

Analyse quantitative de l'induction de fluorescence du photosystème II : énergie d'activation apparente et origine de chaque phase  
Steve Boisvert  
30000473

## RÉSUMÉ

L'induction de fluorescence est une technique omniprésente en analyse photosynthétique de par le faible coût de l'appareillage, sa simplicité d'utilisation et la non-invasivité de la méthode. De plus, il est autant possible d'analyser des feuilles que des isolations de matériel photosynthétique.

Cependant, un problème persiste dans l'analyse des résultats des courbes d'induction de fluorescence : il y a peu de techniques d'analyse quantitative. En effet, dans la plupart des cas on analyse visuellement les courbes en comparant une courbe provenant d'un échantillon traité avec une courbe témoin. Ce type d'interprétation qualitative n'est pas très précis et, d'un auteur à l'autre, ce qui est considéré comme un changement significatif de la courbe d'induction de fluorescence peut être différent.

Le but du présent projet était de pallier à cette lacune dans l'analyse des courbes d'induction de fluorescence par le développement d'une nouvelle technique d'analyse quantitative. Par le fait même, une méthode d'analyse quantitative des phases des courbes d'inductions de fluorescence permettrait une tentative d'identification de l'origine de chacune des phases qui y sont représentées.

L'étude d'une technique quantitative d'analyse a requis la mise au point d'une cuvette maison où la température est réglable précisément et de façon stable. C'était la première phase du projet. Cela peut sembler simple, mais le contrôle efficace, stable et précis de la température dans une cuvette pouvant accueillir quatre millilitres de solution tout en étant également en mesure d'accepter la sonde du Plant Efficiency Analyser (PEA) de Hansatech s'est avéré une tâche ardue. En effet, plusieurs problèmes d'ordre technique sont apparus tout au long du développement de la cuvette.

Lorsque la cuvette fut finalement opérationnelle, les expériences avec des membranes thylacoïdiennes d'épinard témoins ont commencé. Il fallait maintenant mettre au point la technique d'analyse quantitative. Tout d'abord, à la température pièce,

nous avons testé la décomposition des courbes d'induction de fluorescence en trois composantes exponentielles distinctes, représentant trois cinétiques d'ordre 1, qui sont observées dans les courbes d'induction de fluorescence ; les phases O-J, J-I et I-P. Cette étape a été réalisée à l'aide de régressions non-linéaires effectuées par le logiciel informatique SigmaPlot. La décomposition s'avérant concluante, nous sommes parvenus à déterminer deux nouveaux paramètres quantitatifs : l'amplitude et la demi-vie et ce pour chaque phase.

Nous avons voulu pousser plus loin l'analyse en calculant l'énergie d'activation apparente de chaque phase de l'induction de fluorescence. C'est à cette étape que la cuvette thermoajustable est entrée en jeu. En effet, en faisant varier la température, on peut tracer un graphique de la variation du logarithme des constantes de vitesse en fonction de l'inverse de la température et la pente de ce graphique nous donne accès à l'énergie d'activation apparente de chaque phase.

Finalement, afin de tester notre nouvelle méthode d'analyse quantitative, nous avons sélectionné deux produits, le diuron (DCMU) et le décyplastoquinone (dPQ). Notre choix s'est arrêté sur ces produits car leurs effets sont bien documentés dans la littérature : il sera donc aisément vérifier si les résultats de l'analyse quantitative collent avec la théorie.

La méthode s'est avérée une bonne façon de décomposer les courbes d'induction de fluorescence afin d'en faire une analyse quantitative. En effet, nous pouvons obtenir une excellente reconstitution des courbes à partir des paramètres d'amplitude et de temps de demi-vie trouvés pour chacune des phases. Les résultats d'énergie d'activation sont également très intéressants. Ces trois paramètres quantitatifs nous ont permis, avec une bonne certitude, d'identifier l'origine de deux des trois phases de l'induction de fluorescence. Effectivement, la phase O-J semble dépendre de la quantité réduite de l'accepteur primaire ( $Q_A$ ) du photosystème II et I-P de l'état redox du bassin de plastoquinones. Nous avons également obtenu des indices sur l'origine de J-I, particulièrement l'apparente interdépendance de l'amplitude des phases O-J et J-I : si

l'amplitude de O-J diminue, celle de J-I augmente et vice-versa. Ces données ne sont cependant pas suffisantes pour permettre de déterminer l'origine de J-I.

Pour le futur, nous prévoyons moderniser la cuvette afin de la rendre plus facile à opérer. Par la suite, nous prévoyons faire des expériences avec d'autres produits comme par exemple des découpleurs de gradient de protons et électriques, des donneurs artificiels d'électrons et avec des membranes enrichies en photosystème II.