



ÉTUDE DES VARIATIONS RÉGIONALES DE LA COMPOSITION
ET DE LA CONCENTRATION EN FURANOCOUMARINES DE LA
BERCE DU CAUCASE (*HERACLEUM MANTEGAZZIANUM*)
AU QUÉBEC

PAR
SIMON GANDRIEAU

MÉMOIRE PRÉSENTÉ À
L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À CHICOUTIMI
COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAÎTRISE EN RESSOURCES RENOUVELABLES

OCTOBRE 2017

RÉSUMÉ

La berce du Caucase (*Heracleum mantegazzianum*) est une plante invasive importée par l'homme au Québec et identifiée dans cette province pour la première fois en 1982. En plus du problème écologique qu'elle peut poser, un contact cutané avec cette plante, suivi d'une exposition au soleil provoque des dermatites sévères. Ces inflammations peuvent être très douloureuses et même conduire à des brûlures du deuxième et du troisième degré.

La berce du Caucase, comme un grand nombre d'Apiacées, comporte des molécules photosensibilisantes : les furanocoumarines. Ces composés sont responsables de l'activité phototoxique de cette plante et sont retrouvés dans tous ses organes. L'analyse de la composition et de la concentration en furanocoumarine de la berce pourrait donc permettre d'estimer son niveau de toxicité.

L'objectif de ce projet de maîtrise était d'étudier les variations régionales de concentration et de composition en furanocoumarines de la berce du Caucase au Québec. Ce projet visait tout d'abord à identifier les populations les plus toxiques, afin de connaître les zones où le risque de photodermatite est le plus élevé. De plus, l'autre objectif de ces travaux, plus fondamental, était d'étudier les variables influençant le contenu en furanocoumarines de cette plante, que ce soit la diversité génétique entre les populations mais aussi les facteurs environnementaux.

Au cours de ce projet, une méthode d'extraction et de dosage analytique des furanocoumarines a été développée afin d'analyser 125 échantillons de feuilles de berce du Caucase récoltés à travers onze régions du Québec. Puis, des analyses statistiques par ANOVA et régressions multiples ont été réalisées afin d'analyser les variations de teneur et de composition en furanocoumarines.

Ainsi, l'existence de variations régionales de concentrations en furanocoumarines dans les populations du Québec a pu être montrée, mais aussi des variations dans la proportion de ces molécules. Les régions de la Capitale-Nationale, le Centre-du-Québec et les Chaudière-Appalaches comportaient les populations les plus riches en furanocoumarines, et donc théoriquement les plus phototoxiques pour l'année étudiée.

Les variations observées sont principalement expliquées par les différences de conditions environnementales existantes entre les régions. Les précipitations d'avril font augmenter la concentration totale en furanocoumarines, tandis que cette dernière diminue quand les précipitations du mois de mai augmentent. Une relation significative a été observée entre les proportions de deux molécules (le psoralène et l'angélicine) et la concentration totale en furanocoumarines. En effet, les individus, ayant une concentration en furanocoumarines plus élevée, présentent un pourcentage de psoralène plus important et un pourcentage d'angélicine plus faible.

En bref, ce projet de maîtrise a permis d'accroître les connaissances sur l'aspect chimique et écologique de la berce du Caucase, mais a aussi permis d'identifier les régions où cette espèce est potentiellement la plus dangereuse pour l'homme, de par une concentration plus élevée en furanocoumarines.

REMERCIEMENTS

Arrivant au terme de cette maîtrise, je tiens à remercier ceux qui m'ont accompagné dans cette aventure. Ces deux années passées à travailler sur ce projet auraient été bien moins agréables et enrichissantes sans la présence de nombreuses personnes.

Je remercie tout d'abord André Pichette et Jean Legault, mon directeur et codirecteur, pour m'avoir donné ma chance et fait confiance pour ce projet de maîtrise. Leurs soutien et conseils ont été précieux tout au long de ces deux années.

Ce projet d'étude de la berce du Caucase a regroupé un grand nombre de personnes de différents horizons. Merci tout particulièrement à Jeanne Piette (Université Laval) de m'avoir expliqué et partagé ses travaux sur l'étude génétique de cette plante. Claude Lavoie (Université Laval) a été d'une grande aide afin de ne pas perdre de vue les objectifs de ce projet et maintenir le cap du navire dans la bonne direction. Les analyses statistiques ont été le plus grand défi que j'ai rencontré durant ce projet. Sans l'aide qui m'a été apportée, j'aurais erré longtemps dans le brouillard. Je remercie donc grandement Boris Dufour (UQAC) pour m'avoir éclairé le chemin.

Les conseils avisés de François Simard, Balla Sylla et Benoit Roger ont grandement contribué à l'aboutissement de ce projet, de même que nos nombreuses parties effrénées de badminton.

Mes collègues et compagnons de fortune ont fait de cette maîtrise une belle aventure et une très bonne expérience de vie. Je remercie donc Gilles Jost, Sophie Fortin, Charlotte Pichard, François Latour, Marion Étienne, Christopher Herailh, Julie Pierra, Paul Gormand, Lorry Jean, Ludivine Chaurand et Alexis St-Gelais pour tous les bons moments passés au laboratoire et en dehors.

Je tiens finalement à remercier ma famille pour leurs soutien et encouragements tout au long de mes études.

TABLES DES MATIÈRES

RÉSUMÉ	I
REMERCIEMENTS.....	III
LISTE DES FIGURES	VIII
LISTE DES TABLEAUX	IX
CHAPITRE 1 INTRODUCTION.....	1
Hypothèses et objectifs	5
Division du mémoire	6
CHAPITRE 2 REVUE DE LA LITTÉRATURE.....	7
A) La berce du Caucase	8
Botanique.....	8
Origine et invasion.....	10
Habitat.....	10
Toxicité	12
Composition chimique.....	12
B) Les furanocoumarines	16
CHAPITRE 3 DÉVELOPPEMENT DE LA MÉTHODE ANALYTIQUE	20
A) Matériel et méthode	21
Produits chimiques.....	21
Échantillons de plantes	21
Évaluations des méthodes d'extraction.....	21
Méthode choisie pour l'extraction des échantillons	22
Analyse par HPLC	23

Courbe d'étalonnage et dosage des furanocoumarines.....	23
Validation de la méthode	24
B) Résultats et discussion	27
Développement de la méthode d'extraction	27
Validation de la méthode analytique	29
CHAPITRE 4 ANALYSES STATISTIQUES ET INTERPRÉTATIONS	33
A) Matériel et méthode	34
Échantillonnage	34
Analyses génétiques.....	35
Analyses de sol	35
Données environnementales	37
Analyses statistiques réalisées	37
B) Résultats et discussion	39
Variations régionales des concentrations en furanocoumarines	41
Modèles environnementaux pour les concentrations en furanocoumarines	45
Variations régionales des proportions des furanocoumarines	50
Modèles environnementaux pour les proportions des furanocoumarines	53
Bilan.....	58
CHAPITRE 5 CONCLUSION ET PERSPECTIVES	60
RÉFÉRENCES	64
ANNEXE 1 CONCENTRATIONS EN FURANOCOUMARINES DANS LES ÉCHANTILLONS DE FEUILLES ET RÉSULTATS DES ANALYSES DE SOL	72
ANNEXE 2 DONNÉES ENVIRONNEMENTALES UTILISÉES POUR LE DÉVELOPPEMENT DES MODÈLES.....	77

ANNEXE 3 CONCENTRATIONS EN FURANOCOUMARINES DANS LES ÉCHANTILLONS DE TIGES	82
---	----

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Schéma et photo d'un plant de berce du Caucase en floraison.	9
Figure 2. Distribution de la berce du Caucase en Europe en 2005	11
Figure 3. Présence de la berce du Caucase en Amérique du Nord	11
Figure 4. Structures des dix-sept furanocoumarines identifiées dans la berce du Caucase.	13
Figure 5. Autres composés identifiés dans la berce du Caucase	14
Figure 6. Profil HPLC d'un extrait de feuille de berce du Caucase	30
Figure 7. Carte des régions administratives du Québec.....	36
Figure 8. Représentations graphiques des modèles de régression simple entre la concentration totale en furanocoumarines et le pourcentage de chaque composé.....	52

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Composition chimique de l'huile essentielle de graines de la berce du Caucase	15
Tableau 2. Résumé des activités phototoxiques <i>in vivo</i> des furanocoumarines sur l'homme	16
Tableau 3. Résumé des activités biologiques reportées des furanocoumarines	18
Tableau 4. Résultats des tests des différentes méthodes d'extraction	27
Tableau 5. Données des tests de validation de la méthode analytique	30
Tableau 6. Résultats des tests de précision intra-jour et inter-jour pour l'étalonnage interne et externe.....	31
Tableau 7. Effet de la prise en compte du standard interne dans les valeurs de pourcentage de recouvrement et de répétabilité de la méthode d'extraction	31
Tableau 8. Résultats du test de répétabilité au sein d'une séquence analytique	32
Tableau 9. Provenance des échantillons de feuilles de berce du Caucase	34
Tableau 10. Concentrations et pourcentages moyens de chaque furanocoumarine dans l'ensemble des échantillons de feuilles et de tiges de berce du Caucase.....	39
Tableau 11. Concentration en furanocoumarines des échantillons de berce du Caucase des travaux de Pira et ses collaborateurs.....	40
Tableau 12. Matrice de corrélation des concentrations en furanocoumarines.....	41

Tableau 13. Résultats des analyses ANOVA réalisées pour les concentrations en furanocoumarines en fonction de la région d'origine	42
Tableau 14. Résultats du test de Student pour la concentration totale en furanocoumarines selon la région d'origine	42
Tableau 15. Association des souches génétiques à leurs régions correspondantes	43
Tableau 16. Résultats des analyses ANOVA réalisées pour les concentrations en furanocoumarines en fonction de la souche génétique	44
Tableau 17. Résultats du test de Student pour la concentration totale en furanocoumarines selon la souche génétique	44
Tableau 18. Résumé des modèles de régression multiple développés avec les variables environnementales pour les concentrations en furanocoumarines	47
Tableau 19. Influence des variables environnementales sur les concentrations en furanocoumarines.....	48
Tableau 20. Résultats des analyses ANOVA réalisées pour les résidus des modèles environnementaux des concentrations en furanocoumarines en fonction de la région d'origine.....	49
Tableau 21. Résultats des analyses ANOVA réalisées pour les résidus des modèles environnementaux des concentrations en furanocoumarines en fonction de la souche génétique.....	49
Tableau 22. Résultats des analyses ANOVA réalisées pour les pourcentages de chaque furanocoumarine en fonction de la région d'origine	50
Tableau 23. Résultats du test de Student pour les pourcentages de chaque furanocoumarine selon la région d'origine	50
Tableau 24. Résultats des analyses ANOVA réalisées pour les pourcentages de chaque furanocoumarines en fonction de la souche génétique	51

Tableau 25. Résultats du test de Student pour les pourcentages de chaque furanocoumarine selon la souche génétique	51
Tableau 26. Résumé des modèles de régression multiple développés avec les variables environnementales pour les pourcentages de chaque furanocoumarine	54
Tableau 27. Influence des variables environnementales sur les pourcentages en furanocoumarines.....	55
Tableau 28. Résultats des analyses ANOVA réalisées pour les résidus des modèles environnementaux des pourcentages en furanocoumarines en fonction de la région d'origine.....	56
Tableau 29. Résultats du test de Student pour les résidus des modèles environnementaux des pourcentages en xanthotoxine et en angélicine selon la région d'origine	57
Tableau 30. Résultats des analyses ANOVA réalisées pour les résidus des modèles environnementaux des pourcentages en furanocoumarines en fonction de la souche génétique.....	57
Tableau 31. Résultats du test de Student pour les résidus des modèles environnementaux des pourcentages en xanthotoxine selon la souche génétique	57
Tableau 32. Résultats des analyses ANOVA réalisées pour les variables environnementales en fonction de la souche génétique	59

CHAPITRE 1

INTRODUCTION

La berce du Caucase, *Heracleum mantegazzianum*, est une Apiacée d'apparence imposante. Les tiges de cette plante herbacée peuvent atteindre jusqu'à 5 m de hauteur, avec un diamètre de 15 cm et ses grandes feuilles peuvent mesurer 2,5 m de long (Page *et al.* 2006). Sous cet aspect imposant se cache une plante dangereuse, avec laquelle un simple contact peut provoquer des inflammations douloureuses de la peau en raison de son caractère photosensibilisant.

Comme son nom l'indique, cette plante est originaire de la région du Caucase, à l'est de l'Europe. Mais elle a été disséminée par l'homme pour son intérêt ornemental au cours du 19^e siècle et elle s'est ensuite répandue dans la nature (Jahodová *et al.* 2007). On la retrouve maintenant dans le reste de l'Europe, en Amérique du Nord et même en Nouvelle-Zélande (Storr *et al.* 2007). Des spécimens d'herbier indiquent que la plante a été identifiée pour la première fois au Canada en 1949 en Ontario et au Québec en 1982 (Page *et al.* 2006; Lavoie *et al.* 2013). Cette plante s'est propagée rapidement à un tel point qu'elle est maintenant considérée comme une espèce invasive. Au Québec, l'invasion est relativement jeune, mais dans les pays plus touchés, l'impact économique de la berce du Caucase est considérable. Ainsi, l'Allemagne dépenserait chaque année douze millions d'euros pour lutter contre la berce selon une étude de 2007 (Thiele et Otte, 2007). Le problème majeur avec la berce du Caucase réside dans sa toxicité. En effet, un simple contact cutané avec la plante peut provoquer une dermatite (ou phytophotodermatite) douloureuse suite à une exposition au soleil, et ce jusqu'à 24 à 48 heures après le contact. Ceci se traduit par l'apparition d'érythèmes plus ou moins sévères et pouvant s'accompagner de formation de cloques (Pathak 1986; Tiley *et al.* 1996). Une fois la dermatite résorbée, la peau présente une hyperpigmentation pouvant perdurer plusieurs mois (Pathak 1986).

Les agents responsables de ces dermatites sont à ce jour bien connus. On trouve dans la berce du Caucase des molécules phototoxiques : les furanocoumarines. Ces molécules peuvent entraîner des irritations de la peau par des réactions chimiques après

exposition au soleil. Dix-sept molécules de cette famille ont déjà été identifiées dans plusieurs organes de cette plante : les fruits, les feuilles, les tiges, les racines et les graines (Hattendorf *et al.*, 2007). On trouve également ce type de composés dans de nombreuses familles de plantes, mais principalement chez les Apiacées, les Moracées, les Rutacées et les Fabacées (Szewczyk et Bogucka-Kocka 2012). Les exemples les plus connus sont probablement les agrumes (Dugrand *et al.* 2013) et le céleri (Peroutka *et al.* 2007).

Les furanocoumarines sont des molécules de défense pour les plantes. Elles leur permettent, par exemple, de se protéger contre les insectes herbivores par leur activité toxique et anti-appétente (Diawara *et al.* 1993; Hadaček *et al.* 1994). Elles ont également une activité antifongique (Afek *et al.* 1995) et antibactérienne (Diane *et al.* 2012). Plusieurs de ces molécules ont également démontré un potentiel phytotoxique (Sondhia *et al.* 2012), ce qui pourrait peut-être expliquer en partie le caractère invasif de la berce du Caucase par son potentiel à inhiber la croissance de plantes concurrentes.

Plusieurs études se sont intéressées aux modes d'action des furanocoumarines afin de cerner les effets toxiques de ces molécules au niveau cellulaire et moléculaire et ainsi mieux comprendre les risques pour la santé humaine. Les furanocoumarines peuvent s'intercaler dans l'ADN et en présence de rayons UV, conduire par des réarrangements chimiques à la formation d'une liaison covalente entre les deux brins d'ADN. La réplication et la transcription sont alors impossibles, ce qui empêche la prolifération cellulaire et induit l'apoptose (Hearst 1989; Wu *et al.* 2010). Les furanocoumarines ont également la capacité à se lier avec des protéines et des acides gras (Schmitt *et al.* 1995), d'inactiver certaines enzymes et de générer des espèces réactives d'oxygènes, créant ainsi un stress oxydatif dans les cellules pouvant mener à l'oxydation des lipides (Lee et Berenbaum, 1990). Des études ont notamment démontré que les furanocoumarines ont la capacité d'inhiber des cytochromes P450, des enzymes impliquées dans la métabolisation d'un grand nombre de xénobiotiques (Koenigs et Trager 1998; Zhou *et al.* 2004), mais aussi l'ADN polymérase I d'*Escherichia coli* (Granger et Hélène 1983).

Des études toxicologiques *in vivo* ont également été réalisées sur l'homme afin d'évaluer la toxicité de ces molécules. La quantité minimale entraînant un érythème après application topique est de 50 µg/po² pour le bergaptène et celle du psoralène, le plus actif des composés testés, est inférieure à 10 µg/po² (Pathak et Fitzpatrick 1959). La toxicité de la berce du Caucase est donc étroitement liée à sa concentration en furanocoumarines.

L'accumulation de furanocoumarines dans les plantes est influencée par plusieurs paramètres environnementaux. Une étude de Berenbaum sur douze espèces d'Apiacées dont la berce du Caucase a démontré la présence d'une relation significative entre l'intensité lumineuse et la richesse en furanocoumarines (Berenbaum 1981). Plus l'intensité lumineuse était élevée, plus le nombre de molécules de la famille des furanocoumarines produites par les plantes était grand. Cette étude a également mis en évidence un lien significatif entre la quantité d'azote présente dans le sol et la présence d'Apiacées contenant ou non des furanocoumarines. Une autre étude a montré l'effet significatif de l'ensoleillement et de la quantité de nutriments dans le sol (N, P, K) sur la teneur en furanocoumarines de *Pastinaca sativa* lors d'essais en serre (Zangerl et Berenbaum 1987). Il existe également des différences de teneur en furanocoumarines entre plusieurs populations d'une même espèce. Ce phénomène a été démontré par Walker et ses collaborateurs lors de l'étude de *Bituminaria bituminosa* (Walker *et al.* 2012), ou encore pour *Pastinica sativa* par Zangerl et Berenbaum (Zangerl et Berenbaum 1990). Il semblerait donc que la teneur en furanocoumarines des plantes varie entre les populations et selon les caractéristiques écologiques du milieu de croissance.

Hypothèses et objectifs

Deux hypothèses ont été émises pour ce projet de maîtrise :

Hypothèse 1 : il existe des variations régionales de concentration et de composition en furanocoumarines dans les plants de berce du Caucase au Québec.

Hypothèse 2 : ces variations sont attribuables à la fois à la diversité génétique présente dans les populations de berce et aux différences de conditions environnementales.

L'objectif de ce travail de maîtrise était donc d'étudier les variations régionales de composition et de teneur en furanocoumarines des populations de berce du Caucase du Québec. Une méthode analytique robuste a tout d'abord été développée et optimisée afin de doser avec précision les furanocoumarines présentes dans la berce du Caucase. Cette méthode a ensuite servi à analyser un grand nombre d'échantillons de feuilles récoltés à travers le Québec, pour identifier les populations les plus riches en furanocoumarines, donc théoriquement les plus toxiques, et également révéler les variables influençant la concentration en furanocoumarines. L'influence de l'habitat (température, précipitations et quantité d'azote dans le sol) et de la provenance géographique sur les concentrations en furanocoumarines ont notamment été étudiées. Pour ce faire, des analyses statistiques utilisant des modèles de régressions multiples et des analyses de la variance (ANOVA) ont été réalisées afin d'interpréter les résultats obtenus dans le cadre de ce projet.

Division du mémoire

La première partie de ce mémoire est une revue de la littérature portant sur les caractéristiques biologiques, écologiques et chimiques de la berce du Caucase. Ce chapitre présente également un résumé de la toxicité et des activités biologiques des furanocoumarines répertoriées dans la littérature. La seconde partie est consacrée au développement de la méthode utilisée pour l'extraction des échantillons et le dosage analytique des furanocoumarines. La troisième partie porte sur les analyses statistiques réalisées et leurs interprétations. Enfin, la quatrième et dernière partie présente les conclusions de ces travaux de maîtrise ainsi que des perspectives futures.

CHAPITRE 2

REVUE DE LA LITTÉRATURE

A) La berce du Caucase

Botanique

La berce du Caucase (*Heracleum mantegazzianum*) appartient à la famille des Apiacées qui comporte plusieurs autres plantes connues pour causer des problèmes de photosensibilisation, tel que le céleri, le fenouil et la carotte (Pathak 1986). C'est une herbacée à la stature impressionnante pouvant mesurer 5 m de hauteur pendant la floraison. Ses tiges sont striées et creuses et peuvent atteindre 15 cm de diamètre. Elles sont généralement marquées de taches et de points rouge-brun et portent quelques poils grossiers. Les feuilles lobées et fortement dentées sont alternes et divisées le plus souvent en trois ou cinq fragments. Les feuilles à la base des plants peuvent atteindre 2,5 m de largeur. La plante produit lors de la floraison une inflorescence caractéristique. Les petites fleurs blanches de 1 cm sont organisées en ombelles composées. La tige principale produit une grande ombelle terminale pouvant mesurer jusqu'à 80 cm de large. Les ramifications donnent naissance à d'autres ombelles plus petites autour de la terminale (figure 1) (Page *et al.* 2006). La berce du Caucase est une plante pérenne monocarpique pouvant produire généralement entre 10 000 et 20 000 graines par individu (Perglová *et al.* 2007). Durant l'hiver, seules les parties souterraines persistent. C'est également une plante résistante au gel. (Page *et al.* 2006).

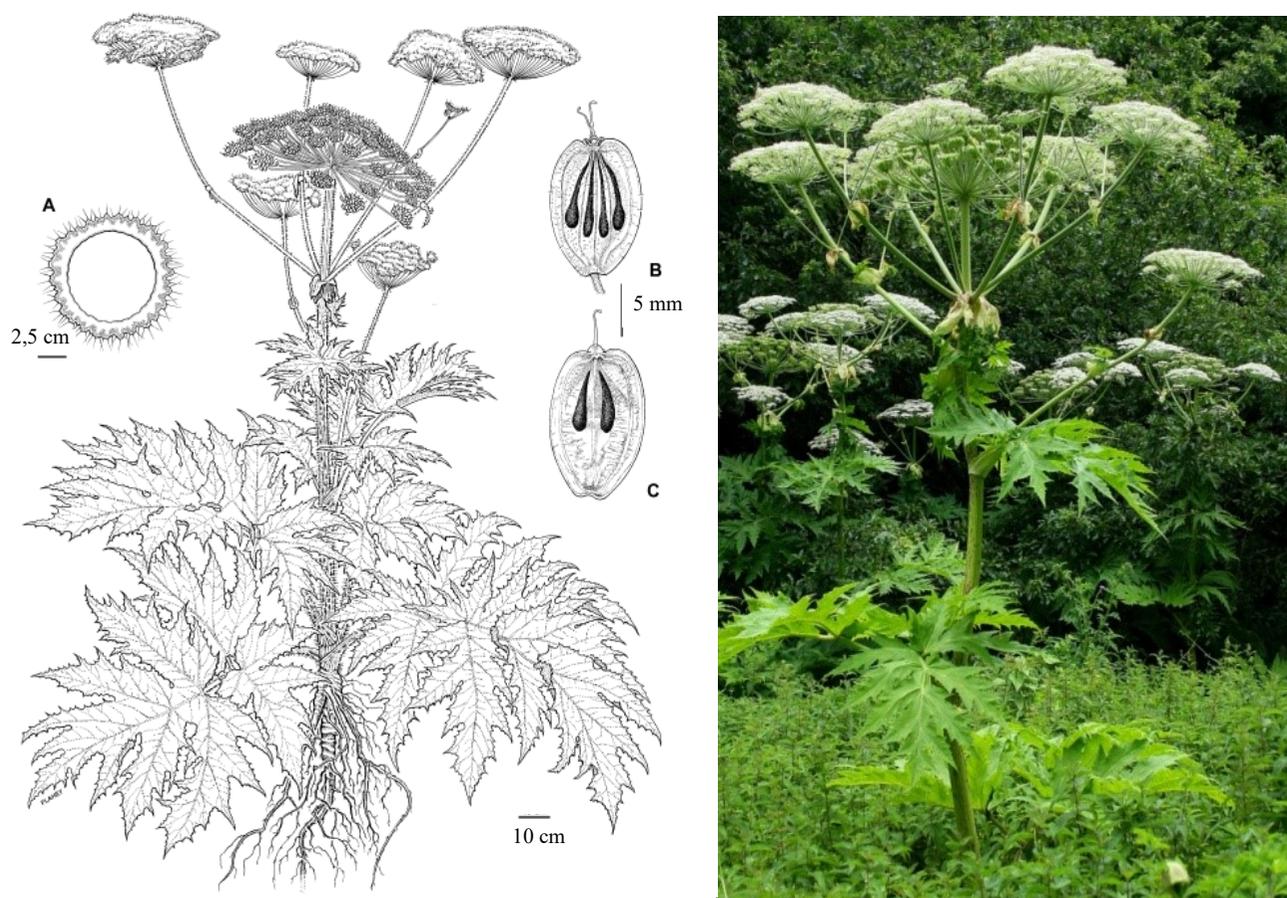


Figure 1. Schéma et photo d'un plant de berce du Caucase en floraison.
A. Coupe transversale de la tige, B. Aspect externe d'un fruit,
C. Aspect interne d'une graine (= moitié d'un fruit).
(Schéma provenant de Page et al., 2006).

Origine et invasion

Cette plante, comme plusieurs autres espèces du genre *Heracleum*, est originaire de la région du Caucase. Elle y a été découverte dans son habitat naturel en 1890 par les botanistes Sommier et Lever lors d'une expédition dans l'actuelle Géorgie (Jahodová *et al.* 2007). La région du Caucase constitue le seul habitat naturel de cette espèce, sa présence dans d'autres pays étant liée à l'activité humaine. La berce du Caucase a été disséminée dans le reste de l'Europe au début du 19^e siècle, avec d'autres espèces d'*Heracleum*, pour leur intérêt ornemental. D'abord cantonnées aux jardins botaniques, ces plantes se sont rapidement propagées dans la nature. La première population retrouvée à l'état sauvage a été enregistrée en Angleterre en 1828. Depuis, les populations de berce du Caucase ont continué à s'étendre, aidées par l'homme qui a continué à propager des graines dans les jardins jusqu'à la fin du 20^e siècle. Cette plante envahit maintenant de nombreux pays d'Europe (figure 2) (Nielsen *et al.* 2005). L'invasion s'est même poursuivie jusqu'en Nouvelle-Zélande ainsi qu'en Amérique du Nord (Storr *et al.* 2007). La berce du Caucase a été découverte au Canada pour la première fois en 1949 en Ontario, puis au Québec en 1982. Des populations sont également présentes en Colombie-Britannique ainsi que dans plusieurs états aux États-Unis (figure 3) (Page *et al.* 2006; Lavoie *et al.* 2013).

Habitat

Dans sa région d'origine du Caucase, la berce peut croître dans un grand intervalle d'altitude, de 50 à 2 200 m. On la retrouve principalement dans des forêts alluviales de conifères, des clairières et des prairies abandonnées (Thiele *et al.* 2007). Cette plante peut envahir un grand nombre d'habitats et elle apprécie notamment les milieux ouverts, ou partiellement ombragés. La berce du Caucase peut être trouvée aussi bien en ville qu'en campagne, principalement le long des routes, des voies ferrées et des cours d'eau,

mais aussi en bordure des forêts, dans des prairies ou même dans des jardins et des parcs (Thiele *et al.* 2007). Elle peut ainsi former des colonies de plus de 2 000 individus et s'étendre sur des terrains d'un hectare, ou couvrir jusqu'à 1 km le long des rivières (Tiley *et al.* 1996).

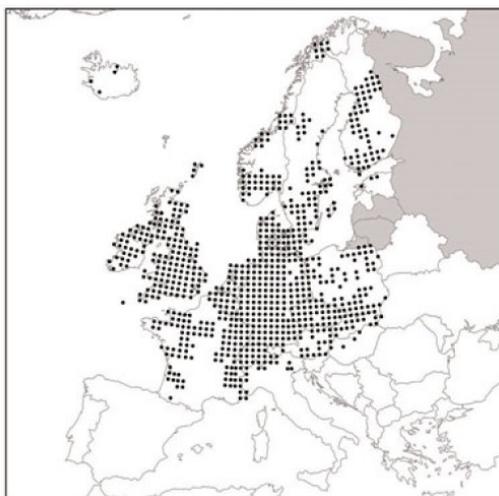


Figure 2. Distribution de la berce du Caucase en Europe en 2005
(Carte provenant de Nielsen *et al.*, 2005).

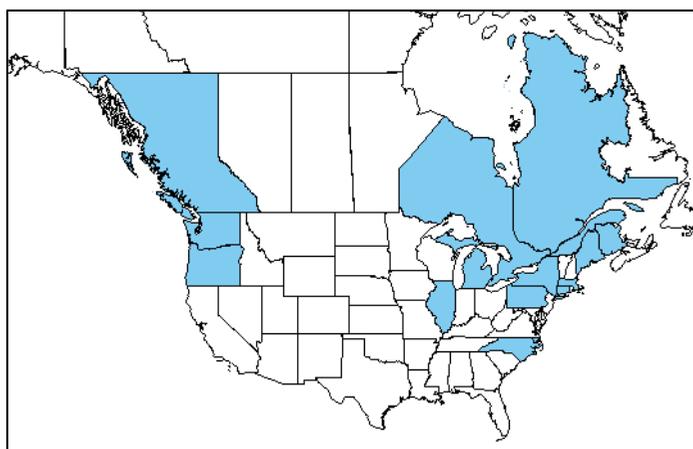


Figure 3. Présence de la berce du Caucase en Amérique du Nord
(Carte provenant de United States Department of Agriculture, 2016).

Toxicité

En plus de son aspect invasif, cette plante cause également des problèmes de santé publique. De par la présence de furanocoumarines, la berce du Caucase peut provoquer une photodermatite lors de contact cutané suivi d'une exposition au soleil. Les brûlures liées à la berce se caractérisent par un érythème plus ou moins sévère pouvant s'accompagner de cloques et de boursouffures douloureuses. Dans certains cas, la dermatite peut conduire à des brûlures du deuxième et même du troisième degré (Lagey *et al.* 1995; Chan *et al.* 2011). La peau affectée présente également une hyperpigmentation pouvant perdurer jusqu'à plusieurs mois, voire plusieurs années après l'inflammation initiale (Thiele et Otte 2007).

Composition chimique

À ce jour, dix-sept furanocoumarines ont été identifiées dans la berce du Caucase, telles que représentées à la figure 4 (Hattendorf *et al.* 2007). On retrouve ces molécules dans toutes les parties de la plante, incluant les feuilles, les tiges, les racines les fruits ainsi que dans les graines. Une étude réalisée au Danemark a démontré que la concentration en molécules phototoxiques dans les feuilles, les tiges et les racines diminue progressivement entre mai et septembre (Knudsen 1983). D'autres molécules ont également été trouvées dans cette plante tels que des flavonoïdes, des anthocyanes, des coumarines et des composés acétyléniques (figure 5) (Hattendorf *et al.* 2007). D'autre part, une étude a été réalisée sur la composition chimique de l'huile essentielle de graines de berce du Caucase (Tkachenko 1993). Celle-ci est principalement constituée de butyrate d'octyle (32%), d'acétate d'octyle (18%) et de butyrate d'hexyle (9%) tel que montré au tableau 1.

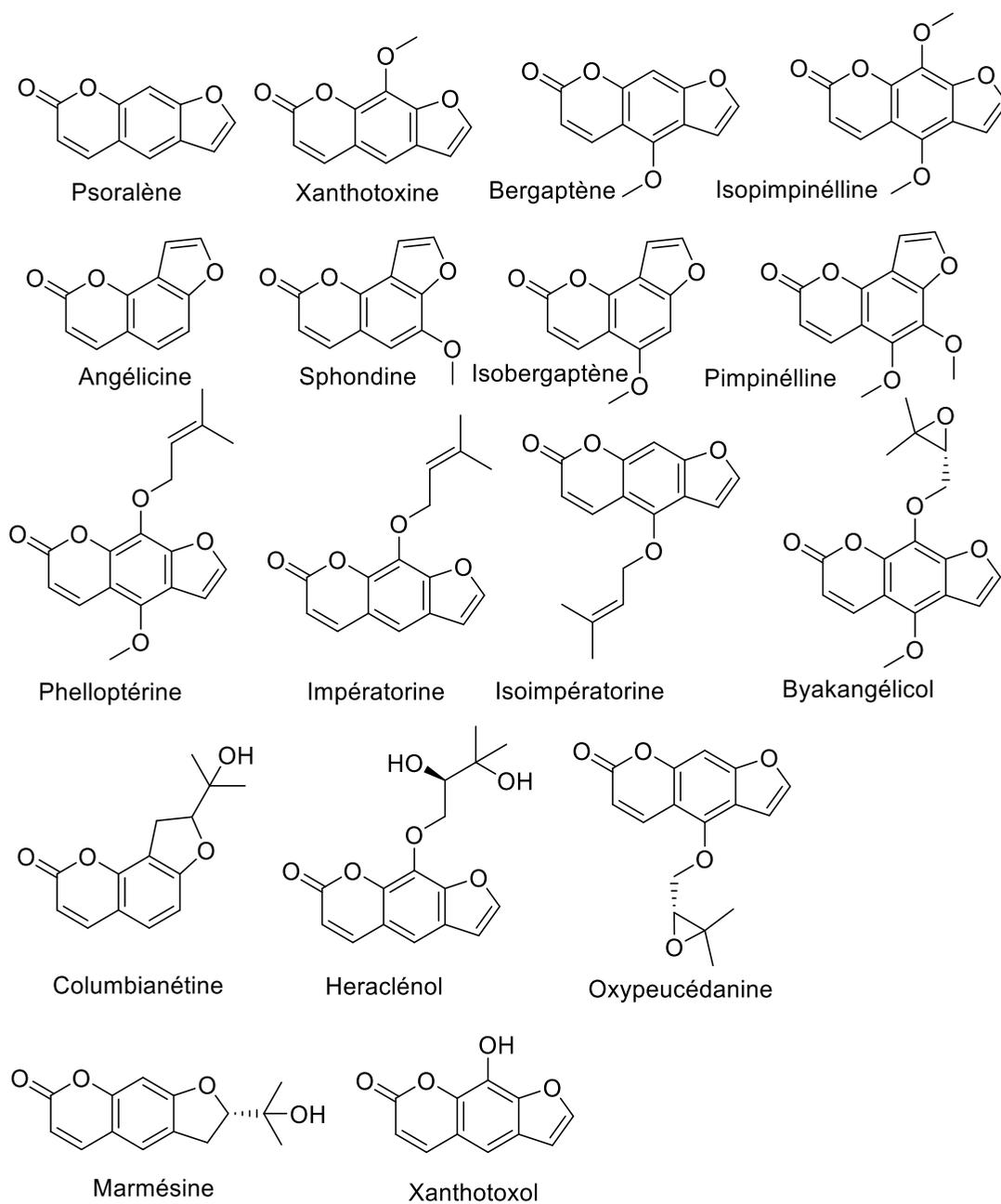


Figure 4. Structures des dix-sept furanocoumarines identifiées dans la berce du Caucase (Hattendorf *et al.* 2007).

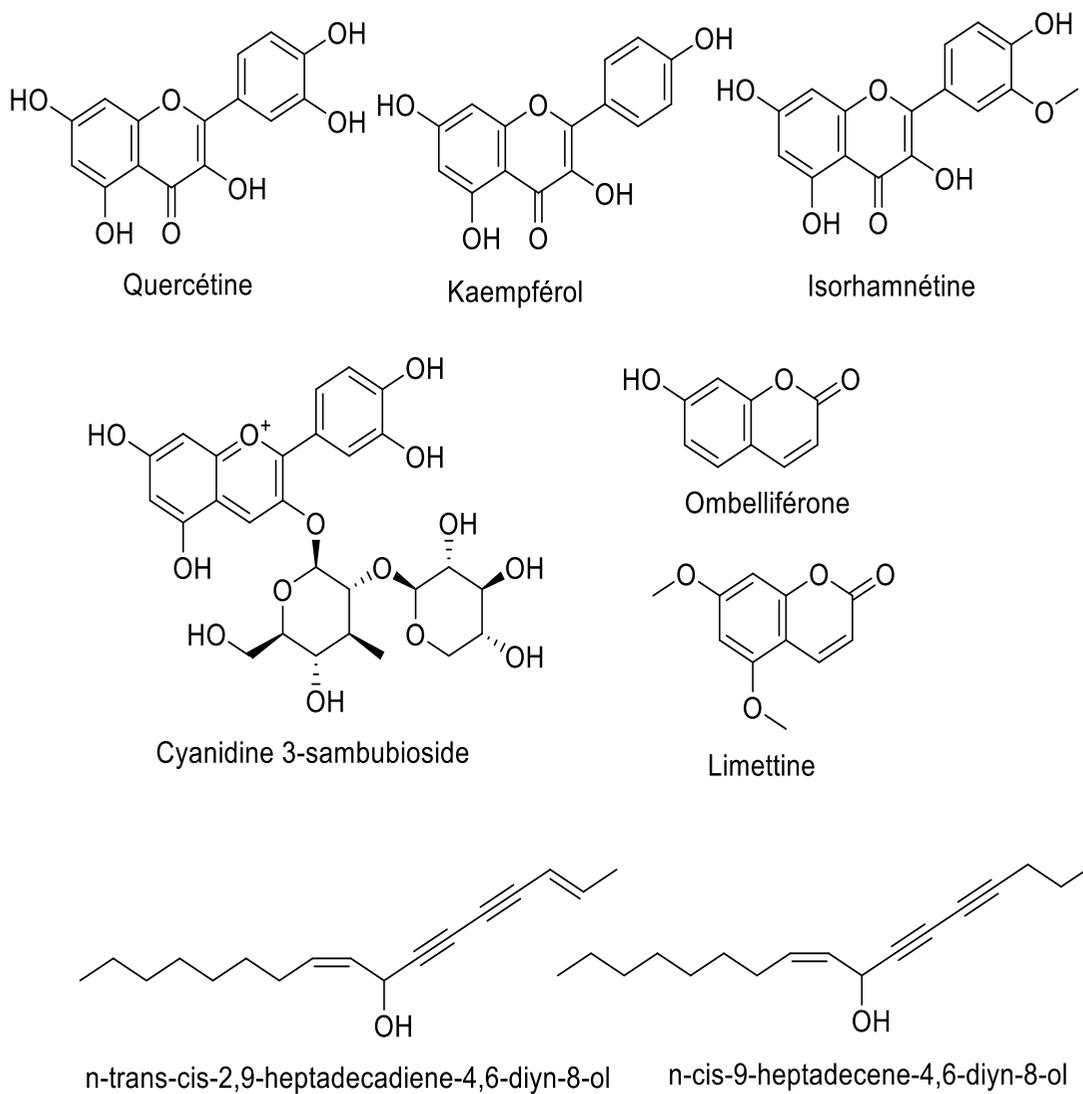


Figure 5. Autres composés identifiés dans la berce du Caucase (Hattendorf *et al.* 2007).

Tableau 1. Composition chimique de l'huile essentielle de graines de la berce du Caucase (Tkachenko 1993)

Composés	Concentration (%)
α -pinène	0,9
β -pinène	0,9
Octanal	1,3
Limonène	2,9
Octanol	3,8
Bornéol	3,1
Butyrate d'hexyle	9,2
Acétate d'octyle	18,0
Valérate d'hexyle	3,5
Acétate de bornyl	2,5
Butyrate d'octyle	32,0
Isovalérate d'octyle	4,0
Hexanoate d'octyle	0,9

B) Les furanocoumarines

Il est bien connu que les furanocoumarines causent des photodermatites. Des études *in vivo* sur l'homme ont démontré l'activité phototoxique de ces molécules après application topique et exposition aux rayons UV (Pathak et Fitzpatrick 1959; Musajo et Rodighiero 1962). La toxicité varie selon les composés et le psoralène semble être le plus actif (tableau 2).

Tableau 2. Résumé des activités phototoxiques *in vivo* des furanocoumarines sur l'homme

Molécules	Concentration minimale entraînant un érythème ($\mu\text{g}/\text{po}^2$)*	Activité phototoxique**
Psoralène	<10	++++
Xanthotoxine	25	+++
Bergaptène	50	+++
Angélicine	Non-testé	+
Isobergaptène	200	+
Xanthotoxol	Inactif	-
Isopimpinélline	Inactif	-

++++ activité maximum, - inactif

* (Pathak et Fitzpatrick 1959) ** (Musajo et Rodighiero 1962)

Toutefois, ces molécules peuvent s'avérer utiles dans certaines situations, en tirant avantage de leurs propriétés particulières. Par exemple, un remède à base de *Psoralea corylifolia* était utilisé en Inde dans l'Antiquité pour traiter le vitiligo (Scott *et al.* 1976). Tandis qu'en Égypte, cette maladie était soignée par des traitements à base d'*Ammi majus*, une autre plante contenant des furanocoumarines (Pathak 1986). De nos jours, ces molécules sont encore utilisées pour le traitement de plusieurs maladies cutanées comme le psoriasis et le vitiligo (Anderson et Voorhees 1980). Après ingestion de furanocoumarines ou en application cutanée, la partie du corps à traiter est soumise à un rayonnement UV afin de repigmenter la peau dans le cas du vitiligo ou de tuer les cellules psoriatiques.

Plusieurs travaux ont été réalisés pour étudier les propriétés biologiques et pharmacologiques des furanocoumarines. Ces études ont cherché ainsi à mieux connaître la toxicité de ces molécules et des plantes qui en contiennent. Une liste non exhaustive des activités biologiques connues des furanocoumarines est présentée dans le tableau 3. Bien que les mécanismes d'action des furanocoumarines soient multiples, il semblerait que l'effet phototoxique sur la peau soit principalement dû à une toxicité au niveau de l'ADN (effet mutagène et inhibition de la synthèse), ce qui inhiberait la prolifération cellulaire (Ashwood-Smith *et al.*, 1980, Burger et Simons, 1979). On voit également que les furanocoumarines sont toxiques pour un grand nombre d'organismes, comme les bactéries, les champignons, les plantes, les insectes et les virus. Certaines de ces molécules possèdent également des propriétés pharmacologiques intéressantes, notamment un effet antidiabétique et neuroprotecteur (Shalaby *et al.*, 2014, Liu *et al.*, 2014). Dans la plupart des cas, un rayonnement UV est nécessaire pour observer un effet des furanocoumarines.

Tableau 3. Résumé des activités biologiques reportées des furanocoumarines

Activités	Références
Effets sur des organismes	
Antibactérien	Diane <i>et al.</i> , 2012 Walasek <i>et al.</i> , 2015
Antifongique	Diane <i>et al.</i> , 2012 Walasek <i>et al.</i> , 2015
Phytotoxique	Sondhia <i>et al.</i> , 2012
Insecticide	Hadaček <i>et al.</i> , 1994 Diawara <i>et al.</i> , 1993
Antiviral	Sancho <i>et al.</i> , 2004
Nématotoxique	Caboni <i>et al.</i> , 2015
Effets cellulaires et physiologiques	
Anti-inflammatoire	Wang <i>et al.</i> , 2000 Uto <i>et al.</i> , 2015
Cytotoxique (cellules saines)	Ashwood-Smith <i>et al.</i> , 1980 Burger et Simons, 1979
Cytotoxique (cellules cancéreuses)	Wu <i>et al.</i> , 2010
Neuroprotecteur (<i>in vitro</i>)	Liu <i>et al.</i> , 2014
Anticoagulant (<i>in vivo</i>)	Emerole <i>et al.</i> , 1981
Hépatotoxique (<i>in vivo</i>)	Emerole <i>et al.</i> , 1981
Hépatoprotecteur (<i>in vivo</i>)	Upadhyay <i>et al.</i> , 2012
Antidiabétique (<i>in vitro</i> et <i>in vivo</i>)	Shalaby <i>et al.</i> , 2014
Atténuation de la cardiomyopathie hypertrophique (<i>in vitro</i> et <i>in vivo</i>)	Zhang <i>et al.</i> , 2010
Formation d'érythème sur la peau	Pathak et Fitzpatrick, 1959
Stimulation de la mélanogénèse	Lei <i>et al.</i> , 2002
Anti angine	Occhiuto et Circosta, 1996
Anti arythmique	Occhiuto et Circosta, 1996
Effets biochimiques	
Antioxydant	Piao <i>et al.</i> , 2004
Mutagène	Ashwood-Smith <i>et al.</i> , 1980 Burger et Simons, 1979
Réarrangements chromosomiques	Ashwood-Smith <i>et al.</i> , 1980
Inhibiteur des cytochromes P450	Zhou <i>et al.</i> , 2004
Inhibiteur de l'ADN polymérase I	Granger et Hélène, 1983
Inhibiteur de la cholinestérase	Tareq <i>et al.</i> , 2011
Formation de liaison covalente entre les deux brins d'ADN	Hearst, 1989
Induction des protéines chaperonnes HSP (<i>Heat Shock Protein</i>)	Muramatsu <i>et al.</i> , 1993

Suite tableau 3

Activités	Références
Effets biochimiques	
Stimulation de la production de TNF- α (facteur de nécrose tumorale)	Vowels <i>et al.</i> , 1992
Inhibiteur de la voie de signalisation NFAT	Márquez <i>et al.</i> , 2004
Antigénotoxique (protection contre des carcinogènes, procarcinogènes et métabolites génotoxiques)	Marumoto <i>et al.</i> , 2011
Inhibiteur de l'ADN topoisomérase I	Diwan et Malpathak, 2009
Inhibiteur de la polymérisation de l'ADN	Smith <i>et al.</i> , 2004
Formation de liaison ADN-protéine	Bordin <i>et al.</i> , 1993
Inhibiteur de la liaison du facteur de croissance épidermique (EGF) à son récepteur	Laskin <i>et al.</i> , 1986
Formation d'adduits avec les ARNt et ARNr et dénaturation de la structure secondaire des ARNr	Frederiksen <i>et al.</i> , 1989; Frederiksen et Hearst, 1979
Diminution de l'activité de β -galactosidase lysosomale	Frederiksen <i>et al.</i> , 1989
Liaison avec des protéines cellulaires	Frederiksen et Hearst, 1979
Augmentation de l'activité ARNase	Frederiksen et Hearst, 1979
Formation d'espèces réactives d'oxygène et de stress oxydatif	Joshi et Pathak, 1983
Inhibiteur de la production de prostaglandine E-2 induite par LPS	Ban <i>et al.</i> , 2003

CHAPITRE 3

DÉVELOPPEMENT DE LA MÉTHODE ANALYTIQUE

A) Matériel et méthode

Produits chimiques

Les standards de bergaptène, psoralène et xanthotoxine ont été achetés chez Santa Cruz Biotechnology (Dallas, TX, États-unis). Les standards d'angélicine et d'isopimpinélline ont été achetés chez Toronto Research Chemicals (Toronto, ON, Canada). L'hydroxytoluène butylé (BHT) a été acheté chez Sigma-Aldrich (Oakville, ON, Canada). Le méthanol utilisé pour les extractions ainsi que le méthanol de grade HPLC ont été achetés chez Fisher Scientific (Toronto, ON, Canada).

Échantillons de plantes

Des échantillons de berce du Caucase ont été récoltés au cours de l'été 2014 dans 63 sites à travers le Québec. Pour chaque site, des morceaux de feuilles et de tiges ont été recueillis sur deux individus différents lorsque c'était possible. Ainsi, 193 échantillons (68 de tiges et 125 de feuilles) ont été obtenus et conservés au congélateur à -15 °C jusqu'à leur analyse.

Évaluations des méthodes d'extraction

Cinq méthodes d'extraction ont été évaluées avant de sélectionner la méthode utilisée pour la préparation des 193 échantillons dosés dans le cadre de ce projet. Les extractions ont été réalisées avec du méthanol. La première méthode était une macération pendant une nuit. Pour la deuxième et troisième méthode, les plantes ont été extraites dans un bain à ultrasons pendant 30 et 60 minutes. Lors du quatrième test, l'extraction a été réalisée dans un bain à ultrasons chauffé à 50 °C pendant 30 minutes. Finalement, la cinquième méthode, celle choisie pour l'extraction des échantillons, était identique à la quatrième mais en ayant broyé préalablement les plantes avec de la carboglace.

Chaque extraction a été réalisée en triplicata et le pourcentage de recouvrement en xanthotoxine et les coefficients de variations des concentrations en furanocoumarines ont été calculés comme détaillés plus loin.

Macération

Quatre grammes de feuille ou de tige ont été grossièrement découpés aux ciseaux et au sécateur, puis extraits pendant une nuit dans du méthanol avec 50 µg/mL de BHT sous agitation à l'aide d'un agitateur oscillant (40 mL de méthanol pour les tiges, 80 mL pour les feuilles). Après extraction, environ 1 mL de chaque extrait a été filtré à l'aide d'un filtre en téflon 0,22 µm et transféré dans un vial. Les échantillons ont été conservés au congélateur à -20 °C en attendant leur analyse par HPLC, pour une semaine maximum.

Extractions aux ultrasons

Quatre grammes de feuille ou de tiges ont été grossièrement découpés aux ciseaux et au sécateur puis extraits pendant 30 ou 60 min dans 40 mL de méthanol avec 50 µg/mL de BHT dans un bain à ultrasons à température ambiante. Le même processus a été répété en chauffant le bain à ultrasons à 50 °C pour 30 min d'extraction. Après extraction, environ 1 mL de chaque extrait a été filtré à l'aide d'un filtre en téflon 0,22 µm et transféré dans un vial HPLC. Les échantillons ont été conservés au congélateur à -20 °C en attendant leur analyse par HPLC, pour une semaine maximum.

Méthode choisie pour l'extraction des échantillons

Environ 4 g de tiges ou de feuilles fraîches ont été broyés finement dans un mortier à l'aide de glace carbonique. La poudre obtenue a ensuite été pesée précisément et extraite dans 40 mL de méthanol contenant 50 µg/mL de BHT, pendant 30 min dans un bain à ultrasons à 50 °C. Le BHT joue ici le rôle de standard interne. Après extraction, environ 1

mL de chaque extrait a été filtré à l'aide d'un filtre en téflon 0,22 μm et transféré dans un vial. Les échantillons ont été conservés au congélateur à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ en attendant leur analyse par HPLC, pour une semaine maximum

Analyse par HPLC

Les échantillons ont été analysés par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) sur phase inverse (Kinetex 5u XB-C18 100A 250 x 4,6 mm) (Phenomenex, Torrance, CA, États-Unis) avec un système Agilent 1100. La méthode a été développée au cours de ce projet. La colonne a été maintenue à une température de $28\text{ }^{\circ}\text{C}$. L'élution a été réalisée à un débit de 1 mL/min en utilisant deux solvants : A (méthanol + 0,1 % acide formique) et B (eau + 0,1 % acide formique) avec A : 40 % (15 min), 40 % \rightarrow 50 % en 10 min, 50 % (5 min), 50 % \rightarrow 100 % en 5 min, puis 100 % (10 min). La colonne a été laissée à équilibrer pendant 5 min entre chaque analyse et un blanc a été réalisé avant chaque séquence analytique. L'aire des pics a été mesurée à 280 nm à l'aide d'un détecteur à barrettes de diodes (Agilent). Les pics correspondants aux furanocoumarines ont pu être identifiés par comparaison des temps de rétention avec ceux de standards commerciaux. Cinq furanocoumarines ont ainsi été identifiées avec certitudes (psoralène, xanthotoxine, angélicine, isopimpinélline et bergaptène). Afin de confirmer la présence de ces molécules dans les extraits, une solution d'extrait de berce a été enrichie en ces cinq furanocoumarines et injectée en HPLC afin d'observer l'augmentation d'intensité des pics correspondants sur le chromatogramme.

Courbe d'étalonnage et dosage des furanocoumarines

Une courbe de dosage a été préparée à partir de solutions de xanthotoxine à différentes concentrations (10, 20, 30, 50 et 100 $\mu\text{g/mL}$ environ, réalisées en triplicata). Les solutions de xanthotoxine ont été préparées dans du méthanol contenant 50 $\mu\text{g/mL}$ de BHT (standard interne). Deux méthodes d'étalonnage ont été évaluées et comparées.

Tout d'abord, une courbe d'étalonnage externe reliant directement la concentration en xanthotoxine à l'aire du pic correspondant a été obtenue ($y = 18,122 x + 2,1759$; $R^2 = 0,9986$). Un étalonnage interne a également été réalisé à l'aide des mêmes solutions. Une courbe reliant les rapports (concentration xanthotoxine/concentration BHT) et (aire pic xanthotoxine/aire pic BHT) a ainsi été obtenue ($y = 3,5059 x - 0,014$; $R^2 = 0,9980$). Grâce à ces deux équations, on a pu estimer en équivalent μg xanthotoxine la concentration de chaque furanocoumarine dans les extraits dosés. Ces concentrations en $\mu\text{g/mL}$ ont ensuite été ramenées à des concentrations en équivalent μg xanthotoxine/g de matériel végétal frais. Puis, en additionnant les concentrations des différentes furanocoumarines, la concentration totale en furanocoumarines a été obtenue pour chacun des échantillons.

Validation de la méthode

Les méthodes d'extraction et de dosage ont été validées selon les directives de la *Food and Drug Administration* (Food and Drug Administration 2001) et de *l'International Conference on Harmonisation* (ICH Guidelines 2005).

Test de recouvrement

L'efficacité d'extraction a été déterminée par le pourcentage de recouvrement en xanthotoxine. Des extractions tests ont été réalisées en utilisant un même échantillon de berce selon les cinq méthodes décrites plus tôt. Une extraction a également été réalisée en ajoutant avec le solvant d'extraction, en plus de la matière végétale, une quantité connue de xanthotoxine. Une solution de xanthotoxine à une concentration identique à celle présente dans l'échantillon dopé a également été traitée comme les extraits, afin de servir de témoin. Chaque extraction a été réalisée en triplicata et analysée en HPLC afin d'obtenir les concentrations en xanthotoxine. Ce test d'efficacité d'extraction a été réalisé à la fois pour

des extractions de feuilles et de tiges. Le pourcentage de recouvrement a été calculé selon la formule suivante :

$$\%Recouvrement = \frac{A - B}{C} \times 100 \quad (1)$$

A = concentration en xanthotoxine dans l'extrait dopé

B = concentration en xanthotoxine dans l'extrait normal (sans ajout)

C = concentration en xanthotoxine dans la solution témoin

Répétabilité de la méthode d'extraction

La répétabilité de la méthode d'extraction a été déterminée par la mesure des coefficients de variation des concentrations en furanocoumarines. Les concentrations sont celles obtenues lors des dosages des trois extraits non enrichis utilisés lors du test de recouvrement pour chacune des cinq méthodes d'extractions.

Linéarité

La linéarité a été déterminée à l'aide des cinq solutions préparées en triplicata pour la réalisation de la courbe de dosage. La relation linéaire entre la concentration et l'aire des pics a ainsi été vérifiée pour l'intervalle des concentrations étudiées.

Sensibilité

La limite de détection (LOD) et la limite de quantification (LOQ) ont été déterminées en HPLC par la mesure du ratio signal/bruit des pics obtenus pour des

solutions de xanthotoxine préparées à des concentrations connues. La valeur du ratio devait être au minimum de trois pour la LOD et de dix pour la LOQ.

Précision

La précision intra-jour a été déterminée par le calcul des coefficients de variations pour les furanocoumarines lors de l'analyse de six injections d'une même solution d'extrait de berce. Afin de pouvoir observer une éventuelle dérive du système HPLC au cours d'une séquence analytique, une solution témoin d'extrait de berce a été injectée au début, au milieu et à la fin de chaque séquence pour mesurer la précision de l'analyse. Ces injections de solution témoin ont également permis de déterminer la précision inter-jour sur l'ensemble de toutes les séquences, soit sur une étendue de quatre mois.

Justesse

Trois solutions témoins de xanthotoxine à trois différentes concentrations ont été préparées et analysées en triplicate. La justesse a été définie par l'erreur relative entre la concentration nominale et la concentration calculée grâce aux équations des droites d'étalonnage.

$$\text{Erreur relative} = 100 * \frac{\text{conc. moyenne calculée} - \text{conc. nominale}}{\text{conc. nominale}} \quad (2)$$

B) Résultats et discussion

Développement de la méthode d'extraction

Différents tests ont été réalisés afin de sélectionner une méthode d'extraction adaptée. Pour chacune des cinq méthodes, le pourcentage de recouvrement en xanthotoxine et la répétabilité ont été calculés tels que décrits dans la partie matériel et méthode. Les résultats sont présentés dans le tableau 4. Chaque test a été réalisé en triplicata et les résultats de pourcentage de recouvrement sont les moyennes obtenues. Il est important de noter que les méthodes ont simplement été comparées pour leur pourcentage de recouvrement et pour leur répétabilité, mais qu'aucune analyse statistique n'a été réalisée à cette étape pour confirmer la significativité des différences observées.

Tableau 4. Résultats des tests des différentes méthodes d'extraction

Méthodes	Description	Matériel	Recouvrement %	Répétabilité %
1	Macération pendant une nuit	Feuilles	87,3	9,9
		Tiges	41,5	25,7
2	Ultrasons 30 min	Tiges	81,6	9,8
3	Ultrasons 60 min	Tiges	76,8	9,3
4	Ultrasons 30 min à 50 °C	Tiges	93,6	11,4
5	Broyage à la carboglace et ultrasons 30 min à 50 °C	Feuilles	85,0	2,1
		Tiges	81,0	2,5

Le pourcentage de recouvrement en xanthotoxine et la répétabilité ont été calculés comme décrit précédemment.

Les tests ont été effectués principalement sur des tiges, car d'après les résultats du premier test de macération, c'est pour ce type de matrice que le pourcentage de recouvrement était le plus faible et la variation la plus grande. On a donc essayé d'améliorer la méthode. L'extraction par ultrasons a amélioré le recouvrement ainsi que la répétabilité. Cette dernière était cependant toujours assez élevée (9,3 %). L'augmentation du temps d'extraction n'a pas semblé améliorer ni le pourcentage de recouvrement ni la variation entre les extraits ainsi obtenus.

En chauffant le bain de la cuve à ultrasons à 50 °C, le pourcentage de recouvrement a été amélioré lors du premier essai (93,6 %). Mais, lors du deuxième essai impliquant le broyage des échantillons avec un mortier et de la carboglace, le pourcentage de recouvrement a été similaire à l'extraction sans chauffage. Le chauffage seul n'a pas amélioré la variabilité du processus d'extraction avec des ultrasons (11,4 %). Cependant, lors de l'essai avec un broyage préalable, la répétabilité a grandement été améliorée (2,5 %). Il est possible que la grande variabilité observée lors des essais précédents soit due à une mauvaise homogénéité de la taille des fragments de feuilles et de tiges, bien que beaucoup d'efforts aient été déployés afin d'avoir une taille similaire des particules.

La méthode d'extraction par ultrasons après broyage à la carboglace a donné des résultats satisfaisants pour le pourcentage de recouvrement (85,0 % et 81,0 %) et une très bonne reproductibilité (2,1 % et 2,5 %). Elle a donc été choisie pour l'extraction des échantillons à analyser. Le fait de broyer finement les échantillons avec la carboglace augmente également la surface de contact entre la plante et le solvant, ce qui favorise généralement l'efficacité d'extraction. Conséquemment, il n'était peut-être pas nécessaire de chauffer pour avoir un recouvrement satisfaisant. Il aurait sûrement été possible d'améliorer le pourcentage de recouvrement en variant le ratio plante/solvant, ou en utilisant un autre solvant. Compte tenu des objectifs de ce projet, cette méthode semble bien adaptée. En effet, comme il s'agit de doser et de comparer des échantillons entre eux, le point critique est de limiter la variabilité due aux étapes de manipulations de la plante.

Validation de la méthode analytique

La méthode de dosage par HPLC en étalonnage externe répond bien aux critères fixés par la FDA pour le développement de méthode analytique (Food and Drug Administration 2001). Les résultats des tests de validation sont présentés dans le tableau 5. La spécificité de la méthode HPLC a tout d'abord été validée par l'injection de standards commerciaux de furanocoumarines, afin d'identifier avec certitudes les composés à doser sur le profil chromatographique (figure 6). Cinq furanocoumarines ont ainsi été détectées dans les extraits de berce du Caucase (psoralène, xanthotoxine, angélicine, isopimpinélline et bergaptène). Mis à part pour l'intensité des pics, les profils des différents échantillons étaient similaires. D'après les spectres UV, les autres composés majoritaires présents dans les échantillons n'appartenaient pas à la famille des furanocoumarines. La capacité de résolution de la méthode HPLC a été confirmée par injection d'un extrait de feuille de berce du Caucase, tel que le montre la figure 6. Les précisions intra et inter-jour pour chaque molécule sont bien en dessous de la limite de 15 % fixée par la FDA (tableau 6), de même que la justesse maximum pour l'étalonnage externe. La courbe de calibration est également bien linéaire pour l'intervalle des concentrations retrouvées parmi les échantillons dosés.

La comparaison des deux méthodes d'étalonnage (interne et externe) a montré que l'étalonnage externe semblait plus fiable. En effet, la valeur maximale de justesse de l'étalonnage interne dépasse la limite de 15 % (tableau 5). De plus lors, du dosage des échantillons, des variations importantes de concentration en standard interne ont été observées entre les échantillons. L'étalonnage externe a donc été sélectionné pour déterminer les concentrations des furanocoumarines dans les échantillons à doser. Néanmoins, les deux méthodes d'étalonnage ont tout de même donné des résultats globalement similaires et acceptables au niveau des calculs de précision (tableau 6), de recouvrement et de répétabilité (tableau 7).

Tableau 5. Données des tests de validation de la méthode analytique

	Étalonnage externe	Étalonnage interne
Équation de la droite de régression	$y = 18,122x + 2,1759$	$y = 3,5059x - 0,014$
R ²	0,9986	0,9980
Linéarité µg/mL	0 : 126,2	0 : 126,2
Précision intra-jour % (min : max)	0,72 : 5,38	0,82 : 4,34
Précision inter-jour % (min : max)	8,52 : 9,40	9,75 : 10,80
Justesse % (min : max)	-1,46 : 11,35	7,39 : 19,31
LOD µg/mL	0,920	0,920
LOQ µg/mL	1,725	1,725

Les courbes d'étalonnages ont été réalisées à l'aide de solutions standards de xanthotoxine à cinq concentrations (10, 20, 30, 50 et 100 µg/mL) et contenant 50 µg/mL de BHT.

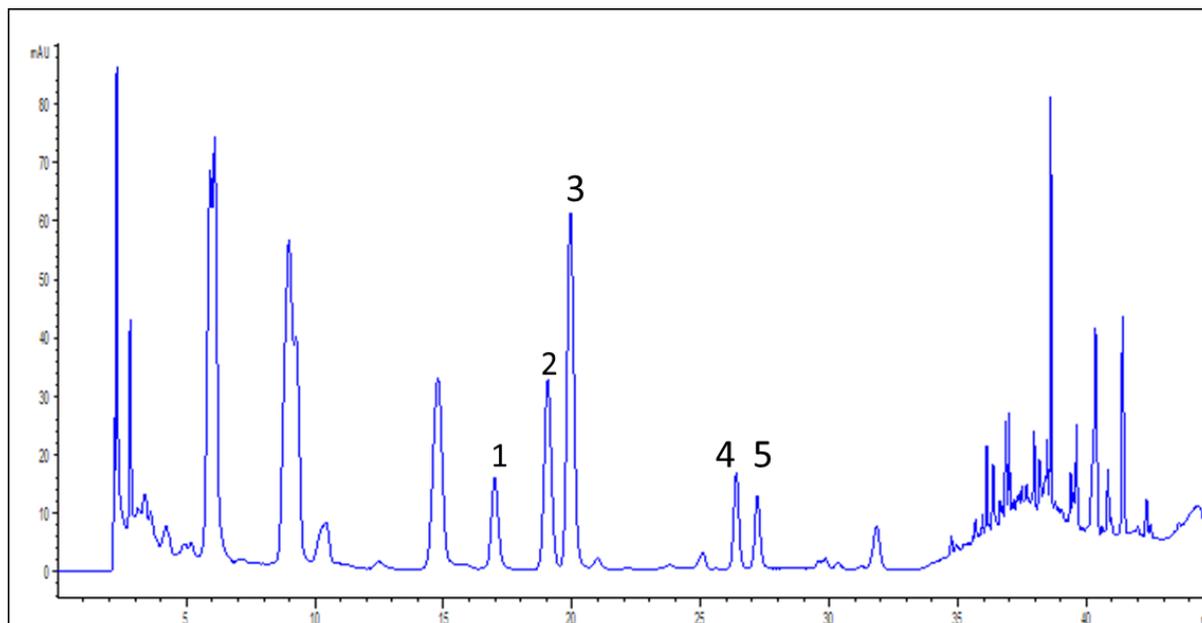


Figure 6. Profil HPLC d'un extrait de feuille de berce du Caucase. Chromatogramme enregistré à 280 nm. Pic 1 : psoralène, pic 2 : xanthotoxine, pic 3 : angélicine, pic 4 : isopimpinélline, pic 5 : bergaptène. Les autres pics majeurs ne correspondent pas à des furanocoumarines.

Tableau 6. Résultats des tests de précision intra-jour et inter-jour pour l'étalonnage interne et externe

	Précision intra-jour %		Précision inter-jour %	
	Étalonnage externe	Étalonnage interne	Étalonnage externe	Étalonnage interne
Psoralène	2,47	1,71	9,40	10,80
Xanthotoxine	2,72	2,03	8,52	9,75
Angélicine	0,72	0,83	8,87	10,21
Isopimpinélline	5,38	4,34	9,12	9,88
Bergaptène	3,08	2,63	9,24	10,03

Les valeurs sont indiquées en pourcentage et ont été calculées pour les concentrations de chaque furanocoumarine. Les courbes d'étalonnages ont été réalisées à l'aide de solutions standards de xanthotoxine à cinq concentrations (10, 20, 30, 50 et 100 µg/mL) et contenant 50 µg/mL de BHT.

Tableau 7. Effet de la prise en compte du standard interne dans les valeurs de pourcentage de recouvrement et de répétabilité de la méthode d'extraction

	Tiges		Feuilles	
	Étalonnage interne	Étalonnage externe	Étalonnage interne	Étalonnage externe
Recouvrement (%)	82,5	81,0	99,7	85,0
Répétabilité (%)				
Psoralène	5,0	5,9	2,9	3,6
Xanthotoxine	1,7	2,5	2,5	2,1
Angélicine	2,4	3,2	2,4	3,0
Isopimpinélline	0,3	0,6	1,8	2,2
Bergaptène	1,8	2,7	2,1	2,6

Les échantillons ont été extraits à 50 °C aux ultrasons dans du méthanol après un broyage à la carboglace.

La répétabilité des analyses HPLC au sein d'une même séquence a été contrôlée par l'injection d'un extrait témoin de feuille de berce au début, au milieu et à la fin de chaque séquence afin de mesurer la précision. Celle-ci ne dépasse jamais la limite de 15 % pour aucune des furanocoumarines dosées (tableau 8). Il n'y a donc pas de dérives excessives du système au cours des séquences analytiques.

Tableau 8. Résultats du test de répétabilité au sein d'une séquence analytique

	Répétabilité moyenne (min : max) %	
	Étalonnage externe	Étalonnage interne
Psoralène	0,98 (0,43 : 1,72)	2,27 (0,24 : 4,56)
Xanthotoxine	0,64 (0,18 : 1,16)	2,03 (0,28 : 4,16)
Angélicine	0,60 (0,11 : 1,13)	2,01 (0,24 : 4,11)
Isopimpinélline	0,97 (0,29 : 3,12)	1,79 (0,13 : 4,50)
Bergaptène	1,04 (0,32 : 3,25)	1,90 (0,33 : 4,26)

Les données présentées sont les coefficients de variation des concentrations, avec la valeur moyenne pour l'ensemble des contrôles et les valeurs minimales et maximales observées. Les données proviennent des extraits contrôles injectés dans chaque séquence analytique.

En conclusion, une méthode d'extraction aux ultrasons après broyage à la carboglace et une méthode analytique chromatographique par HPLC ont été développées afin de pouvoir doser de façon robuste les concentrations en furanocoumarines dans des échantillons de berce de Caucase. Les méthodes répondent aux critères réglementaires de la FDA (Food and Drug Administration 2001) et de l'*International Conference on Harmonisation* (ICH Guidelines 2005). L'approche d'extraction ainsi que la méthode d'analyse par HPLC développées sont bien adaptées aux contraintes (nombre d'échantillons, rapidité de la méthode, etc.) de ce projet de recherche.

CHAPITRE 4

ANALYSES STATISTIQUES ET INTERPRÉTATIONS

A) Matériel et méthode

Les analyses statistiques ont été réalisées avec un seuil de significativité α de 0,05 à l'aide du logiciel JMP® (version 12.0.1, SAS Institute). Les résultats du dosage des furanocoumarines dans les feuilles par étalonnage externe ont été utilisés.

Échantillonnage

Les analyses statistiques ont été réalisées pour 125 échantillons de feuilles récoltés entre le 2 et le 24 juillet 2014. Ces échantillons provenaient de 63 sites de récolte à travers 11 régions du Québec, tel que le montre le tableau 9. Lorsque possible, des échantillons de feuilles ont été recueillis sur deux individus différents par site. Les sites de récolte ont été identifiés lors d'une étude de terrain par Lavoie et ses collaborateurs qui ont recensé les populations de berce du Caucase au Québec en 2012. (Lavoie *et al.* 2013). À ces sites d'échantillonnage, des feuilles ont également été récoltées pour des analyses génétiques et des échantillons de sols pour des analyses du contenu en azote.

Tableau 9. Provenance des échantillons de feuilles de berce du Caucase

Régions	Nombre d'échantillons
Bas-Saint-Laurent	6
Capitale-Nationale	27
Centre-du-Québec	4
Chaudière-Appalaches	17
Estrie	10
Lanaudière	8
Laurentides	20
Mauricie	7
Montérégie	12
Outaouais	6
Saguenay-Lac-Saint-Jean	8

Analyses génétiques

Ces travaux font partie d'un autre projet de maîtrise réalisé par Jeanne Piette, une étudiante de l'Université Laval (Piette 2017). Brièvement, l'ADN a été extrait et séquencé pour 928 échantillons de berce du Caucase. Les données SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) ont ensuite été analysées par groupement bayésien et analyse multivariée.

Analyses de sol

Ces analyses ont été effectuées par le département des sciences du bois et de la forêt de l'Université Laval. Brièvement, les ions ammonium et nitrate ont été extraits avec une solution de KCl (Keeney et Nelson 1982). Le dosage de ces ions et de l'azote total a été effectué par injection en flux continu (FIA) selon les méthodes QuikChem 10-107-06-2-B, 12-107-04-1-F et 13-107-06-2D (Lachat Instruments 2008).

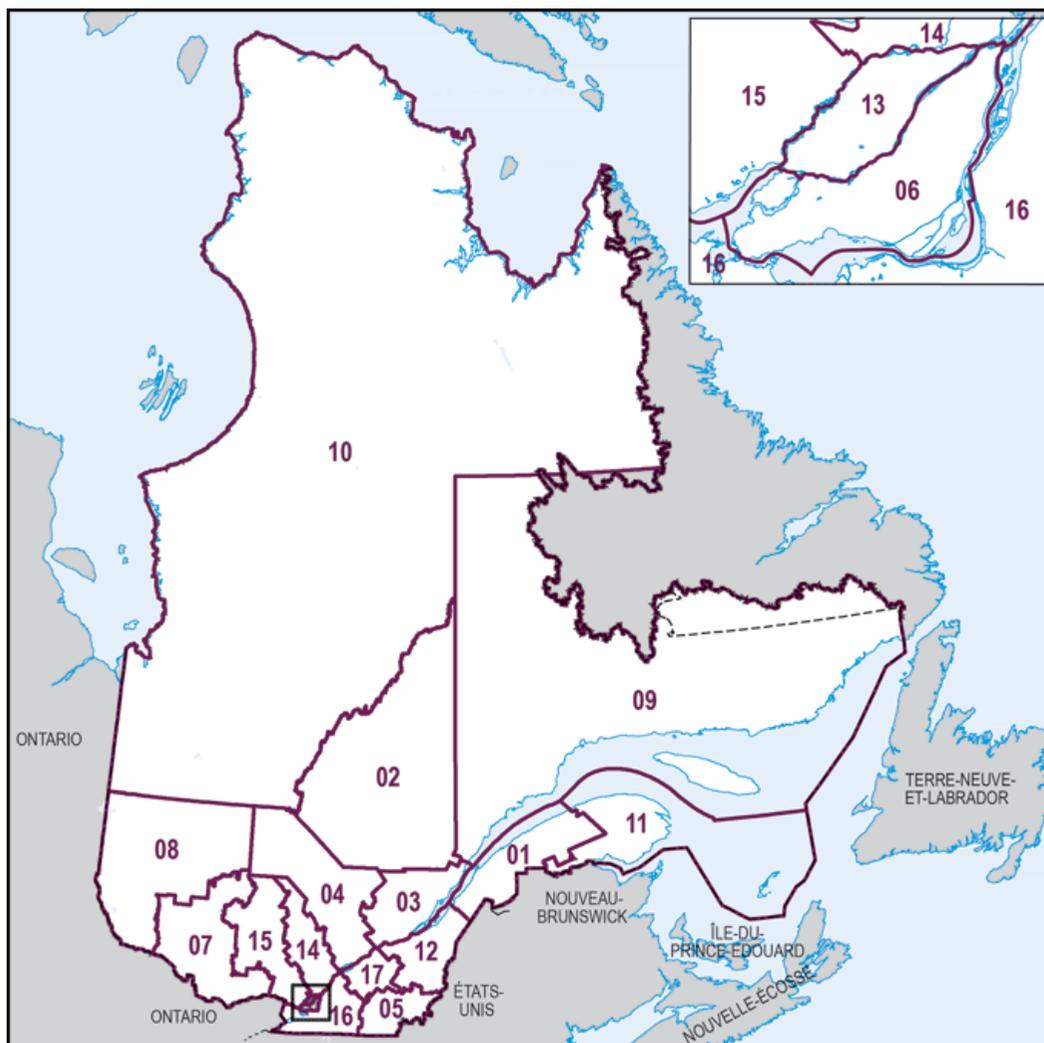


Figure 7. Carte des régions administratives du Québec.

1 : Bas-Saint-Laurent, **2** : Saguenay-Lac-Saint-Jean, **3** : Capitale-Nationale, **4** : Mauricie, **5** : Estrie, **6** : Montréal, **7** : Outaouais, **8** : Abitibi-Témiscaminque, **9** : Côte-Nord, **10** : Nord-du-Québec, **11** : Gaspésie-Îles-de-la-Madeleine, **12** : Chaudière-Appalaches, **13** : Laval, **14** : Lanaudière, **15** : Laurentides, **16** : Montérégie, **17** : Centre-du-Québec
(Carte provenant de Directeur général des élections du Québec, 2017).

Données environnementales

Les variables environnementales suivantes ont été utilisées : concentration en ammonium du sol (ppm), concentration en nitrate du sol (ppm), azote total du sol (%), précipitations annuelles (mm), degré jour annuel > 0 °C, précipitations (mm) et températures (°C) moyennes pour les mois de janvier à juin 2014. Les analyses de sols ont été réalisées pour des échantillons récoltés au même moment et aux mêmes sites où les feuilles de berce du Caucase ont été cueillies. Les données de précipitation et de température ont été obtenues sur le site d'Environnement Canada pour la station météo la plus proche du site de récolte de l'échantillon (Gouvernement du Canada 2016). Les valeurs annuelles proviennent de la moyenne des données enregistrées de 1981 à 2010.

Analyses statistiques réalisées

Le protocole, décrit ci-dessous, a été utilisé pour analyser les valeurs de concentrations (équivalent μg xanthotoxine/g de matériel végétal frais) ainsi que pour le pourcentage de chaque furanocoumarine (pourcentage par rapport à la concentration totale en furanocoumarines). Disposant d'un meilleur échantillonnage pour les feuilles que pour les tiges (seulement 68 échantillons), les analyses statistiques ont été effectuées uniquement pour les feuilles. Une matrice de corrélation a tout d'abord été effectuée afin d'observer les liens entre les concentrations de chaque furanocoumarine. Les variations chimiques ont été étudiées par deux analyses de la variance (ANOVA) pour rechercher d'abord un éventuel effet de la région d'origine, puis de la souche génétique des échantillons. Lorsque l'analyse de la variance montrait l'existence d'une différence significative, les moyennes des échantillons regroupés par régions ou par souches génétiques ont été comparées avec un test de comparaison multiple de Student. Ensuite, des modèles de régression multiple ont été développés avec les variables environnementales en utilisant une méthode BIC descendant. Après avoir vérifié graphiquement l'homogénéité de la variance des résidus des modèles, ceux-ci ont été

enregistrés. Pour ces résidus, des analyses ANOVA ont permis de rechercher les effets de la région et de la génétique, une fois les variations expliquées par l'environnement prises en compte. Des modèles d'ANOVA mixte ont également été testés en utilisant les variables environnementales en covariables et la souche génétique en effet fixe.

B) Résultats et discussion

Les résultats des dosages, présentés dans le tableau 10, ont tout d'abord montré que les concentrations en furanocoumarines sont beaucoup plus élevées dans les feuilles que dans les tiges (respectivement $1042,46 \pm 55,66$ et $257,40 \pm 26,77$ équivalent μg xanthotoxine/g frais, $P < 0,0001$). Ce qui concorde avec les résultats de Pira et ses collaborateurs (Pira *et al.* 1989). Ceux-ci ont mis en évidence que dans la berce du Caucase, la concentration en furanocoumarines est la plus élevée dans les fruits, puis dans les feuilles et enfin dans les tiges. Les concentrations en furanocoumarines de nos échantillons sont globalement du même ordre de grandeur que celles trouvées dans ces travaux (tableau 11), bien que les méthodes d'extraction utilisées diffèrent (extraction au Soxhlet contre extraction aux ultrasons).

Tableau 10. Concentrations et pourcentages moyens de chaque furanocoumarine dans l'ensemble des échantillons de feuilles et de tiges de berce du Caucase

	Feuilles	Tiges
Psoralène	$273,88 \pm 20,03$	$31,95 \pm 4,66$
Xanthotoxine	$224,57 \pm 13,89$	$75,35 \pm 12,04$
Angélicine	$454,55 \pm 22,01$	$117,11 \pm 11,10$
Isopimpinélline	$27,04 \pm 3,58$	$19,10 \pm 3,70$
Bergaptène	$62,42 \pm 9,29$	$13,34 \pm 3,34$
Concentration totale	$1042,46 \pm 55,66$	$257,40 \pm 26,77$
%Psoralène	$26,27 \pm 0,80$	$9,88 \pm 0,99$
%Xanthotoxine	$21,54 \pm 0,82$	$23,69 \pm 1,86$
%Angélicine	$43,60 \pm 0,90$	$52,88 \pm 2,54$
%Isopimpinélline	$2,59 \pm 0,30$	$7,37 \pm 1,14$
%Bergaptène	$5,99 \pm 0,39$	$4,58 \pm 0,39$

Les concentrations sont exprimées en équivalent μg xanthotoxine/g de matériel frais et l'erreur standard de la moyenne est indiquée.

Les cinq furanocoumarines retrouvées dans les échantillons de ce projet de maîtrise sont des molécules habituellement présentes dans la berce du Caucase (Hattendorf *et al.* 2007). Trois composés représentent la majorité de la concentration en furanocoumarines dans les échantillons. L'angélicine est la molécule la plus abondante et représente plus de 40 % de la concentration totale en furanocoumarines dans les feuilles (tableau 10). Une étude sur la composition en furanocoumarines des fruits de cette plante avait également mis en évidence la proportion majeure d'angélicine (Ode *et al.* 2004).

Tableau 11. Concentration en furanocoumarines des échantillons de berce du Caucase des travaux de Pira et ses collaborateurs (Pira *et al.* 1989)

	Tiges	Feuilles	Fruits
Psoralène	155	291	828
Xanthotoxine	56	132	994
Bergaptène	111	170	1193
Isopimpinélline et pimpinélline	103	152	952
Total	425	745	3967

Les concentrations sont exprimées en $\mu\text{g/g}$ de matériel frais pour des échantillons récoltés au mois de juillet

D'après les résultats de ce projet, l'angélicine semble être la furanocoumarine majoritaire dans la berce du Caucase au Québec. Les furanocoumarines angulaires, moins répandues que les linéaires, seraient le fruit de l'évolution et de la pression sélective exercée par les insectes herbivores se nourrissant de plantes contenant des furanocoumarines (Bourgaud *et al.* 2006). Certaines espèces d'insectes ont en effet développé la capacité à détoxifier les furanocoumarines linéaires. Il a été suggéré que la capacité à produire des furanocoumarines angulaires aurait évolué par la suite comme système de compensation pour contrer l'adaptation des insectes aux structures linéaires. Les furanocoumarines angulaires joueraient ainsi possiblement le rôle de synergistes par leur capacité à ralentir la métabolisation des composés linéaires (Berenbaum et Zangerl 1993).

Variations régionales des concentrations en furanocoumarines

Les analyses statistiques ont tout d'abord été réalisées sur les concentrations en furanocoumarines, exprimées en équivalent μg xanthotoxine/g de feuilles fraîches. Une matrice de corrélation des cinq concentrations individuelles et de la concentration totale en furanocoumarines a révélé d'importantes corrélations entre ces variables (tableau 12). La concentration de chaque composé évolue dans le même sens que celle des autres et donc logiquement dans le même sens que la concentration totale en furanocoumarines. Les analyses statistiques ont tout de même été réalisées pour chaque molécule ainsi que pour la concentration totale.

Tableau 12. Matrice de corrélation des concentrations en furanocoumarines

	Psoralène	Xanthotoxine	Angélicine	Isopimpinélline	Bergaptène	Conc. totale
Psoralène	1,00	0,55	0,79	0,37	0,23	0,87
Xanthotoxine	0,55	1,00	0,68	0,35	0,43	0,81
Angélicine	0,79	0,68	1,00	0,43	0,33	0,93
Isopimpinélline	0,37	0,35	0,43	1,00	0,23	0,49
Bergaptène	0,23	0,43	0,33	0,23	1,00	0,50
Conc. totale	0,87	0,81	0,93	0,49	0,50	1,00

Une analyse par ANOVA a montré des différences significatives de concentration totale en furanocoumarines entre les échantillons regroupés par régions ($P < 0,0001$) (tableau 13). Il existe donc bien une variation régionale de teneur en furanocoumarines dans les populations de berce du Caucase du Québec, à l'exception du bergaptène. Un test de comparaison multiple de Student a permis de discriminer les populations de berce de chaque région selon leur concentration totale en furanocoumarines (tableau 14). Les populations de berce les plus riches en furanocoumarines se retrouveraient dans les régions de la Capitale-Nationale, le Centre-du-Québec et les Chaudière-Appalaches.

Tableau 13. Résultats des analyses ANOVA réalisées pour les concentrations en furanocoumarines en fonction de la région d'origine

	Degré de liberté	Valeur de F	Valeur de P
Psoralène	10	4,5220	< 0,0001
Xanthotoxine	10	6,6016	< 0,0001
Angélicine	10	2,2979	0,0170
Isopimpinélline	10	4,2684	< 0,0001
Bergaptène	10	1,3982	0,1899
Concentration totale	10	5,3244	< 0,0001

Tableau 14. Résultats du test de Student pour la concentration totale en furanocoumarines selon la région d'origine

Régions	Concentrations moyennes
Chaudière-Appalaches	1533,89 ^a
Capitale-Nationale	1453,65 ^a
Centre-du-Québec	1275,72 ^{ab}
Bas-Saint-Laurent	946,75 ^{bc}
Mauricie	897,54 ^{bc}
Montérégie	858,25 ^{bc}
Laurentides	813,24 ^{bc}
Saguenay-Lac-Saint-Jean	805,10 ^{bc}
Outaouais	673,00 ^{bc}
Estrie	626,13 ^c
Lanaudière	576,73 ^c

Les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes ($\alpha = 0,05$).

Les analyses des données génétiques ont permis de mettre en évidence trois groupes génétiques distincts (identifiés ici par des couleurs) et un groupe mixte dans les populations de berce au Québec. De plus, chaque région étudiée a pu être associée à une souche génétique selon le tableau 15 (Piette 2017).

Tableau 15. Association des souches génétiques à leurs régions correspondantes

Souche rouge (46)	Souche verte (57)	Souche bleue (6)	Souche mixte (16)
Centre-du-Québec	Capitale-Nationale	Bas-Saint-Laurent	Laurentides
Estrie	Chaudière-Appalaches		
Lanaudière	Saguenay-Lac-Saint-Jean		
Montérégie	Mauricie		
Outaouais			

Le nombre d'échantillons par souche est indiqué entre parenthèses.

Afin d'étudier si les variations régionales de concentration en furanocoumarines pouvaient être expliquées par la variabilité génétique des populations de berce, une analyse ANOVA a été réalisée en séparant les échantillons selon leur souche génétique. Cette analyse a montré l'existence d'une différence significative de concentration en furanocoumarines entre les échantillons selon leur souche génétique (tableau 16). La génétique semble donc influencer en partie la teneur en furanocoumarines dans les feuilles de berce du Caucase. Un test de Student a permis de montrer que la souche verte semble être la plus riche en furanocoumarines (tableau 17). Cette souche étant composée des individus de la région Chaudière-Appalaches et Capitale-Nationale, soit là où les populations sont les plus concentrées, ce résultat n'est pas surprenant. Cependant, la souche verte se retrouve également dans les régions du Saguenay-Lac-Saint-Jean et de la Mauricie, suggérant que la diversité génétique n'est peut-être pas le seul facteur expliquant les variations de concentrations en furanocoumarines.

Tableau 16. Résultats des analyses ANOVA réalisées pour les concentrations en furanocoumarines en fonction de la souche génétique

	Degré de liberté	Valeur de F	Valeur de P
Psoralène	3	10,7934	< 0,0001
Xanthotoxine	3	13,7949	< 0,0001
Angélicine	3	4,1794	0,0075
Isopimpinélline	3	4,8341	0,0033
Bergaptène	3	1,7062	0,1693
Concentration totale	3	10,7388	< 0,0001

Tableau 17. Résultats du test de Student pour la concentration totale en furanocoumarines selon la souche génétique

Souches génétiques	Concentrations moyennes
Verte	1349,12 ^a
Bleue	946,75 ^{ab}
Rouge	789,89 ^b
Mixte	712,07 ^b

Les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes ($\alpha = 0,05$).

Il existe donc bien des variations régionales de teneur en furanocoumarines dans la berce du Caucase et ces variations semblent en partie liées à la diversité génétique entre les populations. Une étude de Zangerl et Berenbaum avait déjà pu mettre en évidence de telles différences significatives de teneur en furanocoumarines entre plusieurs populations de panais sauvage (*Pastinica sativa*) présentant une variation génétique inter-population (Zangerl et Berenbaum 1990). À notre connaissance, aucune étude de ce genre n'avait été auparavant réalisée pour la berce du Caucase.

Modèles environnementaux pour les concentrations en furanocoumarines

Après avoir mis en évidence la présence d'une différence significative de concentration en furanocoumarines selon la souche génétique, l'effet de l'environnement a été étudié par le développement de modèles en régression multiple. Ceci a permis d'observer un effet significatif de certaines variables environnementales sur la concentration en furanocoumarines (tableaux 18 et 19). Les précipitations du mois d'avril augmentent la teneur en furanocoumarines (coefficient positif), tandis que celles de mai la font diminuer (coefficient négatif). Ce phénomène se retrouve également pour les concentrations individuelles des cinq furanocoumarines. Peu d'informations sont disponibles sur l'influence des précipitations et du stress hydrique sur la concentration en furanocoumarines dans les plantes. Seulement une étude montrant une légère augmentation de la concentration en angélicine, mais aucun effet significatif pour le psoralène, dans les feuilles de *Bituminaria bituminosa* lors de traitement d'irrigation pendant la période de croissance a été trouvée (Walker *et al.* 2012).

L'effet opposé des précipitations d'avril et de mai est ardu à interpréter. Pendant ces deux mois, la plante est en phase de croissance végétative (Page *et al.* 2006) et il est difficile d'imaginer un scénario pour lequel les précipitations influenceraient de façon inverse la concentration en furanocoumarines pour deux mois consécutifs. Pour l'augmentation de la concentration avec les précipitations, on peut supposer qu'un apport supérieur en eau aiderait au développement de la plante et à son métabolisme, donc à la synthèse de furanocoumarines. De plus, au réveil après l'hiver, un apport supplémentaire en eau pourrait probablement aider la plante à se réhydrater plus rapidement après la sécheresse et la déshydratation induites par le gel (Xin et Browse 2000). Inversement, on peut imaginer qu'une augmentation des précipitations soit liée à un plus important couvert nuageux et donc à une baisse de l'ensoleillement. Or, il est connu que l'ensoleillement et le rayonnement UV augmentent de façon significative la concentration en furanocoumarines (travaux réalisés sur le panais sauvage par Zangerl et Berenbaum (Zangerl et Berenbaum 1987)). On peut supposer que ce phénomène soit lié à la voie de biosynthèse de

l'ombéllifèrone, le précurseur des furanocoumarines. En effet, il a été montré que l'expression d'un gène impliqué dans la biosynthèse de l'ombéllifèrone est plus forte lorsque la plante est exposée à des rayonnements UV (Vialart *et al.* 2012). En conclusion, l'effet positif des précipitations du mois d'avril serait probablement lié au besoin en eau de la plante à la sortie de l'hiver pour la reprise de sa croissance végétative, tandis que l'effet négatif des précipitations du mois de mai serait probablement lié à l'influence de l'ensoleillement sur la biosynthèse des furanocoumarines. Cependant, il est important de souligner qu'étant donné la vaste aire géographique étudiée, il est possible qu'au cours de ces deux mois les plantes soient à des stades de développement différents. Par exemple au mois d'avril, les populations du nord pourraient reprendre leur croissance végétative plus tard que les populations du sud à cause de la neige. Les hypothèses concernant l'effet des précipitations et du rayonnement UV sur la concentration en furanocoumarines pourraient être évaluées par des cultures en serre avec des conditions contrôlées de rayonnements UV et d'apport en eau.

En plus de l'effet des précipitations, on peut relever l'influence de l'ammonium présent dans le sol (NH_4^+) sur la concentration en angélicine. L'effet de la fertilisation avec de l'azote (NH_4NO_3) a déjà été étudié pour le contenu en furanocoumarines de *Psoralea cinerea* (Bourgaud *et al.* 1992). Les résultats montrent que le traitement n'influence pas la concentration en angélicine des feuilles, contrairement aux résultats observés lors de notre étude, mais augmente légèrement la concentration en psoralène. Cependant, les concentrations dans les fruits étaient fortement augmentées lors des traitements à l'azote. Dans notre cas, la quantité d'azote total présent dans le sol semble n'avoir aucune influence sur la concentration en furanocoumarines des feuilles de berce du Caucase.

Tableau 18. Résumé des modèles de régression multiple développés avec les variables environnementales pour les concentrations en furanocoumarines

	Psoralène	Xanthotoxine	Angélicine	Isopimpinélline	Bergaptène	Concentration totale
R² modèle	0,26	0,32	0,20	0,19	0,33	0,28
Valeur de P du modèle	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
Variables du modèle (valeur de P, coefficient)	Précipitations avril (< 0,0001 ; 2,38)	Précipitations avril (0,002 ; 1,27)	NH ₄ ⁺ (0,0028 ; 9,75)	Précipitations février (< 0,0001 ; 0,69)	Température janvier (< 0,0001 ; -45,17)	Précipitations avril (< 0,0001 ; 6,30)
	Précipitations mai (< 0,0001 ; -3,55)	Précipitations mai (< 0,0001 ; -3,45)	Précipitations avril (0,0081 ; 1,56)	Précipitations mai (0,0072 ; -0,37)	Température mars (< 0,0001 ; 56,06)	Précipitations mai (< 0,0001 ; -10,83)
	Température juin (0,0960 ; -39,31)		Précipitations mai (0,0010 ; -2,78)	Précipitations juin (0,0437 ; 0,12)	Précipitations mars (< 0,0001 ; -2,45)	Température juin (0,0729 ; -116,45)
					Température avril (< 0,0001 ; 24,04)	
					Précipitations avril (< 0,0001 ; 1,63)	
					Température mai (< 0,0001 ; -57,86)	
					Précipitations mai (< 0,0001 ; -2,71)	

Tableau 19. Influence des variables environnementales sur les concentrations en furanocoumarines

	Psoralène	Xanthotoxine	Angélicine	Isopimpinélline	Bergaptène	Concentration totale
Température janvier					-	
Précipitations février				+		
Température mars					+	
Précipitations mars					-	
Température avril					+	
Précipitations avril	+	+	+		+	+
Température mai					-	
Précipitations mai	-	-	-	-	-	-
Précipitations juin				+		
NH ₄ ⁺			+			

Un signe + indique que la concentration varie dans le même sens que la variable, un signe - que la concentration diminue quand la variable environnementale augmente.

Une fois les modèles de régression multiple développés, les résidus ont été enregistrés et des analyses ANOVA ont été réalisées afin d'étudier s'il restait des variations de concentration en furanocoumarines, une fois la variabilité liée aux conditions environnementales prise en compte. L'homogénéité de la variance des résidus du modèle pour l'isopimpinélline n'étant pas respectée, les analyses n'ont pas été réalisées pour cette molécule. Les ANOVA n'ont pas montré de différence significative selon la région d'origine et la souche génétique pour aucune des concentrations en furanocoumarines (tableau 20 et 21). La variation régionale de teneur en furanocoumarines est donc expliquée principalement par les différences de conditions environnementales entre les régions et l'effet de la diversité génétique est moindre.

Tableau 20. Résultats des analyses ANOVA réalisées pour les résidus des modèles environnementaux des concentrations en furanocoumarines en fonction de la région d'origine

	Degré de liberté	Valeur de F	Valeur de P
Résidus Psoralène	10	0,3986	0,9449
Résidus Xanthotoxine	10	1,7983	0,0686
Résidus Angélicine	10	0,8854	0,5492
Résidus Bergaptène	10	0,7541	0,6723
Résidus Concentration totale	10	0,9059	0,5304

Tableau 21. Résultats des analyses ANOVA réalisées pour les résidus des modèles environnementaux des concentrations en furanocoumarines en fonction de la souche génétique

	Degré de liberté	Valeur de F	Valeur de P
Résidus Psoralène	3	0,1090	0,9547
Résidus Xanthotoxine	3	1,1718	0,3234
Résidus Angélicine	3	0,4674	0,7075
Résidus Bergaptène	3	0,2316	0,8742
Résidus Concentration totale	3	0,2334	0,8429

Des analyses par ANOVA ont également été réalisées sur des modèles mixtes avec la souche génétique en effet fixe et les variables environnementales des modèles développées précédemment pour chaque furanocoumarine en covariables. Les interactions n'ont pas pu être testées par manque de degré de liberté dû à un échantillonnage pas assez conséquent. La souche génétique n'était significative pour aucune des concentrations en furanocoumarines, ce qui concorde bien avec les résultats des analyses précédentes sur les résidus des modèles environnementaux.

Variations régionales des proportions des furanocoumarines

Les mêmes analyses statistiques que celles réalisées pour les concentrations ont été effectuées pour le pourcentage de chaque furanocoumarine afin d'étudier d'éventuelles variations au niveau des proportions de chaque composé. Des analyses par ANOVA et des tests de Student ont montré là aussi une différence significative dans les proportions des furanocoumarines selon la région d'origine et la souche génétique des échantillons, à part pour le bergaptène (tableaux 22, 23, 24 et 25).

Tableau 22. Résultats des analyses ANOVA réalisées pour les pourcentages de chaque furanocoumarine en fonction de la région d'origine

	Degré de liberté	Valeur de F	Valeur de P
%Psoralène	10	2,0110	0,0383
%Xanthotoxine	10	3,5622	0,0004
%Angélicine	10	9,5921	< 0,0001
%Isopimpinélline	10	2,0299	0,0364
%Bergaptène	10	1,6913	0,0910

Tableau 23. Résultats du test de Student pour les pourcentages de chaque furanocoumarine selon la région d'origine

Régions	%Psoralène moyen	%Xanthotoxine moyen	%Angélicine moyen	%Isopimpinélline moyen
Bas-Saint-Laurent	25,07 ^{ab}	30,88 ^a	37,97 ^{de}	0,97 ^{bc}
Capitale-Nationale	27,99 ^a	23,71 ^{ab}	40,09 ^{de}	2,80 ^{ab}
Centre-du-Québec	22,01 ^{ab}	27,63 ^{ab}	41,91 ^{cde}	3,08 ^{abc}
Chaudière-Appalaches	28,22 ^a	21,63 ^b	38,20 ^e	4,56 ^a
Estrie	20,43 ^b	12,56 ^c	56,28 ^a	1,56 ^{bc}
Lanaudière	21,25 ^{ab}	20,13 ^b	55,11 ^a	0,15 ^c
Laurentides	19,47 ^b	21,90 ^b	51,33 ^{ab}	1,99 ^{bc}
Mauricie	20,31 ^b	26,01 ^{ab}	45,42 ^{bcd}	3,79 ^{ab}
Montérégie	25,60 ^{ab}	14,14 ^c	53,68 ^a	1,63 ^{bc}
Outaouais	23,48 ^{ab}	17,87 ^{bc}	51,90 ^{ab}	2,09 ^{abc}
Saguenay-Lac-Saint-Jean	23,47 ^{ab}	22,54 ^{ab}	51,03 ^{abc}	0,12 ^c

Les valeurs indiquées par la même lettre au sein d'une colonne ne sont pas significativement différentes ($\alpha = 0,05$).

Tableau 24. Résultats des analyses ANOVA réalisées pour les pourcentages de chaque furanocoumarine en fonction de la souche génétique

	Degré de liberté	Valeur de F	Valeur de P
%Psoralène	3	3,9657	0,0098
%Xanthotoxine	3	6,7032	0,0003
%Angélicine	3	21,0556	< 0,0001
%Isopimpinélline	3	2,6738	0,0504
%Bergaptène	3	0,0606	0,9804

Tableau 25. Résultats du test de Student pour les pourcentages de chaque furanocoumarine selon la souche génétique

Souches génétiques	%Psoralène moyen	%Xanthotoxine moyen	%Angélicine moyen
Bleue	25,07 ^{ab}	30,88 ^a	37,97 ^b
Rouge	22,20 ^b	17,36 ^c	53,29 ^a
Verte	26,80 ^a	23,24 ^b	41,30 ^b
Mixte	19,79 ^b	22,44 ^b	50,41 ^a

Les valeurs indiquées par la même lettre au sein d'une colonne ne sont pas significativement différentes ($\alpha = 0,05$).

Il existe donc, en plus des variations en concentration totale en furanocoumarines, des variations dans la proportion de ces molécules selon la région d'origine et la souche génétique. De plus, il semble y avoir un lien entre la concentration totale en furanocoumarines et le pourcentage d'angélicine. En effet, les régions où la concentration totale est plus basse (Estrie et Lanaudière par exemple), la proportion d'angélicine est plus élevée. Tandis que pour les régions avec une concentration totale plus élevée (tel que Chaudière-Appalaches et Capitale-Nationale), le pourcentage d'angélicine est plus faible.

Afin d'approfondir ce point, des régressions simples ont été développées afin de rechercher des relations entre la concentration totale en furanocoumarines et le pourcentage de chaque composé (figure 8). Les résultats semblent bien montrer une relation significative entre la concentration totale en furanocoumarines et le pourcentage de psoralène et celui d'angélicine. Le pourcentage de psoralène augmente avec la concentration totale, tandis que celui d'angélicine diminue. Les modèles de régressions ne sont pas significatifs pour les autres molécules. On observe donc que les populations avec une concentration totale en furanocoumarines basse sont celles avec un plus haut pourcentage d'angélicine. L'activité photosensibilisante de l'angélicine étant plus faible que celle du psoralène et de la xanthotoxine, les autres furanocoumarines majeures présentes dans les échantillons de feuilles (Musajo et Rodighiero 1962), on peut imaginer que la toxicité de telles populations s'en trouve donc encore plus réduite en théorie.

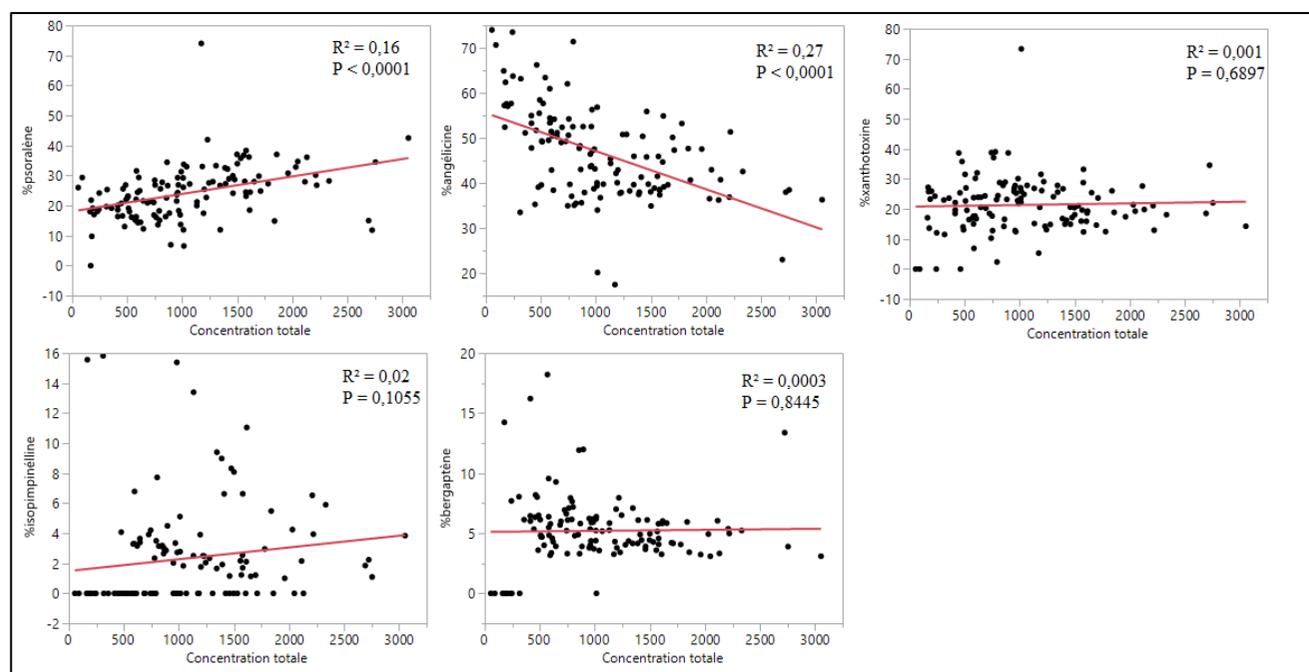


Figure 8. Représentations graphiques des modèles de régression simple entre la concentration totale en furanocoumarines et le pourcentage de chaque composé.

Modèles environnementaux pour les proportions des furanocoumarines

Le développement de modèles en régression multiple pour les pourcentages de chaque molécule, en suivant la même méthode que celle pour les concentrations, a permis de mettre en évidence l'effet de l'environnement sur la proportion de chaque furanocoumarine dans les échantillons (tableaux 26 et 27). À la vue de ces résultats, il semble que les précipitations du mois de mai fassent augmenter le pourcentage d'angélicine au détriment des autres furanocoumarines. On avait vu précédemment que les précipitations de mai avaient un effet négatif sur la concentration totale en furanocoumarines. Les précipitations de mai influenceraient donc la teneur en furanocoumarines, mais aussi la proportion de chaque molécule. L'influence de l'environnement sur la composition chimique en métabolites secondaires est bien connue, notamment dans le cas des plantes aromatiques utilisées pour la production d'huiles essentielles. Une même espèce peut avoir une composition différente en molécules selon les conditions environnementales et sa provenance géographique (Tommasi *et al.* 2007). On parle alors de chémotypes. Dans le cas des furanocoumarines, une étude sur les racines de panais sauvage avait montré l'effet significatif de traitements nutritifs (azote, phosphore et potassium) et de l'ensoleillement sur les pourcentages de plusieurs furanocoumarines (Zangerl et Berenbaum 1987). Le pourcentage de xanthotoxine, par exemple, diminuait lorsque l'apport en nutriments augmentait.

Tableau 26. Résumé des modèles de régression multiple développés avec les variables environnementales pour les pourcentages de chaque furanocoumarine

	%Psoralène	%Xanthotoxine	%Angélicine	%Isopimpinélline	%Bergaptène
R² modèle	0,14	0,11	0,41	0,29	0,34
Valeur de P du modèle	0,0003	0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
Variables du modèle (valeur de P, coefficient)	Précipitations annuelles (0,0017 ; 0,02)	Précipitations mai (0,0001 ; -0,13)	Précipitations annuelles (< 0,0001 ; -0,04)	NO ₃ ⁻ (0,0075 ; -0,10)	Degré jour (0,0001 ; 0,01)
	Température février (0,0516 ; -0,87)		Précipitations mai (< 0,0001 ; 0,25)	Température janvier (0,0002 ; 0,68)	Précipitations annuelles (0,0042 ; 0,02)
	Précipitations mai (0,0190 ; -0,08)			Précipitations janvier (< 0,0001 ; 0,10)	Température janvier (< 0,0001 ; -1,50)
				Précipitations avril (< 0,0001 ; -0,05)	Température mars (0,0002 ; 1,46)
				Température mai (0,0003 ; -1,05)	Précipitations mars (< 0,0001 ; -0,11)
				Précipitations mai (0,0018 ; -0,04)	Température avril (< 0,0001 ; 0,89)
				Précipitations juin (0,0020 ; 0,02)	Température mai (< 0,0001 ; -3,14)
					Précipitations mai (0,0076 ; -0,06)

Tableau 27. Influence des variables environnementales sur les pourcentages en furanocoumarines

	%Psoralène	%Xanthotoxine	%Angélicine	%Isopimpinélline	%Bergaptène
Température janvier				+	-
Précipitations janvier				+	
Température mars					+
Précipitations mars					-
Température avril					+
Précipitations avril				-	
Température mai				-	-
Précipitations mai	-	-	+	-	-
Précipitations juin				+	
NO₃⁻				-	
Degré jour > 0°C					+
Précipitations annuelles	+		-		+

Un signe + indique que le pourcentage varie dans le même sens que la variable, un signe - que le pourcentage diminue quand la variable environnementale augmente.

Des analyses par ANOVA des résidus des modèles environnementaux ont mis en évidence une différence significative pour les pourcentages de xanthotoxine et d'angélicine selon la région (tableau 28 et 29). Il reste donc des variations non expliquées par les variables environnementales pour les pourcentages de ces deux molécules. L'analyse par ANOVA de ces mêmes résidus a révélé une différence significative pour le pourcentage de xanthotoxine selon la souche génétique (tableau 30 et 31). La génétique expliquerait ainsi 8 % des variations résiduelles du pourcentage en xanthotoxine ($R^2 = 0,08$). Les variations régionales non expliquées par l'environnement seraient donc explicables en partie par la variabilité génétique présente dans les populations de berce du Caucase au Québec. L'homogénéité de la variance des résidus du modèle pour le pourcentage d'isopimpinéline n'étant pas respectée, les analyses n'ont pas été réalisées pour cette molécule. Les analyses ANOVA par des modèles mixtes (souche génétique et variables environnementales) ont également montré une différence significative pour les pourcentages de xanthotoxine et d'angélicine selon de la souche génétique ($P = 0,0130$ et $0,0376$ respectivement).

Tableau 28. Résultats des analyses ANOVA réalisées pour les résidus des modèles environnementaux des pourcentages en furanocoumarines en fonction de la région d'origine

	Degré de liberté	Valeur de F	Valeur de P
Résidus %Psoralène	10	0,5692	0,8361
Résidus %Xanthotoxine	10	2,3366	0,0152
Résidus %Angélicine	10	2,3723	0,0137
Résidus %Bergaptène	10	0,9576	0,4842

Tableau 29. Résultats du test de Student pour les résidus des modèles environnementaux des pourcentages en xanthotoxine et en angélicine selon la région d'origine

Régions	Moyennes des résidus du %xanthotoxine	Moyennes des résidus du %angélicine
Bas-Saint-Laurent	8,47 ^a	-2,09 ^{bcd}
Centre-du-Québec	4,84 ^{abcd}	0,47 ^{abcd}
Lanaudière	3,70 ^{abc}	-2,31 ^{cd}
Laurentides	2,80 ^{ab}	-2,34 ^d
Mauricie	2,77 ^{abcde}	1,01 ^{abcd}
Capitale-Nationale	0,10 ^{bcde}	-1,16 ^{cd}
Chaudière-Appalaches	-1,22 ^{bcde}	-3,65 ^d
Saguenay-Lac-Saint-Jean	-3,00 ^{bcde}	6,55 ^a
Montérégie	-4,34 ^{de}	5,11 ^{ab}
Outaouais	-4,98 ^{cde}	1,69 ^{abcd}
Estrie	-5,13 ^e	3,86 ^{abc}

Les valeurs indiquées par la même lettre au sein d'une colonne ne sont pas significativement différentes ($\alpha = 0,05$).

Tableau 30. Résultats des analyses ANOVA réalisées pour les résidus des modèles environnementaux des pourcentages en furanocoumarines en fonction de la souche génétique

	Degré de liberté	Valeur de F	Valeur de P
Résidus %Psoralène	3	0,1960	0,8990
Résidus %Xanthotoxine	3	3,7694	0,0125
Résidus %Angélicine	3	2,5146	0,0616
Résidus %Bergaptène	3	0,9080	0,4394

Tableau 31. Résultats du test de Student pour les résidus des modèles environnementaux des pourcentages en xanthotoxine selon la souche génétique

Souches génétiques	Moyennes des résidus du %xanthotoxine
Bleue	8,48 ^a
Mixte	3,62 ^{ab}
Verte	-0,50 ^{bc}
Rouge	-1,75 ^c

Les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes ($\alpha = 0,05$).

Bilan

Des variations régionales de concentration et de composition en furanocoumarines ont été observées dans les feuilles de berce du Caucase récoltées au Québec. Ces variations peuvent être expliquées par l'environnement comme le suggèrent les modèles développés. Dans le cas de la concentration totale en furanocoumarines, aucune variation régionale résiduelle ne persiste après prise en compte des conditions environnementales. Que ce soit pour les concentrations ou les pourcentages en furanocoumarines, l'environnement a un effet dominant par rapport à la variation liée à la diversité génétique. Uniquement dans le cas du pourcentage en xanthotoxine, la variation résiduelle des modèles environnementaux a pu être expliquée en partie par la variabilité génétique. Il semble donc qu'il existe un lien entre les variables environnementales et la diversité génétique. Afin de vérifier ce phénomène, les variables environnementales ont été analysées en fonction de la souche génétique par ANOVA. Ceci a montré l'existence de différences significatives selon les groupes pour les variables environnementales, à l'exception de l'ammonium et de l'azote total (tableau 32). Chaque souche génétique semblerait donc adaptée à un environnement donné, ce qui pourrait expliquer pourquoi l'effet de la génétique était non significatif en analysant les résidus des modèles de régression développés avec les variables environnementales et aussi dans les modèles mixtes d'ANOVA.

Les analyses ont de plus démontré que les populations de berce avec la plus haute teneur en furanocoumarines se retrouveraient dans les régions de la Capitale-Nationale, le Centre-du-Québec et les Chaudière-Appalaches. Cependant, cette étude a été réalisée sur des plantes récoltées au cours d'un seul mois au sein d'une même année. Avec uniquement ces données, il est donc impossible de conclure avec certitude que chaque année les populations les plus riches en furanocoumarines se retrouveront dans ces régions. L'étude devrait être répétée plusieurs années afin de vérifier cette tendance, d'autant plus qu'il semblerait que les conditions environnementales influencent la concentration en furanocoumarines.

Tableau 32. Résultats des analyses ANOVA réalisées pour les variables environnementales en fonction de la souche génétique

	Degré de liberté	Valeur de F	Valeur de P
Ammonium	3	1,6218	0,1881
Nitrate	3	4,2490	0,0069
Azote total	3	1,8572	0,1407
Degré jour	3	56,1335	< 0,0001
Précipitations annuelles	3	5,4889	0,0015
Température janvier	3	6,6727	0,0003
Précipitations janvier	3	6,9397	0,0002
Température février	3	22,6926	< 0,0001
Précipitations février	3	16,7994	< 0,0001
Température mars	3	75,7257	< 0,0001
Précipitations mars	3	10,0254	< 0,0001
Température avril	3	10,2683	< 0,0001
Précipitations avril	3	4,0080	0,0093
Température mai	3	50,3769	< 0,0001
Précipitations mai	3	45,9202	< 0,0001
Température juin	3	9,0688	< 0,0001
Précipitations juin	3	4,1865	0,0075

CHAPITRE 5

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Au cours de ce projet de maîtrise, l'étude des variations régionales de concentration en furanocoumarines des populations de berce du Caucase au Québec a pu être menée à bien. L'existence d'une différence significative de concentration totale en furanocoumarines selon les régions a été mise en évidence. La concentration moyenne dans les feuilles varie de 577 à 1534 équivalent μg de xanthotoxine/g frais, pour respectivement la région de Lanaudière et celle des Chaudière-Appalaches. De plus, les concentrations en furanocoumarines sont supérieures aux doses minimales phototoxiques déterminées dans une étude toxicologique sur l'homme (Pathak et Fitzpatrick 1959). Pour la xanthotoxine et le psoralène par exemple, des érythèmes ont été observés à partir de 25 et 10 $\mu\text{g}/\text{po}^2$. Il serait difficile d'estimer la quantité de furanocoumarines présente réellement sur la peau après un contact avec la berce du Caucase, mais les concentrations en xanthotoxine et psoralène dans les feuilles (224,57 et 273,88 équivalent μg de xanthotoxine/g) et les tiges (75,35, et 31,95) sont déjà une bonne indication de la toxicité de cette plante.

Les analyses statistiques ont démontré que pour l'année 2014, les populations de berce avec la plus haute teneur en furanocoumarines se retrouveraient dans les régions de la Capitale-Nationale, du Centre-du-Québec et des Chaudière-Appalaches. C'est donc, a priori, principalement dans ces régions que la berce du Caucase est la plus dangereuse pour l'homme. Cependant, la concentration en furanocoumarines dans les régions plus faiblement concentrées est tout de même supérieure à la dose minimale phototoxique.

De plus, les analyses statistiques ont montré que les variations régionales de concentrations sont principalement liées aux différences de conditions environnementales entre les régions. Les précipitations du mois d'avril feraient augmenter la concentration totale en furanocoumarines, tandis que les précipitations de mai la feraient diminuer. Ces résultats suggèrent que l'effet positif des précipitations d'avril pourrait être causé par le besoin de la plante à se réhydrater pour reprendre sa croissance végétative après la déshydratation hivernale et que l'effet des précipitations de mai reflèterait plutôt le lien avec l'ensoleillement et son influence sur la biosynthèse des furanocoumarines.

Des variations régionales ont également été observées pour les pourcentages des furanocoumarines présentes dans les échantillons. De plus amples analyses ont permis de montrer l'existence d'un lien entre les pourcentages de psoralène et d'angélicine et la concentration totale en furanocoumarines. Le pourcentage de psoralène augmente avec la concentration totale, mais celui d'angélicine diminue. Les populations avec la plus faible teneur en furanocoumarines sembleraient être aussi celles avec le plus haut pourcentage d'angélicine. Cette dernière étant moins phototoxique que les autres molécules, la toxicité de telles populations, bien que toujours dangereuse, pourrait être plus faible.

Les conclusions de ce projet se basent sur l'analyse d'échantillons obtenus pour une seule année et récoltés au cours d'un seul mois. Cette étude statistique gagnerait à être répétée sur d'autres années afin de confirmer la répartition des populations de berce du Caucase les plus riches en furanocoumarines ainsi que l'influence des variables environnementales sur la concentration de ces molécules. Il pourrait également être intéressant d'estimer par des tests *in vitro* le potentiel phototoxique des extraits de berce obtenus durant ces travaux. Ceci pourrait permettre d'étudier ensuite, par des analyses statistiques similaires à celles réalisées dans ce projet, le lien entre la concentration et composition en furanocoumarines et la toxicité des extraits.

Outre l'aspect écologique, ce projet a également été l'occasion de développer une méthode analytique robuste pour l'analyse des furanocoumarines présentes dans des échantillons de berce du Caucase, en se basant sur les critères réglementaires de la FDA et de l'ICH. Cette méthode serait transposable pour étudier d'autres plantes contenant des furanocoumarines. Cela pourrait ainsi servir à comparer la teneur et le contenu en ces molécules de plusieurs espèces, afin d'estimer le potentiel phototoxique et évaluer le danger potentiel que peuvent représenter de telles plantes, par exemple, la berce laineuse et le panais sauvage qui sont présentes au Québec.

En conclusion, ce projet a permis le développement d'une méthode d'analyse du contenu en furanocoumarines d'échantillons de plantes, mais a porté principalement sur l'étude écologique des variations régionales de la teneur et de la composition de la berce du Caucase, étude qui n'avait jamais été réalisée auparavant pour cette espèce.

RÉFÉRENCES

Afek U, Carmeli S et Aharoni N. 1995. Columbianetin, a phytoalexin associated with celery resistance to pathogens during storage. *Phytochemistry*, 39 : 1347–1350.

Anderson TF et Voorhees JJ. 1980. Psoralen Photochemotherapy of Cutaneous Disorders. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 20 : 235–257.

Ashwood-Smith MJ, Poulton GA, Barker M et Mildenberger M. 1980. 5-Methoxypsoralen, an ingredient in several suntan preparations, has lethal, mutagenic and clastogenic properties. *Nature*, 285 : 407–409.

Ban HS, Lim SS, Suzuki K, Jung SH, Lee S, Lee YS, Shin KH et Ohuchi K. 2003. Inhibitory effects of furanocoumarins isolated from the roots of *Angelica dahurica* on prostaglandin E2 production. *Planta Medica*, 69 : 408–412.

Berenbaum M. 1981. Patterns of furanocoumarin distribution and insect herbivory in the *Umbelliferae*: plant chemistry and community structure. *Ecology*, 62 : 1254–1266.

Berenbaum MR et Zangerl AR. 1993. Furanocoumarin Metabolism in Papilio-Polyxenes - Biochemistry, Genetic-Variability, and Ecological Significance. *Oecologia*, 95 : 370–375.

Bordin F, Carlassare F, Busulini L et Baccichetti F. 1993. Furocoumarin sensitization induces DNA-protein cross-links. *Photochemistry and Photobiology*, 58 : 133–136.

Bourgaud F, Brunel MC, Guckert A et Forlot P. 1992. Effect of nitrogen nutrition and environmental conditions on the production of pharmaceutically useful metabolites by *Psoralea cinerea*. *European Journal of Agronomy*, 1 : 37–43.

Bourgaud F, Hehn A, Larbat R, Doerper S, Gontier E, Kellner S et Matern U. 2006. Biosynthesis of coumarins in plants: A major pathway still to be unravelled for cytochrome P450 enzymes. *Phytochemistry Reviews*, 5 : 293–308.

Burger PM et Simons JWIM. 1979. Mutagenicity of 8-methoxypsoralen and long-wave ultraviolet irradiation in diploid human skin fibroblasts an imported risk estimate in photochemotherapy. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 63 : 371–380.

Caboni P, Saba M, Oplos C, Aissani N, Maxia A, Menkissoglu-Spiroudi U, Casu L et Ntalli N. 2015. Nematicidal activity of furanocoumarins from parsley against *Meloidogyne* spp. *Pest Management Science*, 71 : 1099–1105.

Chan JCY, Sullivan PJ, O'Sullivan MJ et Eadie PA. 2011. Full thickness burn caused by exposure to giant hogweed: Delayed presentation, histological features and surgical management. *Journal of Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery*, 64 : 128–130.

Diane M, Dongfack J, Lallemand M, Kuete V, Mbazoa CD, Wansi J, Trinh-van-dufat H, Michel S et Wandji J. 2012. A New Sphingolipid and Furanocoumarins with Antimicrobial Activity from *Ficus exasperata*. 60 : 1072–1075.

Diawara MM, Trumble JT, White KK, Carson WG et Martinez LA. 1993. Toxicity of linear furanocoumarins to *Spodoptera exigua*: Evidence for antagonistic interactions. *Journal of Chemical Ecology*, 19 : 2473–2484.

Directeur général des élections du Québec. 2017. Élections Québec. Consulté le 27 février 2017, <http://www.electionsquebec.qc.ca>

Diwan R et Malpathak N. 2009. Furanocoumarins: Novel topoisomerase I inhibitors from *Ruta graveolens* L. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 17 : 7052–7055.

Dugrand A, Olry A, Duval T, Hehn A, Froelicher Y et Bourgaud F. 2013. Coumarin and furanocoumarin quantitation in citrus peel via ultraperformance liquid chromatography coupled with mass spectrometry (UPLC-MS). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61 : 10677–10684.

Emerole G, Thabrew MI, Anosa V et Okorie DA. 1981. Structure-activity relationship in the toxicity of some naturally occurring coumarins-chalepin, imperatorin and oxypeucedanine. *Toxicology*, 20 : 71–80.

Food and Drug Administration. 2001. Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation. US Department of Health and Human Services, 4–10.

Frederiksen S et Hearst JE. 1979. Binding of 4'-aminomethyl 4,5',8-trimethyl psoralen to DNA, RNA and protein in HeLa cells and *Drosophila* cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Nucleic Acids and Protein Synthesis*, 563 : 343–355.

Frederiksen S, Nielsen PE et Høyer PE. 1989. Lysosomes: A possible target for psoralen photodamage. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 3 : 437–447.

Gouvernement du Canada. 2016. Données historiques. Consulté le 19 septembre 2016, http://climat.meteo.gc.ca/historical_data/search_historic_data_f.html

Granger M et Hélène C. 1983. Photoaddition of 8-methoxypsoralen to *E. coli* DNA polymerase I. Role of psoralen photoadducts in the photosensitized alterations of Pol I enzymatic activities. *Photochemistry and Photobiology*, 38 : 563–568.

Hadaček F, Müller C, Werner A, Greger H et Proksch P. 1994. Analysis, isolation and insecticidal activity of linear furanocoumarins and other coumarin derivatives from *Peucedanum* (*Apiaceae: Apioidae*). *Journal of Chemical Ecology*, 20 : 2035–2054.

Hattendorf J, Hansen SO et Nentwig W. 2007. Defence Systems of *Heracleum mantegazzianum*. Dans : Pyšek P, *et al.* éds. Ecology & Management of Giant Hogweed (*Heracleum mantegazzianum*). CAB Intern, Wallingford, p. 209–225.

Hearst JE. 1989. Photochemistry of the psoralens. Chemical research in toxicology, 2 : 69–75.

ICH Guidelines. 2005. Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2 (R1).

Consulté le 4 janvier 2016, <http://www.ich.org/products/guidelines/quality/quality-single/article/validation-of-analytical-procedures-text-and-methodology.html>

Jahodová Š, Fröberg L, Pyšek P, Geltman D, Sviatlana T et Karp A. 2007. Taxonomy, Identification, Genetic Relationships and Distribution of Large *Heracleum* Species in Europe. Dans : Pyšek P, *et al.* éds. Ecology & Management of Giant Hogweed (*Heracleum mantegazzianum*). CAB Intern, Wallingford, p. 1–19.

Joshi PC et Pathak MA. 1983. Production of singlet oxygen and superoxide radicals by psoralens and their biological significance. Biochemical and Biophysical Research Communications, 112 : 638–646.

Keeney DR et Nelson DW. 1982. Nitrogen-Inorganic forms. Dans : Page AL, *et al.* éds. Methods of soil Analysis- Part 2 Chemical and microbiological properties (2e ed). ASA-SSSA, Madison, WI, p. 642–698.

Knudsen EA. 1983. Seasonal variations in the content of phototoxic compounds in giant hogweed. Contact Dermatitis, 9 : 281–284.

Koenigs LL et Trager WF. 1998. Mechanism-based inactivation of P450 2A6 by furanocoumarins. Biochemistry, 37 : 10047–10061.

Lachat Instruments. 2008. Lachat Applications in Standard Methods 21st Edition. Milwaukee, WI, 70 p.

Lagey K, Duinslaeger L et Vanderkelen A. 1995. Burns induced by plants. Burns, 21 : 542–543.

Laskin JD, Lee E, Laskin DL et Gallo M a. 1986. Psoralens potentiate ultraviolet light-induced inhibition of epidermal growth factor binding. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 83 : 8211–5.

Lavoie C, Lelong B, Blanchette-forget N et Royer H. 2013. La berce du Caucase : à l'aube d'une invasion au Québec ? Le Naturaliste Canadien, 137 : 5–12.

Lee K et Berenbaum MR. 1990. Defense of parsnip webworm against phototoxic furanocoumarins: role of antioxidant enzymes. *Journal of Chemical Ecology*, 16 : 2451–2460.

Lei TC, Virador V, Yasumoto K, Vieira WD, Toyofuku K et Hearing VJ. 2002. Stimulation of Melanoblast Pigmentation by 8-Methoxypsoralen: The Involvement of Microphthalmia-Associated Transcription Factor, the Protein Kinase A Signal Pathway, and Proteasome-Mediated Degradation. *Regulation*, 1341–1349.

Liu H, Li F, Li CJ, Yang JZ, Li L, Chen NH et Zhang DM. 2014. Bioactive furanocoumarins from stems of *Clausena lansium*. *Phytochemistry*, 107 : 141–147.

Márquez N, Sancho R, Ballero M, Bremner P, Appendino G, Fiebich BL, Heinrich M et Muñoz E. 2004. Imperatorin Inhibits T-Cell Proliferation by Targeting the Transcription Factor NFAT. *Planta Medica*, 70 : 1016–1021.

Marumoto S, Oda Y et Miyazawa M. 2011. Antigenotoxic activity of naturally occurring furanocoumarins. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 52 : 646–657.

Muramatsu T, Yamashina Y, Tada H, Kobayashi N, Yamaji M, Ohno H, Shirai T, Takahashi A et Ohnishi T. 1993. 8-methoxypsoralen plus UVA induces the 72 kDa heat shock protein in organ-cultured normal human skin. *Photochemistry and Photobiology*, 58 : 809–812.

Musajo L et Rodighiero G. 1962. The skin-photosensitizing furocoumarins. *Experientia*, 18 : 153–161.

Nielsen C, Booy O, Cock M, Eckstein L, Hansen SO, Hattendorf J, Hüls J, Jahodová Š, Krinke L, Moravcová L, Müllerová J, Nentwig W, Otte A, Pergl J, Perglová I, Priekule I et Pyšek P. 2005. The giant hogweed best practice manual: guidelines for the management and control of invasive weeds in Europe. 44 p.

Occhiuto F et Circosta C. 1996. Antianginal and Antiarrhythmic Effects of Bergamottine , a Furocoumarin Isolated from Bergamot Oil. *Phytothera*, 10 : 491–496.

Ode J, Berenbaum R, Zangerl R et Hardy CW. 2004. Host plant, host plant chemistry and the polyembryonic parasitoid *Copidosoma sosares*: indirect effects in a tritrophic interaction. *Oikos*, 104 : 388–400.

Page N a, Wall RE, Darbyshire SJ et Mulligan G a. 2006. The Biology of Invasive Alien Plants in Canada. *Heracleum mantegazzianum* Sommier & Levier. *Canadian Journal of Plant Science*, 86 : 569–589.

Pathak MA et Fitzpatrick TB. 1959. Relationship of Molecular Configuration to the Activity of Furocoumarins Which Increase the Cutaneous Responses Following Long Wave Ultraviolet Radiation. *Journal of Investigative Dermatology*, 32 : 255–262.

- Pathak M a. 1986. Phytophotodermatitis. *Clinics in Dermatology*, 4 : 102–121.
- Perglová I, Pergl J et Pyšek P. 2007. Reproductive Ecology of *Heracleum mantegazzianum*. Dans : Pyšek P, *et al.* éds. *Ecology & Management of Giant Hogweed (Heracleum mantegazzianum)*. Wallingford.
- Peroutka R, Schulzova V, Botek P et Jana Hajslova. 2007. Analysis of furanocoumarins in vegetables (*Apiaceae*) and citrus fruits (*Rutaceae*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87 : 2152–2163.
- Piao XL, Park IH, Baek SH, Kim HY, Park MK et Park JH. 2004. Antioxidative activity of furanocoumarins isolated from *Angelicae dahuricae*. *Journal of Ethnopharmacology*, 93 : 243–246.
- Piette J. 2017. Étude génétique de l'invasion de la berce du Caucase (*Heracleum mantegazzianum*) en Amérique du Nord. Université Laval.
- Pira E, Romano C, Sulotto F, Pavan I et Monaco E. 1989. *Heracleum mantegazzianum* growth phases and furocoumarin content. *Contact Dermatitis*, 21 : 300–303.
- Sancho R, Marquez N, Gomez-Gonzalo M, Calzado MA, Bettoni G, Coiras MT, Alcamí J, Lopez-Cabrera M, Appendino G et Munoz E. 2004. Imperatorin Inhibits HIV-1 Replication through an Sp1-dependent Pathway. *Journal of Biological Chemistry*, 279 : 37349–37359.
- Schmitt IM, Chimenti S et Gasparro FP. 1995. Psoralen-protein photochemistry--a forgotten field. *Journal of photochemistry and photobiology B, Biology*, 27 : 101–107.
- Scott BR, Pathak MA et Mohn GR. 1976. Molecular and genetic basis of furocoumarin reactions. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 39 : 29–74.
- Shalaby NMM, Abd-Alla HI, Aly HF, Albalawy MA, Shaker KH et Bouajila J. 2014. Preliminary in vitro and in vivo evaluation of antidiabetic activity of *Ducrosia anethifolia* boiss. and its linear furanocoumarins. *BioMed Research International*, 2014 .
- Smith ML, Gregory P, Bafi-Yeboa NFA et Arnason JT. 2004. Inhibition of DNA polymerization and antifungal specificity of furanocoumarins present in traditional medicines. *Photochem Photobiol*, 79 : 506–509.
- Sondhia S, Duke SO, Green III S, Gemejyeva NG, Mamonov LK et Cantrell C. 2012. Phytotoxic furanocoumarins from the shoots of *Semenovia transiliensis*. *Natural Product Communications*, 7 .

Storr EF, Beavis FODV et Stringer MD. 2007. *Heracleum mantegazzianum* and *Toxicodendron succedaneum*: plants of human health significance in New Zealand and the National Pest Plant Accord. *The New Zealand Medical Journal*, 120 : 1–13.

Szewczyk K et Bogucka-Kocka A. 2012. Analytical Methods for Isolation, Separation and Identification of Selected Furanocoumarins in Plant Material. Dans : Rao V éd. *Phytochemicals - A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health*. InTech, p. 57–92.

Tareq M, Khan H, Erdogan I, Sezer F et Woz KS. 2011. An in vitro and in silico approach to cholinesterase inhibitory and antioxidant effects of the methanol extract , furanocoumarin fraction, and major coumarins of *Angelica officinalis* L. fruits. *Phytochemistry Letters*, 4 : 462–467.

Thiele J et Otte A. 2007. Impact of *Heracleum mantegazzianum* on Invaded Vegetation and Human Activities. Dans : Pyšek P, *et al.* éd. *Ecology & Management of Giant Hogweed (*Heracleum mantegazzianum*)*. CAB Intern, Wallingford, p. 144–156.

Thiele J, Otte A et Eckstein RL. 2007. Ecological Needs, Habitat Preferences and Plant Communities Invaded by *Heracleum mantegazzianum*. Dans : Pyšek P, *et al.* éd. *Ecology & Management of Giant Hogweed (*Heracleum mantegazzianum*)*. CAB Intern, Wallingford, p. 126–143.

Tiley GED, Dodd FS et Wade PM. 1996. *Heracleum Mantegazzianum* Sommier & Levier. *The Journal of Ecology*, 84 : 297.

Tkachenko KG. 1993. Constituents of Essential Oils from Fruit of Some *Heracleum* L. Species. *Journal of Essential Oil Research*, 5 : 687–689.

Tommasi L, Negro C, Cerfeda A, Nutricati E, Zuccarello V, Bellis L De et Miceli A. 2007. Influence of environmental factors on essential oil variability in *Thymbra capitata* (L.) Cav. growing wild in Southern Puglia (Italy). *Journal of Essential Oil Research*, 19 : 572–580.

United States Department of Agriculture. 2016. *Heracleum mantegazzianum* Sommier & Levier giant hogweed. Consulté le 27 janvier 2017, <http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=HEMA17>

Upadhyay R, Verma A, Pandey ND et Narvi SS. 2012. Antihepatotoxic activity of ferolactone, a new furanocoumarin from *Feronia limonia*. *Medicinal Chemistry Research*, 21 : 2955–2960.

Uto T, Tung NH, Taniyama R, Miyanowaki T, Morinaga O et Shoyama Y. 2015. Anti-inflammatory Activity of Constituents Isolated from Aerial Part of *Angelica acutiloba* Kitagawa. *Phytotherapy Research*, 29 : 1956–1963.

Vialart G, Hehn A, Olry A, Ito K, Krieger C, Larbat R, Paris C, Shimizu BI, Sugimoto Y, Mizutani M et Bourgaud F. 2012. A 2-oxoglutarate-dependent dioxygenase from *Ruta graveolens* L. Exhibits p-coumaroyl CoA 2-hydroxylase activity (C2H): A missing step in the synthesis of umbelliferone in plants. *Plant Journal*, 70 : 460–470.

Vowels BR, Cassin M, Boufal MH, Walsh LJ et Rook AH. 1992. Extracorporeal Photochemotherapy Induces the Production of Tumor Necrosis Factor- α by Monocytes: Implications for the Treatment of Cutaneous T-Cell Lymphoma and Systemic Sclerosis. *Journal of Investigative Dermatology*, 98 : 686–692.

Walasek M, Grzegorzczak A, Malm A et Skalicka-Woźniak K. 2015. Bioactivity-guided isolation of antimicrobial coumarins from *Heracleum mantegazzianum* Sommier & Levier (Apiaceae) fruits by high-performance counter-current chromatography. *Food Chemistry*, 186 : 133–138.

Walker DJ, Martínez-Fernández D, Correal E, Romero-Espinar P et Antonio del Río J. 2012. Accumulation of furanocoumarins by *Bituminaria bituminosa* in relation to plant development and environmental stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 54 : 133–139.

Wang C-C, Lai J-E, Chen L-G, Yen K-Y et Yang L-L. 2000. Inducible nitric oxide synthase inhibitors of Chinese herbs. Part 2: Naturally occurring furanocoumarins. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 8 : 2701–2707.

Wu S-B, Pang F, Wen Y, Zhang H-F, Zhao Z et Hu J-F. 2010. Antiproliferative and Apoptotic Activities of Linear Furocoumarins from *Notopterygium incisum* on Cancer Cell Lines. *Planta Medica*, 76 : 82–85.

Xin Z et Browse J. 2000. Cold comfort farm: The acclimation of plants to freezing temperatures. *Plant, Cell and Environment*, 23 : 893–902.

Zangerl AR et Berenbaum MR. 1987. Furanocoumarins in Wild Parsnip: Effects of Photosynthetically Active Radiation, Ultraviolet Light, and Nutrients. *Ecology*, 68 : 516.

Zangerl AR et Berenbaum MR. 1990. Furanocoumarin induction in wild parsnip: genetics and population variation. *Ecology*, 71 : 1933–1940.

Zhang Y, Cao Y, Zhan Y, Duan H et He L. 2010. Furanocoumarins-imperatorin inhibits myocardial hypertrophy both in vitro and in vivo. *Fitoterapia*, 81 : 1188–1195.

Zhou S, Koh HL, Gao Y, Gong ZY et Lee EJD. 2004. Herbal bioactivation: The good, the bad and the ugly. *Life Sciences*, 74 : 935–968.

ANNEXE 1

**CONCENTRATIONS EN FURANOCOUMARINES DANS
LES ÉCHANTILLONS DE FEUILLES ET RÉSULTATS DES
ANALYSES DE SOL**

Les concentrations en furanocoumarines sont exprimées en équivalent μg xanthotoxine/g de matériel frais

Les concentrations d'ammonium et de nitrate sont exprimées en ppm et l'azote total en pourcentage.

Échantillon	Région	Souche génétique	Psoralène	Xanthotoxine	Angélicine	Isopimpinéline	Bergaptène	Conc. totale	Ammonium	Nitrate	Azote total
137BF	Bas-Saint-Laurent	bleue	92,50	172,28	157,28	0,00	23,83	445,89	5,91	2,17	0,183
137AF	Bas-Saint-Laurent	bleue	290,09	297,17	424,06	0,00	55,25	1066,57	5,91	2,17	0,183
939BF	Bas-Saint-Laurent	bleue	358,43	373,86	532,16	22,27	55,83	1342,55	19,60	2,10	0,273
939AF	Bas-Saint-Laurent	bleue	105,97	303,83	288,57	18,25	61,83	778,45	19,60	2,10	0,273
963AF	Bas-Saint-Laurent	bleue	342,62	258,67	382,04	19,03	37,11	1039,48	19,89	12,79	0,379
963BF	Bas-Saint-Laurent	bleue	294,30	272,57	396,54	0,00	44,17	1007,58	19,89	12,79	0,379
51AF	Capitale-Nationale	verte	62,15	346,11	339,26	40,26	107,25	895,02	10,29	7,58	0,242
51BF	Capitale-Nationale	verte	322,13	941,73	1034,64	60,98	364,42	2723,90	10,29	7,58	0,242
426AF	Capitale-Nationale	verte	341,59	262,24	344,35	0,00	64,63	1012,80	16,40	16,20	0,496
426BF	Capitale-Nationale	verte	462,52	420,14	654,55	18,76	96,69	1652,65	16,40	16,20	0,496
130AF	Capitale-Nationale	verte	390,12	242,45	498,04	0,00	50,92	1181,53	8,65	25,59	0,142
130BF	Capitale-Nationale	verte	687,86	350,32	755,64	0,00	63,57	1857,39	8,65	25,59	0,142
173BF	Capitale-Nationale	verte	710,64	394,62	880,04	0,00	63,28	2048,59	7,90	4,27	0,121
173AF	Capitale-Nationale	verte	379,96	372,54	529,10	26,75	84,94	1393,29	7,90	4,27	0,121
335AF	Capitale-Nationale	verte	309,70	216,28	427,22	0,00	36,71	989,91	16,40	7,45	0,150
335BF	Capitale-Nationale	verte	580,97	255,20	717,35	0,00	52,26	1605,78	16,40	7,45	0,150
335CF	Capitale-Nationale	verte	208,22	376,29	478,08	46,61	83,61	1192,80	16,40	7,45	0,150
340AF	Capitale-Nationale	verte	547,41	322,71	595,13	0,00	65,47	1530,72	14,09	10,79	0,225
340CF	Capitale-Nationale	verte	1298,44	435,16	1108,47	117,36	94,40	3053,84	14,09	10,79	0,225
346BF	Capitale-Nationale	verte	205,14	195,86	281,25	61,91	57,65	801,81	16,57	6,00	0,786
346AF	Capitale-Nationale	verte	386,12	453,73	605,46	40,12	91,37	1576,80	16,57	6,00	0,786
371BF	Capitale-Nationale	verte	436,55	300,78	668,21	0,00	53,59	1459,13	22,29	17,09	0,121
371AF	Capitale-Nationale	verte	226,15	303,73	513,42	28,37	59,51	1131,18	22,29	17,09	0,121
374AF	Capitale-Nationale	verte	296,60	142,79	370,60	22,81	28,41	861,22	24,00	1,61	0,280
374BF	Capitale-Nationale	verte	451,98	233,37	520,48	124,66	57,73	1388,21	24,00	1,61	0,280
388AF	Capitale-Nationale	verte	515,60	174,99	465,91	30,51	41,97	1228,98	12,00	1,33	0,123
388BF	Capitale-Nationale	verte	263,29	237,17	404,29	51,59	52,74	1009,08	12,00	1,33	0,123
903bf	Capitale-Nationale	verte	122,55	282,97	302,83	0,00	54,09	762,44			
903af	Capitale-Nationale	verte	165,97	223,49	379,87	150,89	60,62	980,84			

Échantillon	Région	Souche génétique	Psoralène	Xanthotoxine	Angélicine	Isopimpinéline	Bergaptène	Conc. totale	Ammonium	Nitrate	Azote total
904BF	Capitale-Nationale	verte	233,07	266,34	420,03	0,00	38,56	958,00	26,29	25,99	0,511
904AF	Capitale-Nationale	verte	425,14	404,85	809,31	0,00	71,31	1710,61	26,29	25,99	0,511
M1BF	Capitale-Nationale	verte	667,25	435,20	741,85	86,26	100,21	2030,77	15,89	1,79	0,171
M1AF	Capitale-Nationale	verte	666,37	466,26	815,46	144,43	118,87	2211,40	15,89	1,79	0,171
8BF	Centre-du-Québec	rouge	152,87	196,22	235,30	0,00	28,09	612,48	14,89	10,69	0,199
8AF	Centre-du-Québec	rouge	365,24	524,43	590,30	26,86	72,24	1579,07	14,89	10,69	0,199
197af	Centre-du-Québec	rouge	439,42	307,95	719,54	19,22	80,82	1566,95	13,29	8,70	0,206
197bf	Centre-du-Québec	rouge	160,49	344,43	617,67	126,39	95,41	1344,38	13,29	8,70	0,206
E1BF	Chaudière-Appalaches	verte	454,01	211,05	582,94	93,49	69,13	1410,62	7,98	1,62	0,107
E1AF	Chaudière-Appalaches	verte	422,84	252,81	586,32	122,72	90,16	1474,84	7,98	1,62	0,107
E2AF	Chaudière-Appalaches	verte	605,38	195,26	609,37	104,77	64,48	1579,27	13,50	1,56	0,048
F1AF	Chaudière-Appalaches	verte	509,23	271,23	523,52	121,25	74,40	1499,63	18,29	30,49	0,163
F1BF	Chaudière-Appalaches	verte	658,34	421,94	993,14	137,69	122,06	2333,17	18,29	30,49	0,163
F2AF	Chaudière-Appalaches	verte	240,51	171,71	502,63	151,78	66,29	1132,91	14,09	2,56	0,156
F2BF	Chaudière-Appalaches	verte	395,50	311,95	632,47	178,47	97,33	1615,72	14,09	2,56	0,156
290BF	Chaudière-Appalaches	verte	114,60	158,64	199,22	0,00	30,87	503,33	14,10	4,77	0,116
290AF	Chaudière-Appalaches	verte	572,71	248,40	646,93	33,79	56,05	1557,88	14,10	4,77	0,116
900BF	Chaudière-Appalaches	verte	231,21	251,08	309,13	25,68	50,45	867,55	30,78	4,22	0,308
900CF	Chaudière-Appalaches	verte	590,49	583,93	765,97	45,54	127,76	2113,69	30,78	4,22	0,308
951BF	Chaudière-Appalaches	verte	226,89	235,23	290,18	25,70	39,21	817,21	7,96	1,96	0,061
951AF	Chaudière-Appalaches	verte	434,73	314,63	499,64	0,00	56,92	1305,92	7,96	1,96	0,061
111AF	Chaudière-Appalaches	verte	276,55	354,46	459,43	30,48	96,88	1217,81	19,49	6,94	0,273
111BF	Chaudière-Appalaches	verte	403,64	498,67	619,47	49,90	1120,71	2692,39	19,49	6,94	0,273
B1BF	Chaudière-Appalaches	verte	304,92	313,23	514,75	21,16	45,51	1199,56	12,89	3,56	0,177
B1AF	Chaudière-Appalaches	verte	950,19	607,01	1060,06	30,13	107,19	2754,58	12,89	3,56	0,177
176AF	Estrie	rouge	342,34	162,76	630,96	25,44	80,84	1242,34	19,30	3,17	0,352
176BF	Estrie	rouge	193,11	121,43	412,84	26,26	102,03	855,67	19,30	3,17	0,352
909AF	Estrie	rouge	14,13	0,00	40,20	0,00	0,00	54,33	10,70	3,85	0,144
909BF	Estrie	rouge	87,28	96,40	281,65	0,00	103,65	568,98	10,70	3,85	0,144
923BF	Estrie	rouge	127,94	86,97	309,63	0,00	55,43	579,96	13,70	6,90	0,213

Échantillon	Région	Souche génétique	Psoralène	Xanthotoxine	Angélicine	Isopimpinéline	Bergaptène	Conc. totale	Ammonium	Nitrate	Azote total
912BF	Estrie	rouge	118,08	0,00	305,73	0,00	37,83	461,64	7,98	1,55	0,108
912AF	Estrie	rouge	119,75	18,71	566,36	27,75	60,70	793,28	7,98	1,55	0,108
242AF	Estrie	rouge	139,11	132,38	324,40	23,52	25,27	644,69	8,06	5,66	0,077
242BF	Estrie	rouge	79,25	154,57	330,83	21,94	59,96	646,54	8,06	5,66	0,077
95BF	Lanaudière	rouge	33,70	51,41	113,07	0,00	0,00	198,18	9,30	2,24	0,066
95AF	Lanaudière	rouge	82,85	76,39	227,03	0,00	26,63	412,90	9,30	2,24	0,066
917AF	Lanaudière	rouge	93,82	101,71	299,76	0,00	24,40	519,70	25,50	2,19	0,278
917BF	Lanaudière	rouge	76,93	91,53	220,43	0,00	24,91	413,80	25,50	2,19	0,278
918BF	Lanaudière	rouge	35,70	43,42	107,40	0,00	0,00	186,52	7,58	3,96	0,191
918AF	Lanaudière	rouge	41,50	55,69	132,35	0,00	0,00	229,53	7,58	3,96	0,191
275BF	Lanaudière	rouge	280,41	122,79	503,02	0,00	51,26	957,48	12,30	2,14	0,092
275AF	Lanaudière	rouge	505,62	247,94	850,12	20,62	71,43	1695,74	12,30	2,14	0,092
14BF	Laurentides	mixte	143,17	166,68	335,34	0,00	38,94	684,13	13,19	9,41	0,270
14AF	Laurentides	mixte	204,19	244,93	440,52	0,00	59,12	948,77	13,19	9,41	0,270
40BF	Laurentides	mixte	86,91	88,62	341,63	0,00	21,57	538,74	10,10	13,89	0,193
40AF	Laurentides	mixte	87,29	102,18	353,58	0,00	37,03	580,09	10,10	13,89	0,193
955AF	Laurentides	mixte	138,52	236,25	404,66	27,00	41,51	847,93	24,79	1,74	0,295
955BF	Laurentides	mixte	134,94	296,42	467,98	26,85	58,43	984,62	24,79	1,74	0,295
43BF	Laurentides	mixte	177,58	101,39	305,30	0,00	20,41	604,68	7,39	11,89	0,134
43AF	Laurentides	mixte	213,04	132,23	379,26	0,00	24,77	749,30	7,39	11,89	0,134
92BF	Laurentides	mixte	61,11	71,36	104,06	49,14	24,99	310,67	13,19	11,60	0,271
92AF	Laurentides	mixte	61,92	170,42	186,02	19,41	38,14	475,91	13,19	11,60	0,271
915AF	Laurentides	rouge	143,98	182,42	414,56	0,00	48,59	789,55	14,50	5,34	0,222
915BF	Laurentides	rouge	352,21	217,95	816,17	16,93	57,14	1460,40	14,50	5,34	0,222
952BF	Laurentides	mixte	89,67	148,42	336,29	19,61	26,68	620,67	14,50	4,80	0,111
952AF	Laurentides	mixte	154,48	204,80	463,75	25,22	34,49	882,75	14,50	4,80	0,111
41.1AF	Laurentides	mixte	259,23	119,89	542,70	0,00	42,13	963,96	17,29	1,66	0,249
41.1BF	Laurentides	mixte	155,87	76,06	459,16	0,00	49,07	740,16	17,29	1,66	0,249
916BisAF	Laurentides	mixte	97,77	138,12	251,40	0,00	24,07	511,36	7,71	29,10	0,239
916BisBF	Laurentides	mixte	224,30	255,44	414,40	19,28	35,99	949,42	7,71	29,10	0,239
203BF	Laurentides	rouge	120,57	224,82	574,32	28,07	62,64	1010,42	29,69	1,15	0,293
203AF	Laurentides	rouge	298,02	300,62	884,74	34,01	93,99	1611,37	29,69	1,15	0,293

Échantillon	Région	Souche génétique	Psoralène	Xanthotoxine	Angélicine	Isopimpinéline	Bergaptène	Conc. totale	Ammonium	Nitrate	Azote total
171BF	Mauricie	rouge	75,65	115,93	236,17	0,00	28,97	456,72	9,63	2,35	0,104
171AF	Mauricie	rouge	147,53	140,27	362,26	0,00	41,49	691,55	9,63	2,35	0,104
326AF	Mauricie	verte	125,08	288,02	259,65	31,24	38,76	742,75	9,58	16,19	0,172
327AF	Mauricie	verte	554,64	305,85	569,41	0,00	66,44	1496,35	12,90	5,50	0,130
327BF	Mauricie	verte	769,51	422,47	868,58	0,00	70,84	2131,40	12,90	5,50	0,130
937BF	Mauricie	verte	0,00	45,58	95,85	26,07	0,00	167,50	5,20	1,73	0,093
937AF	Mauricie	verte	85,47	180,22	255,84	40,48	34,51	596,52	5,20	1,73	0,093
108AF	Montérégie	rouge	37,50	44,29	90,07	0,00	0,00	171,86	7,68	7,91	0,163
108BF	Montérégie	rouge	29,16	27,62	104,98	0,00	0,00	161,76	7,68	7,91	0,163
213BF	Montérégie	rouge	867,26	61,97	204,70	0,00	38,18	1172,11	6,54	3,07	0,043
213AF	Montérégie	rouge	202,23	96,32	408,43	0,00	45,98	752,95	6,54	3,07	0,043
921AF	Montérégie	rouge	485,55	221,67	947,23	52,68	72,42	1779,55			
921BF	Montérégie	rouge	594,96	287,03	1140,34	87,54	110,71	2220,59			
55AF	Montérégie	rouge	177,00	244,46	456,19	32,39	57,10	967,14	9,70	6,66	0,305
55BF	Montérégie	rouge	273,28	478,43	875,90	100,79	109,30	1837,70	9,70	6,66	0,305
114AF	Montérégie	rouge	45,39	0,00	177,47	0,00	18,58	241,44	6,27	2,52	0,168
114BF	Montérégie	rouge	17,37	24,21	110,87	0,00	25,30	177,75	6,27	2,52	0,168
194AF	Montérégie	rouge	26,68	0,00	64,26	0,00	0,00	90,94	13,10	4,99	0,225
194BF	Montérégie	rouge	155,01	134,22	357,21	28,41	50,36	725,22	13,10	4,99	0,225
23BF	Outaouais	rouge	144,92	104,74	305,40	19,69	18,86	593,61	4,36	1,13	0,078
23AF	Outaouais	rouge	139,25	132,51	324,73	23,55	25,30	645,33	4,36	1,13	0,078
420AF	Outaouais	rouge	184,23	40,20	311,91	19,20	28,25	583,79	13,60	1,04	0,041
420BF	Outaouais	rouge	357,29	189,60	649,13	29,87	51,66	1277,55	13,60	1,04	0,041
34AF	Outaouais	rouge	68,28	84,20	182,45	0,00	21,89	356,83	6,36	11,20	0,224
34BF	Outaouais	rouge	94,63	138,11	316,30	0,00	31,90	580,93	6,36	11,20	0,224
82AF	Saguenay–Lac-Saint-Jean	verte	59,28	29,59	156,23	0,00	0,00	245,10	8,94	1,42	0,219
82BF	Saguenay–Lac-Saint-Jean	verte	107,53	63,88	285,88	0,00	31,78	489,08	8,94	1,42	0,219
116AF	Saguenay–Lac-Saint-Jean	verte	80,22	36,44	200,05	0,00	0,00	316,72	4,62	1,83	0,085
116BF	Saguenay–Lac-Saint-Jean	verte	66,40	743,40	204,27	0,00	0,00	1014,06	4,62	1,83	0,085
905AF	Saguenay–Lac-Saint-Jean	verte	130,22	68,08	269,04	0,00	17,43	484,77	19,99	10,69	0,237
905BF	Saguenay–Lac-Saint-Jean	verte	117,41	114,92	249,99	0,00	24,50	506,83	19,99	10,69	0,237
950BF	Saguenay–Lac-Saint-Jean	verte	411,91	231,45	717,18	0,00	63,19	1423,73	14,69	9,89	0,137
950AF	Saguenay–Lac-Saint-Jean	verte	603,48	341,60	932,30	19,73	63,43	1960,53	14,69	9,89	0,137

ANNEXE 2

DONNÉES ENVIRONNEMENTALES UTILISÉES POUR LE DÉVELOPPEMENT DES MODÈLES

Latitude et longitude en degrés, température en °C, précipitation en mm.

Les valeurs de degré jour annuel > 0 °C et précipitation annuelle proviennent de la moyenne des données de 1981 à 2010.

Échantillon	Latitude	Longitude	Station météo	Degré jour	Précip annuelle	Temp janvier 2014	Précip janvier 2014	Temp février 2014	Précip février 2014	Temp mars 2014	Précip mars 2014	Temp avril 2014	Précip avril 2014	Temp mai 2014	Précip mai 2014	Temp juin 2014	Précip juin 2014
137BF	47,904	-68,653	st guy/rimouski	2319,30	1270,80	-10,80	27,00	-9,60	76,00	-9,50	55,00	-1,20	75,00	10,00	75,40	17,80	106,1
137AF	47,904	-68,653	st guy/rimouski	2319,30	1270,80	-10,80	27,00	-9,60	76,00	-9,50	55,00	-1,20	75,00	10,00	75,40	17,80	91,0
939BF	47,947	-68,848	st guy/rimouski	2319,30	1270,80	-10,80	27,00	-9,60	76,00	-9,50	55,00	-1,20	75,00	10,00	75,40	17,80	106,1
939AF	47,947	-68,848	st guy/rimouski	2319,30	1270,80	-10,80	27,00	-9,60	76,00	-9,50	55,00	-1,20	75,00	10,00	75,40	17,80	106,1
963AF	48,034	-68,783	st guy/rimouski	2319,30	1270,80	-10,80	27,00	-9,60	76,00	-9,50	55,00	-1,20	75,00	10,00	75,40	17,80	91,0
963BF	48,034	-68,783	st guy/rimouski	2319,30	1270,80	-10,80	27,00	-9,60	76,00	-9,50	55,00	-1,20	75,00	10,00	75,40	17,80	91,0
51AF	46,671	-71,710	donnacona 2/deschambault	2958,2	1168,2	-8,6	50,5	-9	37	-9,2	40,5	1,8	118	12	49,1	18,1	84,6
51BF	46,671	-71,710	donnacona 2/deschambault	2958,2	1168,2	-8,6	50,5	-9	37	-9,2	40,5	1,8	118	12	49,1	18,1	84,6
426AF	46,673	-71,706	donnacona 2/deschambault	2958,2	1168,2	-8,6	50,5	-9	37	-9,2	40,5	1,8	118	12	49,1	18,1	193,6
426BF	46,673	-71,706	donnacona 2/deschambault	2958,2	1168,2	-8,6	50,5	-9	37	-9,2	40,5	1,8	118	12	49,1	18,1	193,6
130AF	46,791	-71,497	jean lesage	2785,7	1189,7	-12,5	93,2	-12,7	55,3	-10,6	75,5	2,2	131,7	11,9	72,3	17,4	112,7
130BF	46,791	-71,497	jean lesage	2785,7	1189,7	-12,5	93,2	-12,7	55,3	-10,6	75,5	2,2	131,7	11,9	72,3	17,4	112,7
173BF	46,784	-71,546	jean lesage	2785,7	1189,7	-12,5	93,2	-12,7	55,3	-10,6	75,5	2,2	131,7	11,9	72,3	17,4	251,8
173AF	46,784	-71,546	jean lesage	2785,7	1189,7	-12,5	93,2	-12,7	55,3	-10,6	75,5	2,2	131,7	11,9	72,3	17,4	251,8
335AF	46,891	-71,304	jean lesage	2785,7	1189,7	-12,5	93,2	-12,7	55,3	-10,6	75,5	2,2	131,7	11,9	72,3	17,4	70,8
335BF	46,891	-71,304	jean lesage	2785,7	1189,7	-12,5	93,2	-12,7	55,3	-10,6	75,5	2,2	131,7	11,9	72,3	17,4	70,8
335CF	46,891	-71,304	jean lesage	2785,7	1189,7	-12,5	93,2	-12,7	55,3	-10,6	75,5	2,2	131,7	11,9	72,3	17,4	95,0
340AF	46,853	-71,513	jean lesage	2785,7	1189,7	-12,5	93,2	-12,7	55,3	-10,6	75,5	2,2	131,7	11,9	72,3	17,4	94,4
340CF	46,853	-71,513	jean lesage	2785,7	1189,7	-12,5	93,2	-12,7	55,3	-10,6	75,5	2,2	131,7	11,9	72,3	17,4	94,4
346BF	46,848	-71,526	jean lesage	2785,7	1189,7	-12,5	93,2	-12,7	55,3	-10,6	75,5	2,2	131,7	11,9	72,3	17,4	94,4
346AF	46,848	-71,526	jean lesage	2785,7	1189,7	-12,5	93,2	-12,7	55,3	-10,6	75,5	2,2	131,7	11,9	72,3	17,4	94,4
371BF	46,887	-71,265	jean lesage	2785,7	1189,7	-12,5	93,2	-12,7	55,3	-10,6	75,5	2,2	131,7	11,9	72,3	17,4	106,1
371AF	46,887	-71,265	jean lesage	2785,7	1189,7	-12,5	93,2	-12,7	55,3	-10,6	75,5	2,2	131,7	11,9	72,3	17,4	106,1
374AF	46,770	-71,413	jean lesage	2785,7	1189,7	-12,5	93,2	-12,7	55,3	-10,6	75,5	2,2	131,7	11,9	72,3	17,4	151,6
374BF	46,770	-71,413	jean lesage	2785,7	1189,7	-12,5	93,2	-12,7	55,3	-10,6	75,5	2,2	131,7	11,9	72,3	17,4	151,6
388AF	46,886	-71,370	jean lesage	2785,7	1189,7	-12,5	93,2	-12,7	55,3	-10,6	75,5	2,2	131,7	11,9	72,3	17,4	106,1
388BF	46,886	-71,370	jean lesage	2785,7	1189,7	-12,5	93,2	-12,7	55,3	-10,6	75,5	2,2	131,7	11,9	72,3	17,4	106,1
903bf	46,860	-71,011	lauzon	2824,5	1178,7	-12,1	102,9	-12,1	60	-10,8	95	2,3	141,1	11,1	65,5	17,4	91,0
903af	46,860	-71,011	lauzon	2824,5	1178,7	-12,1	102,9	-12,1	60	-10,8	95	2,3	141,1	11,1	65,5	17,4	106,1
904BF	46,873	-71,047	lauzon	2824,5	1178,7	-12,1	102,9	-12,1	60	-10,8	95	2,3	141,1	11,1	65,5	17,4	100,2
904AF	46,873	-71,047	lauzon	2824,5	1178,7	-12,1	102,9	-12,1	60	-10,8	95	2,3	141,1	11,1	65,5	17,4	91,0

Échantillon	Latitude	Longitude	Station météo	Degré jour	Précip annuelle	Temp janvier 2014	Précip janvier 2014	Temp février 2014	Précip février 2014	Temp mars 2014	Précip mars 2014	Temp avril 2014	Précip avril 2014	Temp mai 2014	Précip mai 2014	Temp juin 2014	Précip juin 2014
137BF	47,904	-68,653	st guy/rimouski	2319,30	1270,80	-10,80	27,00	-9,60	76,00	-9,50	55,00	-1,20	75,00	10,00	75,40	17,80	106,1
137AF	47,904	-68,653	st guy/rimouski	2319,30	1270,80	-10,80	27,00	-9,60	76,00	-9,50	55,00	-1,20	75,00	10,00	75,40	17,80	91,0
939BF	47,947	-68,848	st guy/rimouski	2319,30	1270,80	-10,80	27,00	-9,60	76,00	-9,50	55,00	-1,20	75,00	10,00	75,40	17,80	106,1
939AF	47,947	-68,848	st guy/rimouski	2319,30	1270,80	-10,80	27,00	-9,60	76,00	-9,50	55,00	-1,20	75,00	10,00	75,40	17,80	106,1
963AF	48,034	-68,783	st guy/rimouski	2319,30	1270,80	-10,80	27,00	-9,60	76,00	-9,50	55,00	-1,20	75,00	10,00	75,40	17,80	91,0
963BF	48,034	-68,783	st guy/rimouski	2319,30	1270,80	-10,80	27,00	-9,60	76,00	-9,50	55,00	-1,20	75,00	10,00	75,40	17,80	91,0
51AF	46,671	-71,710	donnacona 2/deschambault	2958,2	1168,2	-8,6	50,5	-9	37	-9,2	40,5	1,8	118	12	49,1	18,1	84,6
51BF	46,671	-71,710	donnacona 2/deschambault	2958,2	1168,2	-8,6	50,5	-9	37	-9,2	40,5	1,8	118	12	49,1	18,1	84,6
426AF	46,673	-71,706	donnacona 2/deschambault	2958,2	1168,2	-8,6	50,5	-9	37	-9,2	40,5	1,8	118	12	49,1	18,1	193,6
426BF	46,673	-71,706	donnacona 2/deschambault	2958,2	1168,2	-8,6	50,5	-9	37	-9,2	40,5	1,8	118	12	49,1	18,1	193,6
130AF	46,791	-71,497	jean lesage	2785,7	1189,7	-12,5	93,2	-12,7	55,3	-10,6	75,5	2,2	131,7	11,9	72,3	17,4	112,7
130BF	46,791	-71,497	jean lesage	2785,7	1189,7	-12,5	93,2	-12,7	55,3	-10,6	75,5	2,2	131,7	11,9	72,3	17,4	112,7
173BF	46,784	-71,546	jean lesage	2785,7	1189,7	-12,5	93,2	-12,7	55,3	-10,6	75,5	2,2	131,7	11,9	72,3	17,4	251,8
173AF	46,784	-71,546	jean lesage	2785,7	1189,7	-12,5	93,2	-12,7	55,3	-10,6	75,5	2,2	131,7	11,9	72,3	17,4	251,8
335AF	46,891	-71,304	jean lesage	2785,7	1189,7	-12,5	93,2	-12,7	55,3	-10,6	75,5	2,2	131,7	11,9	72,3	17,4	70,8
335BF	46,891	-71,304	jean lesage	2785,7	1189,7	-12,5	93,2	-12,7	55,3	-10,6	75,5	2,2	131,7	11,9	72,3	17,4	70,8
335CF	46,891	-71,304	jean lesage	2785,7	1189,7	-12,5	93,2	-12,7	55,3	-10,6	75,5	2,2	131,7	11,9	72,3	17,4	95,0
340AF	46,853	-71,513	jean lesage	2785,7	1189,7	-12,5	93,2	-12,7	55,3	-10,6	75,5	2,2	131,7	11,9	72,3	17,4	94,4
340CF	46,853	-71,513	jean lesage	2785,7	1189,7	-12,5	93,2	-12,7	55,3	-10,6	75,5	2,2	131,7	11,9	72,3	17,4	94,4
346BF	46,848	-71,526	jean lesage	2785,7	1189,7	-12,5	93,2	-12,7	55,3	-10,6	75,5	2,2	131,7	11,9	72,3	17,4	94,4
346AF	46,848	-71,526	jean lesage	2785,7	1189,7	-12,5	93,2	-12,7	55,3	-10,6	75,5	2,2	131,7	11,9	72,3	17,4	94,4
371BF	46,887	-71,265	jean lesage	2785,7	1189,7	-12,5	93,2	-12,7	55,3	-10,6	75,5	2,2	131,7	11,9	72,3	17,4	106,1
371AF	46,887	-71,265	jean lesage	2785,7	1189,7	-12,5	93,2	-12,7	55,3	-10,6	75,5	2,2	131,7	11,9	72,3	17,4	106,1
374AF	46,770	-71,413	jean lesage	2785,7	1189,7	-12,5	93,2	-12,7	55,3	-10,6	75,5	2,2	131,7	11,9	72,3	17,4	151,6
374BF	46,770	-71,413	jean lesage	2785,7	1189,7	-12,5	93,2	-12,7	55,3	-10,6	75,5	2,2	131,7	11,9	72,3	17,4	151,6
388AF	46,886	-71,370	jean lesage	2785,7	1189,7	-12,5	93,2	-12,7	55,3	-10,6	75,5	2,2	131,7	11,9	72,3	17,4	106,1
388BF	46,886	-71,370	jean lesage	2785,7	1189,7	-12,5	93,2	-12,7	55,3	-10,6	75,5	2,2	131,7	11,9	72,3	17,4	106,1
903bf	46,860	-71,011	lauzon	2824,5	1178,7	-12,1	102,9	-12,1	60	-10,8	95	2,3	141,1	11,1	65,5	17,4	91,0
903af	46,860	-71,011	lauzon	2824,5	1178,7	-12,1	102,9	-12,1	60	-10,8	95	2,3	141,1	11,1	65,5	17,4	106,1
904BF	46,873	-71,047	lauzon	2824,5	1178,7	-12,1	102,9	-12,1	60	-10,8	95	2,3	141,1	11,1	65,5	17,4	100,2
904AF	46,873	-71,047	lauzon	2824,5	1178,7	-12,1	102,9	-12,1	60	-10,8	95	2,3	141,1	11,1	65,5	17,4	91,0

Échantillon	Latitude	Longitude	Station météo	Degré jour	Précip annuelle	Temp janvier 2014	Précip janvier 2014	Temp février 2014	Précip février 2014	Temp mars 2014	Précip mars 2014	Temp avril 2014	Précip avril 2014	Temp mai 2014	Précip mai 2014	Temp juin 2014	Précip juin 2014
242AF	45,300	-71,957	magog	3000,1	1142,3	-8	53,8	-9,3	56,7	-7	37,3	5	103,6	12,9	127,2	18,1	100,2
242BF	45,300	-71,957	magog	3000,1	1142,3	-8	53,8	-9,3	56,7	-7	37,3	5	103,6	12,9	127,2	18,1	161,8
95BF	46,325	-73,358	st charles de mandeville	2880,00	1089,5	-13	105,9	-11,9	40,1	-8,8	48,7	3,5	115,9	13,8	118	17,9	165,8
95AF	46,325	-73,358	st charles de mandeville	2880,00	1089,5	-13	105,9	-11,9	40,1	-8,8	48,7	3,5	115,9	13,8	118	17,9	165,8
917AF	46,333	-73,514	st charles de mandeville	2880,00	1089,5	-13	105,9	-11,9	40,1	-8,8	48,7	3,5	115,9	13,8	118	17,9	165,8
917BF	46,333	-73,514	st charles de mandeville	2880,00	1089,5	-13	105,9	-11,9	40,1	-8,8	48,7	3,5	115,9	13,8	118	17,9	84,6
918BF	46,331	-73,477	st charles de mandeville	2880,00	1089,5	-13	105,9	-11,9	40,1	-8,8	48,7	3,5	115,9	13,8	118	17,9	106,1
918AF	46,331	-73,477	st charles de mandeville	2880,00	1089,5	-13	105,9	-11,9	40,1	-8,8	48,7	3,5	115,9	13,8	118	17,9	84,6
275BF	46,002	-73,720	st hippolyte	2787,6	1192,9	-14,8	121,9	-11,9	41,4	-8,3	63	-3	134,9	12	135,3	17,5	100,2
275AF	46,002	-73,720	st hippolyte	2787,6	1192,9	-14,8	121,9	-11,9	41,4	-8,3	63	-3	134,9	12	135,3	17,5	91,0
14BF	45,723	-74,086	mirabel/st jerome	3035,9	1067,7	-8,5	55,4	-8,9	12,3	-5,4	20	3,7	68,9	14,8	92,9	18	161,8
14AF	45,723	-74,086	mirabel/st jerome	3035,9	1067,7	-8,5	55,4	-8,9	12,3	-5,4	20	3,7	68,9	14,8	92,9	18	161,8
40BF	45,999	-74,243	st hippolyte	2787,6	1192,9	-14,8	121,9	-11,9	41,4	-8,3	63	-3	134,9	12	135,3	17,5	100,2
40AF	45,999	-74,243	st hippolyte	2787,6	1192,9	-14,8	121,9	-11,9	41,4	-8,3	63	-3	134,9	12	135,3	17,5	100,2
955AF	46,081	-74,132	st hippolyte	2787,6	1192,9	-14,8	121,9	-11,9	41,4	-8,3	63	-3	134,9	12	135,3	17,5	100,2
955BF	46,081	-74,132	st hippolyte	2787,6	1192,9	-14,8	121,9	-11,9	41,4	-8,3	63	-3	134,9	12	135,3	17,5	125,2
43BF	45,833	-74,126	st jerome	3027,8	1048,7	-8,5	55,4	-8,9	12,3	-5,4	20	3,7	68,9	14,8	92,9	18	202,0
43AF	45,833	-74,126	st jerome	3027,8	1048,7	-8,5	55,4	-8,9	12,3	-5,4	20	3,7	68,9	14,8	92,9	18	202,0
92BF	45,811	-73,986	st jerome	3027,8	1048,7	-8,5	55,4	-8,9	12,3	-5,4	20	3,7	68,9	14,8	92,9	18	251,8
92AF	45,811	-73,986	st jerome	3027,8	1048,7	-8,5	55,4	-8,9	12,3	-5,4	20	3,7	68,9	14,8	92,9	18	125,2
915AF	45,870	-74,217	st jerome	3027,8	1048,7	-8,5	55,4	-8,9	12,3	-5,4	20	3,7	68,9	14,8	92,9	18	202,0
915BF	45,870	-74,217	st jerome	3027,8	1048,7	-8,5	55,4	-8,9	12,3	-5,4	20	3,7	68,9	14,8	92,9	18	202,0
952BF	45,744	-74,086	st jerome	3027,8	1048,7	-8,5	55,4	-8,9	12,3	-5,4	20	3,7	68,9	14,8	92,9	18	181,5
952AF	45,744	-74,086	st jerome	3027,8	1048,7	-8,5	55,4	-8,9	12,3	-5,4	20	3,7	68,9	14,8	92,9	18	181,5
41.1AF	45,835	-74,134	st jerome	3027,8	1048,7	-8,5	55,4	-8,9	12,3	-5,4	20	3,7	68,9	14,8	92,9	18	181,5
41.1BF	45,835	-74,134	st jerome	3027,8	1048,7	-8,5	55,4	-8,9	12,3	-5,4	20	3,7	68,9	14,8	92,9	18	181,5
916BisAF	45,815	-73,962	st jerome	3027,8	1048,7	-8,5	55,4	-8,9	12,3	-5,4	20	3,7	68,9	14,8	92,9	18	251,8
916BisBF	45,815	-73,962	st jerome	3027,8	1048,7	-8,5	55,4	-8,9	12,3	-5,4	20	3,7	68,9	14,8	92,9	18	202,0
203BF	45,872	-74,211	valleyfield/st jerome	3354,2	978	-8,5	55,4	-8,9	12,3	-5,4	20	3,7	68,9	14,8	92,9	18	181,5
203AF	45,872	-74,211	valleyfield/st jerome	3354,2	978	-8,5	55,4	-8,9	12,3	-5,4	20	3,7	68,9	14,8	92,9	18	181,5

Échantillon	Latitude	Longitude	Station météo	Degré jour	Précip annuelle	Temp janvier 2014	Précip janvier 2014	Temp février 2014	Précip février 2014	Temp mars 2014	Précip mars 2014	Temp avril 2014	Précip avril 2014	Temp mai 2014	Précip mai 2014	Temp juin 2014	Précip juin 2014
171BF	46,598	-72,838	st alexis des monts	2807,3	1072,2	-13,4	59	-10,8	34,4	-10	59,4	3,1	108,2	13,3	94	18,3	95,0
171AF	46,598	-72,838	st alexis des monts	2807,3	1072,2	-13,4	59	-10,8	34,4	-10	59,4	3,1	108,2	13,3	94	18,3	95,0
326AF	46,627	-72,307	st anne de la perade	2915,3	1149,2	-9,9	81	-11,6	35,8	-9,2	102,2	3,8	133,6	12,6	50	18,6	95,0
327AF	46,577	-72,201	st anne de la perade	2915,3	1149,2	-9,9	81	-11,6	35,8	-9,2	102,2	3,8	133,6	12,6	50	18,6	95,0
327BF	46,577	-72,201	st anne de la perade	2915,3	1149,2	-9,9	81	-11,6	35,8	-9,2	102,2	3,8	133,6	12,6	50	18,6	165,8
937BF	46,628	-72,758	st narcisse	2918,3	1063,1	-12,3	92,8	-10,9	47,6	-9,4	72,2	4,8	17,4	13,2	71,8	18,4	110,5
937AF	46,628	-72,758	st narcisse	2918,3	1063,1	-12,3	92,8	-10,9	47,6	-9,4	72,2	4,8	17,4	13,2	71,8	18,4	110,5
108AF	45,292	-72,546	brome/granby	2982,9	1319,8	-7,9	69,4	-8	63,7	-5,9	70,5	5,1	162,2	13,6	108,4	18,9	165,8
108BF	45,292	-72,546	brome/granby	2982,9	1319,8	-7,9	69,4	-8	63,7	-5,9	70,5	5,1	162,2	13,6	108,4	18,9	165,8
213BF	45,336	-72,502	brome/granby	2982,9	1319,8	-7,9	69,4	-8	63,7	-5,9	70,5	5,1	162,2	13,6	108,4	18,9	130,0
213AF	45,336	-72,502	brome/granby	2982,9	1319,8	-7,9	69,4	-8	63,7	-5,9	70,5	5,1	162,2	13,6	108,4	18,9	130,0
921AF	45,286	-72,518	brome/granby	2982,9	1319,8	-7,9	69,4	-8	63,7	-5,9	70,5	5,1	162,2	13,6	108,4	18,9	84,6
921BF	45,286	-72,518	brome/granby	2982,9	1319,8	-7,9	69,4	-8	63,7	-5,9	70,5	5,1	162,2	13,6	108,4	18,9	84,6
55AF	45,433	-72,649	granby	3218,6	1215,4	-7,9	69,4	-8	63,7	-5,9	70,5	5,1	162,2	13,6	108,4	18,9	181,5
55BF	45,433	-72,649	granby	3218,6	1215,4	-7,9	69,4	-8	63,7	-5,9	70,5	5,1	162,2	13,6	108,4	18,9	181,5
114AF	45,380	-72,526	granby	3218,6	1215,4	-7,9	69,4	-8	63,7	-5,9	70,5	5,1	162,2	13,6	108,4	18,9	251,8
114BF	45,380	-72,526	granby	3218,6	1215,4	-7,9	69,4	-8	63,7	-5,9	70,5	5,1	162,2	13,6	108,4	18,9	251,8

ANNEXE 3

CONCENTRATIONS EN FURANOCOUMARINES DANS LES ÉCHANTILLONS DE TIGES

Échantillon	Région	Psoralène	Xanthotoxine	Angélicine	Isopimpinéline	Bergaptène	Concentration totale
939AT	Bas-Saint-Laurent	0,00	54,74	53,03	86,14	8,31	202,21
939BT	Bas-Saint-Laurent	64,67	174,51	203,85	11,02	23,95	478,00
51AT	Capitale-Nationale	39,55	205,91	272,90	10,83	0,00	529,19
51BT	Capitale-Nationale	17,25	76,72	88,74	0,00	14,84	197,55
130AT	Capitale-Nationale	81,08	99,71	166,42	6,29	17,41	370,91
173AT	Capitale-Nationale	148,19	196,43	281,74	11,62	35,22	673,19
173BT	Capitale-Nationale	159,68	151,48	281,47	8,55	25,95	627,12
335CT	Capitale-Nationale	47,27	234,66	244,70	29,51	34,83	590,97
340AT	Capitale-Nationale	0,00	27,50	45,30	28,60	0,00	101,40
340BT	Capitale-Nationale	0,00	47,91	59,25	6,59	9,58	123,33
346AT	Capitale-Nationale	44,34	95,84	140,66	10,07	16,58	307,49
346BT	Capitale-Nationale	0,00	21,36	25,23	20,19	0,00	66,78
388AT	Capitale-Nationale	36,47	31,48	77,26	19,42	7,14	171,78
388BT	Capitale-Nationale	58,91	67,47	122,28	0,00	9,85	258,52
426AT	Capitale-Nationale	90,68	209,21	238,36	14,75	40,91	593,92
426BT	Capitale-Nationale	52,11	183,91	219,53	10,22	33,33	499,10
M1AT	Capitale-Nationale	174,14	197,05	439,38	183,07	56,10	1049,75
M1BT	Capitale-Nationale	109,57	136,13	278,51	97,04	37,44	658,70
197at	Centre-du-Québec	81,77	214,45	372,73	44,64	48,23	761,82
111AT	Chaudière-Appalaches	13,27	692,12	80,91	0,00	12,05	798,36
111BT	Chaudière-Appalaches	11,07	60,57	78,71	0,00	13,29	163,65
290AT	Chaudière-Appalaches	51,76	66,38	103,34	27,83	10,25	259,56
290BT	Chaudière-Appalaches	33,36	63,30	128,71	0,00	10,62	235,99
900AT	Chaudière-Appalaches	0,00	33,24	31,09	11,25	4,53	80,12
900BT	Chaudière-Appalaches	0,00	29,20	23,72	9,45	0,00	62,37
900CT	Chaudière-Appalaches	17,57	65,57	65,13	9,10	11,41	168,78
951AT	Chaudière-Appalaches	71,70	125,99	168,59	12,86	21,64	400,79
951BT	Chaudière-Appalaches	10,56	63,45	58,72	11,05	9,02	152,80
E1AT	Chaudière-Appalaches	47,68	35,62	103,85	47,95	13,95	249,05
E1BT	Chaudière-Appalaches	19,04	24,20	60,39	32,90	8,51	145,04
E2AT	Chaudière-Appalaches	39,68	29,17	96,79	45,18	8,21	219,03
F1BT	Chaudière-Appalaches	53,79	91,77	159,26	71,35	25,28	401,45
F2AT	Chaudière-Appalaches	15,56	9,86	43,23	24,53	0,00	93,18
F2BT	Chaudière-Appalaches	42,80	42,52	115,26	68,41	15,98	284,97

Échantillon	Région	Psoralène	Xanthotoxine	Angélicine	Isopimpinéline	Bergaptène	Concentration totale
176AT	Estrie	17,12	17,78	69,92	0,00	11,75	116,56
176CT	Estrie	13,74	0,00	48,95	0,00	6,10	68,80
909AT	Estrie	0,00	0,00	25,49	0,00	0,00	25,49
909BT	Estrie	9,50	15,68	48,01	3,71	3,71	80,61
912AT	Estrie	11,46	9,86	100,75	48,69	15,50	186,27
912BT	Estrie	31,02	35,43	128,33	6,58	20,26	221,62
923AT	Estrie	44,77	40,62	76,58	10,36	12,79	185,11
923BT	Estrie	24,76	57,04	129,13	13,05	29,43	253,40
95AT	Lanaudière	0,00	22,04	45,99	0,00	0,00	68,03
275AT	Lanaudière	0,00	38,41	86,47	7,59	10,24	142,72
275BT	Lanaudière	39,63	52,83	148,83	11,02	15,25	267,56
917AT	Lanaudière	0,00	0,00	12,31	0,00	0,00	12,31
917BT	Lanaudière	0,00	0,00	15,06	0,00	0,00	15,06
918AT	Lanaudière	0,00	0,00	22,76	0,00	0,00	22,76
918BT	Lanaudière	0,00	23,97	39,42	0,00	0,00	63,39
14AT	Laurentides	22,58	116,85	172,45	16,28	25,29	353,45
14BT	Laurentides	14,94	73,44	117,40	7,67	12,32	225,77
92AT	Laurentides	27,74	164,00	163,00	12,07	25,30	392,12
203AT	Laurentides	0,00	60,67	148,89	12,03	10,99	232,58
203BT	Laurentides	23,55	123,99	259,57	18,49	25,20	450,81
915AT	Laurentides	10,42	44,88	96,76	6,31	8,43	166,80
327AT	Mauricie	31,25	58,32	86,32	0,00	10,10	185,98
108AT	Montérégie	56,32	30,41	252,99	97,09	7,00	480,77
108BT	Montérégie	9,24	9,24	109,53	27,84	16,26	172,10
114AT	Montérégie	0,00	0,00	54,96	0,00	0,00	54,96
114BT	Montérégie	0,00	0,00	40,70	0,00	0,00	40,70
194AT	Montérégie	6,64	14,52	113,96	10,31	10,25	155,69
213AT	Montérégie	0,00	0,00	27,97	0,00	0,00	27,97
213BT	Montérégie	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
82AT	Saguenay–Lac-Saint-Jean	0,00	0,00	12,15	0,00	0,00	12,15
82BT	Saguenay–Lac-Saint-Jean	45,58	96,74	127,57	7,08	21,76	298,73
905AT	Saguenay–Lac-Saint-Jean	14,96	31,33	68,90	0,00	0,00	115,18
905BT	Saguenay–Lac-Saint-Jean	76,69	121,39	177,65	9,53	22,53	407,77
950dt	Saguenay–Lac-Saint-Jean	7,18	4,71	5,66	2,73	2,69	22,97