concentrations may take a maximum and minimum of (28.36; 44.49 ppb) respectively these concentrations may negatively influence by necrotic responses triggered once contact with the cumulated concentration of ozone.

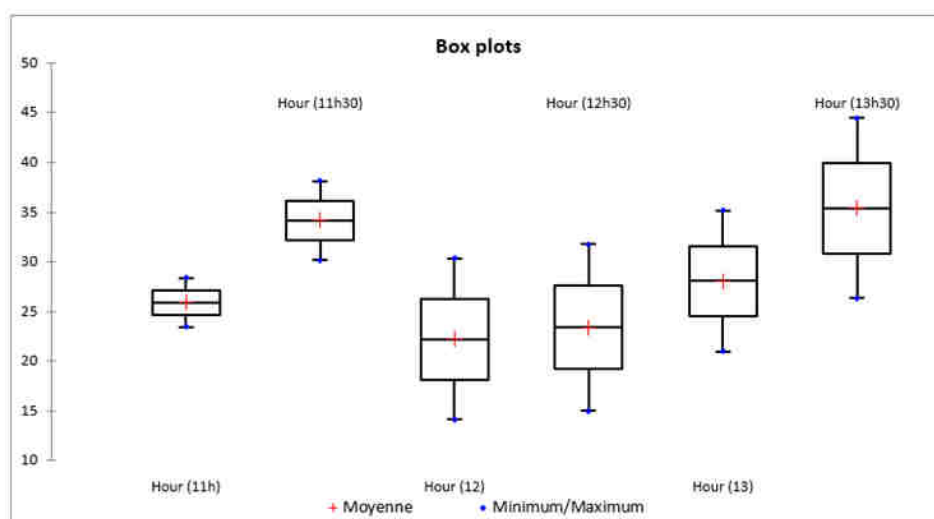


Fig 3 : Statistical analysis of ozone concentration (ppb) (2016-2022)

3-1-Effect of ozone cumulations on bean responses and injuries

The analysis of cumulative leaf damage and percentages of necrotic leaves on the tested bean genotypes during 14 days of exposure shows a linear evolutionary relationship with a response granted to the ozone-sensitive genotype (S156) which takes average values of leaf damage estimated at ($3,85 \pm 1,89\%$), same also for the percentage of necrotic leaves with values of ($21,43 \pm 10,51\%$).

For the resistant genotype (R123) and the local variety, a slight increase of 1% of damage compared to the sensitive genotype, with an average of $(4,86 \pm 2,38\% ; 4,83 \pm 2,37\%)$ respectively.

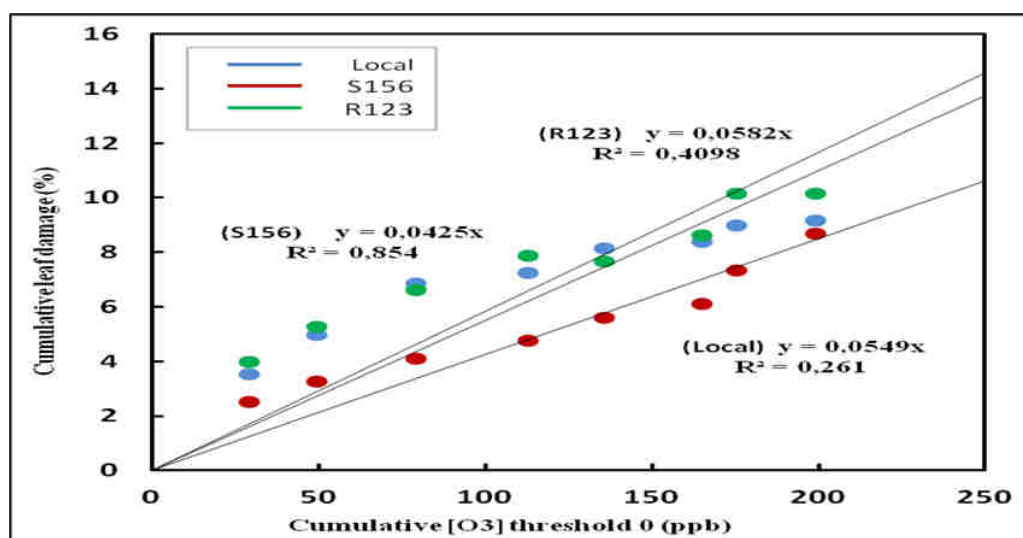


Fig 4 : Relationship between the cumulation of ozone concentrations and foliar damage in the bean genotypes

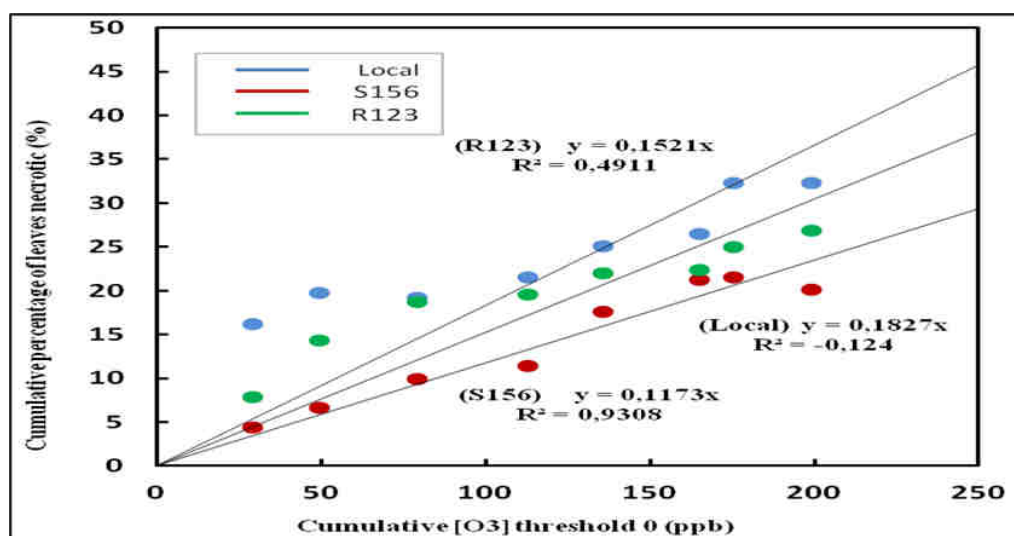


Fig 5 : Relationship between the cumulation of ozone concentrations and cumulative percentage of leaves necrotic of the bean genotypes

3-2-Effect of ozone cumulations on (*Wheat L.*) responses and injuries

In wheat varieties, the examination of linear relationships between the cumulative leaf damage has noticeably homogeneous average for durum wheat (*Durum Wheat L.*, $10,02 \pm 6,88$) and soft wheat (*Common Wheat L.*, $9,73 \pm 6,85\%$). However there is some difference in the percentages of necrotic leaves of $(22,36 \pm 14,75\% ; 33,41 \pm 20,41\%)$ respectively between the two varieties. A gap of $(20,15\%)$ is the maximum and minimum between $(1,29\%$ to $21,44\%)$ leaf damage during 14 days of exposure

shows a highly significant impact of the effect of ozone. Injuries vegetative system which results in quickly sensitivity upon contact with this secondary type of pollution.

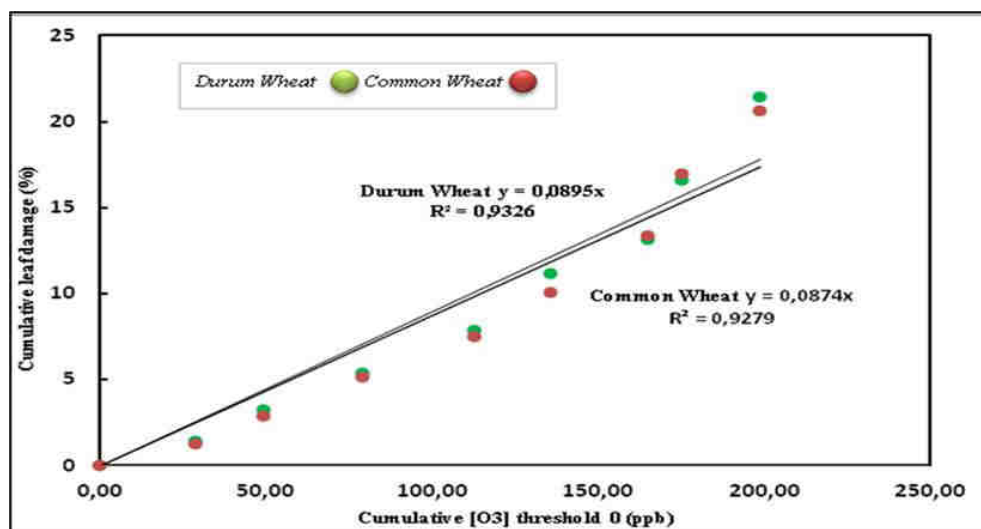


Fig 6 : Relationship between the cumulation of ozone concentrations and foliar damage in the wheat varieties

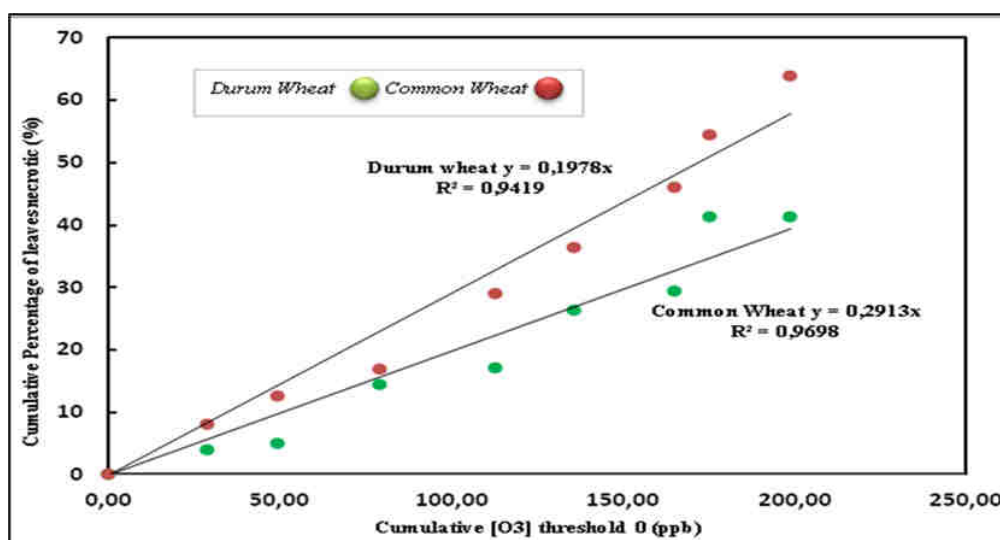


Fig 7 : Relationship between ozone concentrations based on cumulative percentage of leaves necrotic in the wheat varieties

4-Discussion

The study of visible leaf damage caused by ozone to the vegetative plan was determined according to the rate of damage or simple leaf damage, designed to be effective in terms of time and applicable to all vegetative species.

The analysis of sensitivity and morphological responses of varieties and genotypes during this experiment shows a much higher sensitivity for the two varieties of wheat with a correlation whose value R^2 is between (0,92-0,96).

For the tested genotypes of beans (S156), (R123) and bean (local) as sensitive or resistant genotypes. The highest percentage of necrotic leaves estimated at (21,43±10,51% for the local variety) and an average of (19,80±9,71% for the resistant genotype R123) as well as an average of (19,35±9,50 for the sensitive genotype S156).

In view of these data, a decrease in responses is therefore expected for the sensitive bean variety (S156) compared to the resistant bean variety (R123).

The findings of (Bagard, 2017) who conducted a study in Paris region for the period from 2009 to 2015, confirmed that exposure to ozone of vegetation has exceeded the critical threshold of 3000 ppb.h, above which 5% yield losses are expected for cultivated species (Mills *et al.*, 2007).

In view of these data, a decrease in responses is therefore expected for the sensitive bean variety (S156) compared to the resistant bean variety (R123).

Tab 2 : Sensitivity analysis using the leaf damage and percentage of necrotic leaves

Species	Leaf damage (%)		Average percentage of necrosis (%)	
	X	R^2	X	R^2
<i>Phaseolus vulgaris</i> (S156)	4,83±2,37	0,85	19,35±9,50	0,93
<i>Phaseolus vulgaris</i> (Local)	3,85±1,89	0,26	21,43±10,51	-0,12
<i>Phaseolus vulgaris</i> (R123)	4,86±2,38	0,41	19,80±9,71	0,49
<i>Durum Wheat</i>	10,02±6,88	0,93	22,36±14,75	0,94
<i>Common Wheat</i>	9,73±6,85	0,92	33,41±20,41	0,96

For wheat varieties, an average of (22,36±14,75%) as the value assessed for (*Durum Wheat*) followed by a rate with (33,41±20,41%) for (*Common Wheat*), from which we can report this sensitivity as a species more vulnerable to ozone.

The relationships of damage and injury due to ozone since damage criteria are often suggested in terms of "Dose-response" cited in (Pleijel *et al.*, 2002 ; Danielsson *et al.*, 2003), the dose and the average concentration were determined for each plant.

The dose is defined here as the cumulative average concentration in direct relation with the different percentages calculated. The observations of the onset of necrosis from ozone, cited in

(Gelang *et al.*, 2000; Pleijel *et al.*, 2007), included a Jarvis-Stewart function for the influence of ozone on ecophysiological responses.

The relationship between concentration and damage is presented in Tab 2 . Damage was observed at all plants tested. If concentrations were higher than (20 ppb) or the parameters were satisfactory for determining the onset of damage, the data points corresponding to injured plants would appear at or above a critical response concentration by signs of necrosis and yield loss.

It is clear that concentration and damage are not satisfactory for determining the onset of visual damage. Many plants exposed to relatively low concentrations and low doses were observed, while many plants exposed to high concentrations or doses were not.

Genotypes and varieties injured by ozone damage were reasonably observed when the mean ozone flux density and total uptake (product of mean flux density and duration of exposure period) were considered. The ozone flux density varied cumulatively from 0 ppb to 250 ppb, during different stages of exposure in this study.

The ozone flux density versus duration of exposure period (t=14 days) gave a linear relationship in which injury occurred much more rapidly. Points represent the combination of ozone flux and injury was first observed in plants from local origin.

However, there is a time to say between exposure and visible symptoms of injury, depending on the varietal effect (vegetables and cereals) so the injury threshold has been slightly exceeded when the point is plotted. Therefore, the discussion focuses on an injury criterion slightly above the minimum threshold.

5-Conclusion

In this experimental study, we have highlighted that the critical concentrations of ozone estimated over a period of 06 successive years in which the sensitivity measurement tests of the vegetative species tested, marked by the intensity of the visible leaf lesions on the leaves of the genotypes of *Phaseolus vulgaris*, as well as for wheat varieties.

The cumulative concentrations of ozone in the city of Tiaret have significantly high concentration to cause leaf damage, or in terms of the leaf mass affected by consequent yield losses including a perspective of studying species of great value and wide use. We can confirm in this study an experimental originality in the study area which presents an agricultural potential.

6-Acknowledgements

Bourbatache Mansour and his collaborators wish to thank the semi-arid zone biotechnology Laboratory for the continued financial support and coordination of PIC Vegetation UK, represented by Dr Felicity Hayes, as well as all participants in the PIC Vegetation Ozone Group for their contributions to the revision of critical levels.

7-References

1. Azzaoui M.E., (2013). Contribution à l'étude phytoécologique des tetracinaies dans la région de Beni affene, Tiaret. Thèse de magister, Univ Ibn Khaldoun, Tiaret.
2. Bagard Matthieu, (2017). Bioindication végétale de la pollution de l'air - Mesure et cartographie de la pollution à l'ozone du réseau départemental des bio-stations du Val-de-Marne. Rapport ADEME, 19 pages.
3. Bang Quoc Ho, (2012). Air Pollution – Monitoring, Modelling and Health Institute of Environment and Resources, Vietnam National University.
4. Black, JR, Yin QZ, Rustad, JR. and W H Casey, (2007). Magnesium-isotopic Equilibrium in Chlorophylls.
5. Burkey, K.O., Miller, J.E., Fiscus, E.L., (2005). Assessment of ambient ozone effects on vegetation using snap bean as a bioindicator species. *Journal of Environmental Quality* 34, 1081–6.
6. Gelang J. et al., (2000). Rate and duration of grain filling in relation to flag leaf senescence and grain yield in spring wheat (*Triticum aestivum*) exposed to different concentrations of ozone, *Physiol. Plantarum*.
7. Gina Mills, Katrina Sharps, David Simpson, Håkan Pleijel, Michael Frei, Kent Burkey, Lisa Emberson, Johan Uddling, Malin Broberg, Zhaozhong Feng, Kazuhiko Kobayashi, Madhoolika Agrawal, (2018) Closing the global ozone yield gap: quantification and cobenefits for multistress tolerance.
8. Grulke N. E. , Heath R. L. , (2019). Ozone effects on plants in natural ecosystems, PMID: 30730096 DOI: 10.1111/plb.12971.
9. Grünhage Ludger, Pleijel Håkan, Mills Gina, Bender Jürgen, Danielsson Helena, Lehmann Yvonne, Castell Jean-Francois, Bethenod Olivier, (2012). Updated stomatal flux and flux-

- effect models for wheat for quantifying effects of ozone on grain yield, grain mass and protein yield. *Environmental Pollution*, 165. 147-157.
10. Gunilla Pihl Karlsson, (2003). Clover as bioindicator for phytotoxic ozone, Departement of applied environmental science, Göteborg University, ISBN 91-88376-18-4.
 11. Hayes, F., Mills, G., Harmens, H., Norris, D., (2007). Evidence of widespread ozone damage to vegetation in Europe. Bangor, UK: ICP Vegetation Programme Coordination Centre, Centre for Ecology & Hydrology (<http://icpvegetation.ceh.ac.uk>)
 12. Helena Danielsson, Gunilla Pihl Karlsson, Per Erik Karlsson, H. Hakan Pleijel, (2003). Ozone uptake modelling and flux-response relationships, an assessment of ozone-induced yield loss in spring wheat, *Atmospheric Environment* Volume 37, Issue 4, Pages 475-485.
 13. I. A. Hassan, M. R. Ashmore & J. N. B. Bell, (1994). Effect of ozone on radish and turnip under egyptian field conditions Department of Biology, Imperial College at Silwood Park, Ascot, Berks, UK, SL5 7P Y *Environmental Pollution* 89 107 114.
 14. Ilka Wittig , Michael Karas, Hermann Schägger, (2007). High resolution clear native electrophoresis for in-gel functional assays and fluorescence studies of membrane protein complexes, DOI: 10.1074/mcp.M700076-MCP200.
 15. International coopérative Programme, (2012). Yield response and ozone injury on *Phaseolus vulgaris*, Experimental Protocol.
 16. Jean-François Castell, (2016). Ozone impacts on agriculture and forests and economic losses assessment, pollution atmosphérique.
 17. José Pinheiro, Douglas Bates, Saikat DebRoy, Deepayan Sarkar, EISPACk, Siem Heisterkamp, Bert Van Willigen, Johannes Ranke , R Core Team , (2024). Linear and Nonlinear Mixed Effects Models Package ‘nlme’ <https://svn.r-project.org/R-packages/trunk/nlme/>
 18. Kent o. Burkey, Edwin L. Fiscus, Fitzgerald L., Booker, (2005). Crop responses to ozone: uptake, modes of action, carbon assimilation and partitioning ; US Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Plant Science Research Unit, and Department of Crop Science, North Carolina State University, 3908 Inwood Road, Raleigh, NC 27603, USA.

19. Long SP, Naidu S.L, (2002). Effects of oxidants at the biochemical, cell and physiological levels, with particular reference to ozone. In JNB Bell, M Treshow, eds, *Air Pollution and Plants*, Ed 2. J. Wiley, London,pp 69–88.
20. María J. Sanz, , Francisco Sanz, Vicent Calatayud, and Gerardo Sanchez-Peña, (2007). Ozone in Spain's national parks and protected forests the scientific world journal 7(S1), 67–77 ISSN 1537-744X; DOI 10.1100/tsw.2007.8.
21. Mills G, Buse A, Gimeno B, Bermejo V, Holland M, Emberson L, Pleijel H, (2007). A synthesis of AOT40-based response functions and critical levels of ozone for agricultural and horticultural crops, *Atmospheric Environment*, Volume 41, Issue 12, April 2007, Pages 2630-2643.
22. Mills, G, Hayes, F., Simpson, D., Emberson, L., Norris, D., Harmens, H., Büker, P., (2011). Evidence of widespread effects of ozone on crops and (semi-)natural vegetation in Europe 3 (1990-2006) in relation to AOT40- and flux-based risk maps. *Global Change Biology* 17, 592-4 613.
23. Mills, G., Pleijel, H., Braun, S., Büker, P., Bermejo, V., Calvo, E., Danielsson, H., Emberson, L., González Fernández, I., Grünhage, L., Harmens, H., Hayes, F., Karlsson, P.-E., Simpson, D., (2011). New stomatal flux-based critical levels for ozone effects on vegetation. *Atmospheric Environment*, 45, 5064 – 5068.
24. Mills, G., Harmens, H. , (2011). Ozone pollution: A hidden threat to food security. Programme Coordination Centre for the ICP Vegetation, Centre for Ecology and Hydrology, Bangor, UK. ISBN 978-1-906698-27-0. (<http://icpvegetation.ceh.ac.uk>)
25. Paoletti, Elena, (2006). Impact of ozone on Mediterranean forests: A review Istituto Protezione Piante, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Via Madonna del Piano 10, I-50019 Sesto Fiorentino, Italy *Environmental Pollution* Volume 144, Issue 2, , Pages 463-474.
26. Pleijel, H., Ojanperä, K., Danielsson, H., Sild, E., Gelang, J., Wallin, G., Skärby, L., Selldén, G., (1997). Effects of ozone on leaf senescence in spring wheat - possible consequences for grain yield. *Phyton (Horn, Austria)* 37, 227-232.
27. Pleijel, H., Danielsson, H., Vandermeiren, K., Blum, C., Colls, J., Ojanperä, K., (2002). Stomatal conductance and ozone exposure in relation to potato tuber yield - results from the European CHIP programme. *European Journal of Agronomy* 17, 303-317.

28. Pleijel, H., Danielsson, H., Ojanperä, K., De Temmerman, L., Högy, P., Badiani, M., Karlsson, P.E., (2004). Relationships between ozone exposure and yield loss in European wheat and potato - a comparison of concentration- and flux-based exposure indices. *Atmospheric Environment* 38, 2259-2269.
29. Pleijel, H., Danielsson, H., Emberson, L., Ashmore, M., Mills, G., (2007). Ozone risk assessment for agricultural crops in Europe: Further development of stomatal flux and flux-response relationships for European wheat and potato. *Atmospheric Environment* 41, 3022-3040.
30. Rainer Matyssek & Heinrich Sandermann Jr, (2003). *Impact of Ozone on Trees : an Ecophysiological Perspective Progress in Botany*, Vol. 64 © Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
31. Rapport de l'environnement de l'Académie des sciences le 5 mai 2015 et par l'académie des sciences en séance plénière le 16 juin 2015.
32. Reinert A. and Eason G, (2000). Genetic control of O₃ sensitivity in a cross between two cultivars of snap bean. *J. American Society of Horticultural Science* 125(2):222-227.
33. Santé publique France, (2016). Impacts de l'exposition chronique aux particules fines sur la mortalité en France continentale et analyse des gains en santé de plusieurs scénarios de réduction de la pollution atmosphérique. Santé Publique France.
34. Sivasakthivel T and K.K Siva, Kumar Reddy, (2011). Ozone layer depletion and its effects: A review international journal of environmental science and development, Vol.2, No.1, ISSN: 2010-0264.
35. Stefania pasqualini, Francesco paolocci, Andrea borgogni, Roberta morettini & Luisa ederli, (2003). The overexpression of an alternative oxidase gene triggers ozone sensitivity in tobacco plants, *Plant, Cell and Environment* (2007) 30, 1545–1556.
36. Ulrich E, Dalstein L, Günthardt-Goerg MS *et al.*, (2006). Renecofof. Effets de l'ozone sur la végétation, concentrations d'ozone (2000-2002) et symptômes d'ozone sur la végétation forestière (2001-2003). Ed: Office national des forêts, direction technique, département recherche, 126 p.

37. Zhaozhong Feng, Kazuhiko Kobayashi, (2009). Assessing the impacts of current and future concentrations of surface ozone on crop yield with meta-analysis, *Atmospheric Environment* Volume 43, Issue 8, March 2009, Pages 1510-1519.