HAL
open science

Restriction hydrique et débourrement : étude du dialogue entre l'acide abscissique et les sucres

Mathieu Caradeuc

To cite this version:

Mathieu Caradeuc. Restriction hydrique et débourrement : étude du dialogue entre l'acide abscissique et les sucres. Sciences agricoles. 2013. dumas-00932316

HAL Id: dumas-00932316

https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-00932316v1

Submitted on 16 Jan 2014

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

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

AGROCAMPUS OUEST
CFR Angers
2 rue André le Notre, 49045 Angers

IRHS (Institut de Recherche en Horticulture et Semence)
UMR1345 (INRA / Agrocampus-Ouest / Université d'Angers)
42, rue Georges Morel–B.P. 60057 – 49071 Beaucouzé Cedex -France

INRA (Insitut National de Recherche Agronomique)
42 Rue Georges Morel, Beaucouzé

Mémoire de fin d'étude

Diplôme d'Ingénieur de l'Institut Supérieur des Sciences Agronomiques, Agroalimentaires, Horticoles et du Paysage

Année universitaire : 2012 - 2013
Spécialisation : Gestion Durable du Végétal

Restriction hydrique et débourrement : étude du dialogue entre l'acide abscissique et les sucres

Par Mathieu Caradeuc

Volet à renseigner par l'enseignant responsable de l'option/spécialisation Ou son représentant	Bon pour dépôt (version définitive) ❑
Date : …./…./…….. Signature :	Autorisation de diffusion : Oui ❑ Non❑

Devant le jury : *Soutenu à Angers le lundi 16 / 09 / 2013*

M. Jean Charles Michel (président du jury), maître de conférence à Agrocampus-Ouest, enseignant-chercheur au sein de l'équipe EPHOR, Agrocampus-Ouest, Angers

Mme Lydie Huché-Thélier (maître d'apprentissage), ingénieure de recherches INRA au sein de l'équipe Arch-E, IRHS, Angers

M. Soulaiman Sakr (tuteur d'apprentissage), professeur à Agrocampus-Ouest, enseignant-chercheur au sein de l'équipe Arch-E, IRHS, Angers

Mme Marie Paul Raveneau (examinatrice), enseignante-chercheuse au sein de l'équipe LEVA, groupe ESA, Angers

M. Laurent Crespel (examinateur), maître de conférence à Agrocampus-Ouest, enseignant-chercheur au sein de l'équipe Arch-E, IRHS, Angers

"Les analyses et les conclusions de ce travail d'étudiant n'engagent que la responsabilité de son auteur et non celle d'AGROCAMPUS OUEST"

Fiche de diffusion du mémoire

A remplir par l'auteur[1] avec le maître de stage.

Aucune confidentialité ne sera prise en compte si la durée n'en est pas précisée.

Préciser les limites de la confidentialité [2] **:**

- Confidentialité absolue : ☐ oui ☐ non

(ni consultation, ni prêt)

↳ *Si oui* ☐1 an ☐5 ans ☐10 ans

- A l'issue de la période de confidentialité **ou** si le mémoire n'est pas confidentiel, merci de renseigner les éléments suivants :

Référence bibliographique diffusable[3] : ☐ oui ☐ non

Résumé diffusable : ☐ oui ☐ non

Mémoire consultable sur place : ☐ oui ☐ non

Reproduction autorisée du mémoire : ☐ oui ☐ non

Prêt autorisé du mémoire : ☐ oui ☐ non

…….

Diffusion de la version numérique : ☐ oui ☐ non

↳ *Si* oui, l'auteur[1] complète l'autorisation suivante :

Je soussigné(e) , propriétaire des droits de reproduction dudit résumé, autorise toutes les sources bibliographiques à le signaler et le publier.

Date : Signature :

Rennes/Angers, le

Le maître de stage[4]**, L'auteur**[1]**,**

L'enseignant référent,

---

(1) auteur = étudiant qui réalise son mémoire de fin d'études

(2) L'administration, les enseignants et les différents services de documentation d'AGROCAMPUS OUEST s'engagent à respecter cette confidentialité.

(3) La référence bibliographique (= Nom de l'auteur, titre du mémoire, année de soutenance, diplôme, spécialité et spécialisation/Option)) sera signalée dans les bases de données documentaires sans le résumé.

(4) Signature et cachet de l'organisme.

REMERCIEMENTS

Après ces trois années passées aux côtés de mes collègues, je peux dire que je suis ravi de m'être formé par la voie de l'apprentissage au sein de l'équipe Arch-E.

Je remercie tout particulièrement Lydie, ma maître d'apprentissage, pour sa disponibilité et sa bienveillance. Elle a su habilement jongler entre un encadrement méticuleux de mes travaux et un apprentissage en relative autonomie. Aujourd'hui je me sens grâce à elle pleinement autonome pour participer activement à un tel programme de recherche ;

Je remercie vivement Odile, pour son amitié, sa disponibilité et sa bonne humeur. C'était tout à fait indispensable durant les longues séances de digitalisation ou de phénotypage en serre!

Je remercie Soulaiman, mon tuteur d'apprentissage tout au long de ces trois années, pour ses conseils avisés et sa motivation à nous tirer toujours plus haut, il est un modèle de dynamisme ;

J'ai une attention particulière pour Gérard, ce bricoleur de génie qui m'a beaucoup appris sur le plan technique, et qu'on ne devrait sous aucun prétexte laisser partir en retraite ;

Je remercie également Vincent, Hervé, Jessica, Philippe, Sabine, Laurent, Rachid, Camille et Marion, pour les échanges quotidiens que l'on a pu avoir et qui ont largement contribué à l'ambiance agréable de ces trois années d'apprentissage ;

Je n'oublie pas d'avoir une pensée pour Farouk, dont la bonne humeur et l'amitié m'ont enthousiasmé durant mes premières années d'apprentissage ;

Je souhaite également souligner l'extrême persévérence de François, Thomas et Loly à m'enseigner les rudiments de biologie moléculaire. Ce n'était pas une mince affaire mais on y est finalement parvenu ! Ca a été pour moi l'occasion d'apprendre de nouvelles techniques de laboratoire et de susciter de nouvelles ambitions.

Je remercie sincèrement l'ensemble de mes collègues, pour leur dynamisme, leur professionnalisme, et pour l'ambiance amicale et collégiale qui m'ont permis de m'intégrer rapidement dans cette équipe ;

Enfin je m'adresse à ma famille et mes amis pour les remercier de leur soutien et pour leur présence lors du partage de mes petites victoires professionnelles.

TABLE DES MATIÈRES

1 Introduction 1

2 Synthèse bibliographique 2

2.1 L'importance de l'architecture pour le végétal 2

2.2 Le bourgeon axillaire chez le rosier 2

2.1 La régulation du débourrement : un processus complexe 3

2.1.1 Débourrement : les principaux acteurs 3

2.1.2 Les gènes impliqués dans le contrôle du débourrement 5

2.1.3 Restriction hydrique et écodormance : un enjeu pour l'agriculture 8

3 Objectifs de l'étude 11

4 Matériel et méthodes 12

4.1 Impact de régimes hydriques particuliers sur des rosiers cultivés en serre 12

4.1.1 Matériel végétal et conditions de culture 12

4.1.2 Traitements culturaux intéressants pour l'étude du débourrement 12

4.1.3 Méthode de phénotypage des rosiers cultivés en serre 14

4.1.4 Prélèvements d'organes et analyses 15

4.2 Étude du dialogue entre l'ABA et le saccharose par le modèle des nœuds cultivés in-vitro .. 16

4.2.1 Mise en culture et suivi de croissance 16

4.2.2 Analyse des données des cinétiques de débourrement des nœuds cultivés in-vitro 17

5 Résultats 18

5.1 Une restriction hydrique affecte le développement des jeunes rosiers 18

5.2 Des voies moléculaires à approfondir 21

5.3 Le saccharose module l'effet inhibiteur de l'ABA sur le débourrement 22

6 Discussion 26

7 Conclusion et perspectives 31

8 Bibliographie 32

1 Introduction

Les thématiques de recherche de l'équipe Arch-E[1] de l'IRHS[2] d'Angers gravitent autour de la compréhension de la régulation du débourrement et de son impact sur l'architecture du rosier. En tant qu'équipe pluridisciplinaire, de nombreuses compétences sont mises à contribution, telles que l'élaboration de méthodes santardisées de phénotypage en plante entière, l'analyse de l'interaction entre le génotype et l'environnement dans le déterminisme de la plasticité architecturale face aux contraintes environnementales, l'analyse moléculaire des voies de signalisation qui régulent la stimulation du débourrement par la lumière, ou encore la modélisation informatique du processus de débourrement.

La présente étude s'inscrit dans la continuité des travaux encadrés par Mme Huché-Thélier, qui étudie les conséquences d'une période de restriction hydrique sur le débourrement des bourgeons axillaires de jeunes rosiers. Ces travaux, dont les résultats ont fait l'objet d'une publication récente (Demotes-Mainard et al., 2013), ont montré (1) qu'un rosier subissant une restriction hydrique prolongée dans le temps présente une inhibition du débourrement le long de la tige, tandis (2) qu'une réhydratation du susbtrat provoque à l'inverse une stimulation importante du débourrement.

Ces résultats ont alors soulevé deux questions :

1. *En quoi la dormance des bourgeons axillaires induite par la restriction hydrique est-elle différente de la dormance classiquement observée avec la dominance apicale ?*
2. *Comment expliquer la stimulation du débourrement après une réhydratation ?*

La priorité a été d'apporter des éléments de réponse pour alimenter la première problématique. Compte tenu des données de la littérature scientifique, et de certains résultats récemment acquis par notre équipe de recherche (Girault et al., 2010; Henry et al., 2011; Rabot et al., 2012), nous avons orienté notre travail sur le dialogue qui pourrait exister entre l'acide abscissique et les sucres solubles dans la régulation du débourrement en condition de restriction hydrique.

Cet angle d'attaque de la problématique présentait l'avantage d'étudier un aspect novateur de la régulation de la dormance, à travers la mise en évidence d'un éventuel rôle signal des sucres sur cette régulation et des voies de signalisation spécifiques qui y sont associées.

[1] Arch-E, pour *Architecture et Environnement*
[2] IRHS, pour *Institut de Recherche en Horticulture et Semences*

2 Synthèse bibliographique

2.1 L'importance de l'architecture pour le végétal

L'architecture caulinaire d'une plante est un cliché à un instant donné de l'agencement, de la longueur, et du type – florifère ou non – de ses ramifications. Elle reflète l'équilibre entre les facteurs de croissance et de développement endogènes à la plante, et les contraintes exercées par son environnement proche (Barthélémy and Caraglio, 2007). L'architecture a un impact primordial sur la qualité des plantes. Ainsi le rendement maximal des grandes cultures est intimement lié à la recherche d'un nombre optimal de ramifications : chez le blé (*Triticum aestivum*), des talles trop nombreux augmenteront la compétition trophique entre ceux-ci, diminuant alors le nombre d'épis formés et donc le rendement (Kebrom et al., 2012) ; tandis que des talles trop peu nombreux ne permettent pas d'exploiter totalement ni la fertilité du sol ni la luminosité. En vigne et verger, la maîtrise de l'architecture des cultures permet d'augmenter la productivité grâce à une meilleure captation de la lumière par la canopée (Lauri et al., 2009; Thorp et al., 2011). Elle permet aussi chez le pommier (*Malus* x *domestica*) de limiter l'infestation par les pucerons (*Dysaphis plantaginea*) en favorisant de nombreux rameaux courts et peu vigoureux (Simon et al., 2012). Chez le rosier ornemental (*Rosa hybrida*), plante modèle pour l'équipe Arch-E de l'IRHS, l'architecture détermine en partie la qualité visuelle des plantes, et influe donc sur la préférence des consommateurs (Boumaza et al., 2009, 2010). L'architecture caulinaire d'une plante résulte de la croissance et du développement de tout ou partie de ses différents bourgeons axillaires. La compréhension du fonctionnement des bourgeons axillaires à travers les processus de dormance et de débourrement est ainsi l'une des clés majeures pour expliquer l'élaboration de l'architecture chez le végétal.

2.2 Le bourgeon axillaire chez le rosier

Un bourgeon axillaire de rosier est formé à partir d'un méristème axillaire, qui produit une tige non allongée portant des primordia à l'aisselle desquels se forment des méristèmes secondaires. L'ensemble de ces pièces est recouverte par deux écailles protectrices (Figure 1) (Girault et al., 2008). Le bourgeon axillaire de rosier est trigemmaire, c'est-à-dire qu'il possède en réalité un bourgeon médian principal auquel sont accolés deux petits bourgeons collatéraux (non visibles dans les plans des coupes de la Figure 1). C'est le bourgeon médian qui débourre dans la grande majorité des cas chez le rosier, mais il se peut que les trois bourgeons débourrent. Une fois le bourgeon axillaire formé, il débourre soit tout de suite et forme un axe sylleptique, ou bien il entre dans un état de dormance et débourrera plus tard, formant alors un axe proleptique (Barthélémy and Caraglio, 2007). Chez le rosier, la plupart des bourgeons axillaires produisent des rameaux proleptiques, excepté en position apicale où quelques axes courts sylleptiques fleuris sont observés (Le Bris et al., 1998). Le débourrement est un processus qui fait intervenir trois phases : la croissance des primordia, l'élongation de la tige préformée, et la production par le méristème axillaire de nouveaux primordia (Girault et al., 2008).

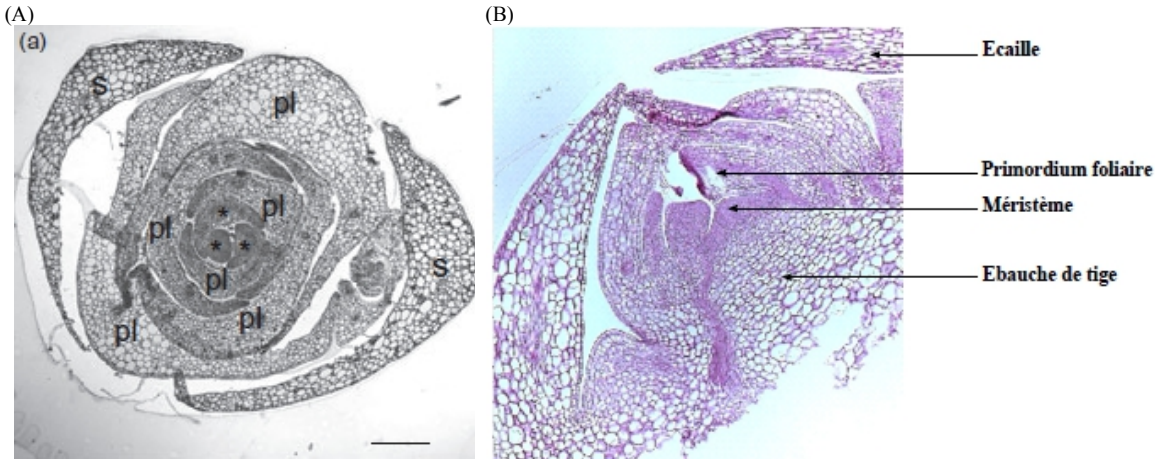


Figure 1. (A) Coupe transversale d'un bourgeon axillaire de rosier 3 jours après décapitation de l'apex. Le bourgeon a déjà initié son débourrement, les nouveaux primordia formés après la décapitation sont repérés par une astérisque. *S*, écaille ; *pl*, primordium foliaire ; *Barre* = 250 µm. **(B) Coupe longitudinale d'un bourgeon axillaire de *Rosa hybrida* cv 'Radrazz'(Girault, 2009).** La tige porte les primordia foliaires protégeant le méristème. L'ensemble de ces pièces est recouvert par des écailles protectrices. (Girault, 2009).

Un bourgeon qui est dormant n'est toutefois pas inactif. Au sein des bourgeons axillaires dormants de pois (*Pisum sativum*), les cellules sont arrêtées au stade G1 du cycle de division cellulaire (Devitt and Stafstrom, 1995; Shimizu and Mori, 1998). Le bourgeon en état de dormance est métaboliquement actif puisqu'il transforme des acides aminés radioactifs en protéines à des taux similaires aux bourgeons en croissance (Stafstrom and Sussex, 1988), bien que les fonctions des protéines synthétisées soient encore mal connues. Les gènes codant pour certaines de ces protéines sont utilisés en tant que marqueur de la dormance, comme par exemple le gène *Dormancy-associated (DRM1)* (Stafstrom et al., 1998).

2.1 La régulation du débourrement : un processus complexe

2.1.1 Débourrement : les principaux acteurs

Chez le rosier, le débourrement est préférentiellement acrotone, si bien que les bourgeons médians et basaux de la tige nécessitent pour pouvoir débourrer soit une décapitation de l'axe (Le Bris et al., 1998), soit que les axes issus des bourgeons axillaires les plus apicaux soient en fin de croissance. Néanmoins le gradient de débourrement du rosier est largement conditionné par les facteurs environnementaux auxquels la plante est soumise (Horvath et al., 2003). Cette réponse à l'environnement confère aux végétaux l'incroyable plasticité qui leur permet d'adapter leur morphologie à leurs milieux de vie, afin de compenser leur immobilité (Domagalska and Leyser, 2011). Cette malléabilité à l'environnement permet au rosier de modifier son profil de débourrement le long de la tige, par exemple sous l'effet d'une carence azotée temporaire (Huché-Thélier et al., 2011), de stimulations mécaniques répétées sur la tige en croissance (Morel et al., 2012), d'une restriction hydrique temporaire ou d'une limitation de l'intensité lumineuse appliquées durant le développement de la tige principale (Demotes-Mainard et al., 2013).

La régulation du débourrement fait l'objet depuis très longtemps de nombreuses recherches, la plupart des travaux se concentrant sur le rôle des hormones. Il y a un peu plus de 50 ans, on découvrait que la synthèse d'auxines par l'apex des tiges en phase de croissance exerce une action inhibitrice sur le débourrement des bourgeons axillaires (Skoog

and Thimann, 1934; Thimann and Skoog, 1933). Quelques décennies plus tard on remarquait que son transport est strictement basipète (Morris, 1977) et que son action sur le bourgeon est indirecte (Prasad et al., 1993). On sait aujourd'hui que l'auxine est principalement produite dans l'apex des tiges au niveau des jeunes feuilles (Ljung et al., 2001) et qu'elle est transportée dans le flux polarisé de transport d'auxine (PATS pour *polar auxin transport stream*) grâce aux protéines PIN-FORMED (PIN), dont la polarisation en position basale des cellules du parenchyme xylémien est stimulée par l'auxine elle-même (Domagalska and Leyser, 2011, Review). Il y a aujourd'hui deux théories, non exclusives, quant au mécanisme de l'action inhibitrice de l'auxine.

La première théorie stipule que le bourgeon dormant a un besoin absolu d'exporter son propre pool d'auxine vers la tige pour être capable de débourrer, et que cet export n'est possible que si la force puit auxinique de la tige est suffisamment élevée, ce qui n'est pas le cas lorsque de l'auxine produite par l'apex y circule (Domagalska and Leyser, 2011 Review). Ainsi chez des mutants *max* (more axillary growth) d'*Arabidopsis thaliana* au phénotype hyper-ramifié, les bourgeons axillaires ont des quantités de protéines PIN et un flux auxinique plus importants que chez le phénotype sauvage (Domagalska and Leyser, 2011). Or en restaurant le PATS des mutants *max* au même niveau que celui du phénotype sauvage, la ramification est de nouveau inhibée (Bennett et al., 2006). Il a également été montré que la concentration en auxine des bourgeons diminue rapidement lors de la levée de dormance par rapport aux bourgeons maintenus dormants (Balla et al., 2011).

La seconde théorie suppose l'existence d'un second messager, au transport acropète et dont la synthèse est régulée par l'auxine. Cette théorie est notamment appuyée par le fait que l'auxine réprime l'expression dans la tige des gènes *ISOPENTENYLTRANSFERASE1* et *ISOPENTENYLTRANSFERASE2* (*IPTs*) de biosynthèse d'une enzyme importante de la voie de biosynthèse des cytokinines (Tanaka et al., 2006). L'auxine stimule également l'expression des gènes *CYTOKININ OXIDASE 2* (*CKX2*) de catabolisme des cytokinines (Shimizu-Sato et al., 2009). Les cytokinines sont actuellement les seules hormones capables de déclencher le débourrement des bourgeons axillaires, même en présence d'auxine (Domagalska and Leyser, 2011). Leur synthèse locale dans la tige puis leur transport vers le bourgeon axillaire permet de déclencher son débourrement (Muller and Leyser, 2011, Review). Par ailleurs l'auxine stimule l'expression des gènes *MAX3* et *MAX4* de biosynthèse des strigolactones (Domagalska and Leyser, 2011, Review), une famille d'hormones au transport acropète et capables d'inhiber le débourrement en présence d'auxine (Gomez-Roldan et al., 2008; Umehara et al., 2008), notamment en diminuant le transport d'auxine via la dépolarisation des protéines PIN1 du PATS, sous le contrôle du gène *MAX2* (Crawford et al., 2010).

Si les hormones jouent clairement un rôle important pour réguler le débourrement, de plus en plus de travaux récents montrent que les sucres interviennent dans certaines voies de signalisation. Certains sucres auraient notamment pour rôle d'informer la plante sur les quantités de réserves disponibles afin qu'elle ajuste en conséquence son activité physiologique (Eveland and Jackson, 2011; O'Hara et al., 2012; Rolland et al., 2006 Review; Ruan, 2012; Ruan et al., 2010; Smeekens et al., 2010). Le bourgeon axillaire qui débourre est un organe hétérotrophe, qui requiert beaucoup d'énergie et de carbone pour croître pendant les phases précoces du débourrement, avant qu'il ne devienne autotrophe. Lorsque le bourgeon débourre, sa force puit pour les sucres augmente (Bonhomme et al., 2010; Decourteix et al., 2008; Le Hir et al., 2005) et permet un apport massif et régulier de sucres pour assurer sa croissance. C'est notamment le cas chez le rosier où un import massif de

saccharose vers le bourgeon accompagne son débourrement (Girault et al., 2010). Une partie de ces sucres provient de la remobilisation des réserves de la tige à proximité du bourgeon (Henry et al., 2011), comme cela avait déjà été observé chez *Juglans regia* (Decourteix et al., 2008).

Cependant plusieurs arguments montrent que les sucres agissent aussi en tant que signaux dans le débourrement. Lorsque des nœuds de rosiers sont cultivés in-vitro sur des milieux enrichi en fructose, saccharose ou glucose, les bourgeons débourrent (Rabot et al., 2012). Si le saccharose ou le fructose est remplacé par du palatinose et du psicose, deux de leurs analogues respectifs, les bourgeons débourrent également. Curieusement, ils sont maintenus dormant lorsque le glucose est remplacé par son analogue non métabolisable, le deoxyglucose. Ces expériences montrent que selon la nature du sucre présent, sa métabolisation peut être facultative pour déclencher le débourrement, sa seule présence étant suffisante. Les sucres présents dans la tige ne se limitent donc pas à favoriser le débourrement par leur apport énergétique, ils peuvent l'autoriser ou l'interdire par leur nature et probablement leur concentration, afin vraisemblablement de mieux coordonner le développement de la plante à son état physiologique.

2.1.2 Les gènes impliqués dans le contrôle du débourrement

La recherche de gènes intégrateurs qui commanderaient le débourrement en « résumant » l'ensemble des signaux favorables ou défavorables à la sortie de dormance demeure un véritable challenge, qui réserve de nombreuses applications en matière de sélection variétale. Le premier candidat sérieux à ce poste a été le gène *TB1*, découvert chez le maïs (*Zea mays*) à l'occasion d'une étude sur les conséquences de la sélection par l'homme d'architectures de plants de maïs peu ramifiés, et les modifications que cela a induit dans son génome (Doebley et al., 1997). *TB1* possède des orthologues chez le riz (*Oryza sativa*) (*FC1*) (Takeda et al., 2003), le sorgho (*Sorghum bicolor*) (*TB1*), le pois (*Pisum sativum*) (*BRC1*), la tomate (*Lycopersicon aesculantum*) et l'arabette (*Arabidopsis thaliana*) (*BRC1*). *BRC1*, *FC1* et *TB1* sont des gènes codant pour une protéine nucléique et sont exprimés au niveau des bourgeons axillaires dormants (Aguilar-Martínez et al., 2007). Les mutants qui sous-expriment *BRC1* ont un phénotype hyper ramifié (Aguilar-Martínez et al., 2007) (Figure 2), tandis que les mutants sur-exprimant *BRC1* ou ses orthologues présentent très peu de ramifications, tout en conservant pleinement le potentiel de croissance des bourgeons (Takeda et al., 2003).

(D) Shoot phenotype of mature *brc1-2*, wild-type Columbia, and *brc2-1* plants.

Figure 2. Phénotype hyper-ramifié de mutants (*brc1* et *brc2*) d'*Arabidopsis thaliana* qui sous-expriment *BRC1* (Aguilar Martinez et al., 2007).

De fait, ces gènes sont capable d'intégrer de nombreux signaux influant le débourrement, comme les auxines : chez *Arabidopsis t.* le mutant *ycc1* hyper-producteur d'auxines et au phénotype hypo-ramifié nécessite que le gène *BRC1* soit actif pour maintenir la dormance des bourgeons axillaires (Aguilar-Martínez et al., 2007). Concernant les strigolactones, l'apport exogène d'une strigolactone de synthèse (GR24) chez des mutants de riz qui sous-expriment *FC1* (donc au phénotype hyper-ramifié) ne permet ni de rétablir la dormance des bourgeons ni de stimuler l'expression de *FC1*, indiquant que ces gènes sont nécessaires à l'action inhibitrice du débourrement des strigolactones (Minakuchi et al., 2010). Enfin l'application de benzylaminopurine (une cytokinine de synthèse) provoque une diminution nette de l'expression de *FC1* dans les bourgeons, de façon strigolactone-indépendante (Minakuchi et al., 2010). Comme un écho aux premiers travaux sur le rôle signal des sucres, des études récentes montrent des corrélations très intéressantes entre *BRC1*, *TB1* et *FC1* et des modifications du statut carboné des bourgeons. Chez le blé (*Triticum aestivum*), le phénotype hypo-ramifié des mutants *tin* corrèle avec de faibles concentrations en saccharose dans les bourgeons axillaires, avec une surexpression d'un gène marqueur du déficit en sucres et une sous-expression de gènes saccharose-inductibles, et enfin avec une surexpression de *TB1* (Kebrom et al., 2012). Les auteurs font l'hypothèse que la mobilisation des sucres chez les mutants *tin* se fait davantage au profit de la tige par rapport aux bourgeons, et que c'est la sous-alimentation carbonée du bourgeon qui réprime entre autres les gènes impliqués dans la transition des cellules, ce qui bloquerait la multiplication cellulaire et inhiberait le débourrement.

Les gènes *BRC1*, *TB1* et *FC1* sont par ailleurs capables d'intégrer certains stimuli environnementaux. L'expression de *BRC1* est ainsi corrélée positivement à la densité de culture de plants d'*Arabidopsis t.* (Aguilar-Martínez et al., 2007). De façon similaire des pieds de blé cultivés avec un éclairage enrichi en rouge lointain (diminution du rapport R:FR), connu pour inhiber le débourrement, stimule l'expression de *TB1* (Kebrom et al., 2010). Il a été montré chez *Arabidopsis* que le gène *BRC1* est nécessaire à l'inhibition du débourrement provoqué par une baisse du rapport R:FR (Finlayson et al., 2010; González-Grandío et al., 2013).

Toutefois, des études récentes complètent ces travaux et semblent indiquer que *BRC1* et ses orthologues ne sont pas les intégrateurs finaux des signaux de dormance. En effet chez des plants de blé mutants qui sous-expriment *FC1*, le débourrement est malgré tout d'autant plus inhibé que la densité de culture augmente (Takeda et al., 2003). De façon similaire, des bourgeons de plants décapités de sorgho (*Sorghum bicolor*) dont la dormance a été stimulée par une défoliation ne présentent aucune augmentation de l'expression de *TB1*, alors que le gène marqueur du débourement *Dormancy-associated* (*DRM1*) est surexprimé dans ces bourgeons (Kebrom et al., 2010). *DRM1* est un gène découvert chez des plants de fraises mutants déficients en auxines, et qui a été identifié plus tard chez le pois (*Pisum sativum*) (Stafstrom et al., 1998). Son rôle exact dans la dormance est questionné, mais son expression est remarquablement bien corrélée à la dormance des bourgeons axillaires (Figure 3), bien qu'il soit également exprimé dans certains tissus matures (Stafstrom et al., 1998). *DRM1* code une protéine de fonction inconnue et de petite taille – 14 kDA chez le chou chinois (Lee et al., 2013) – et qui serait vraisemblablement exprimée au niveau du cytosol (Lee et al., 2013).

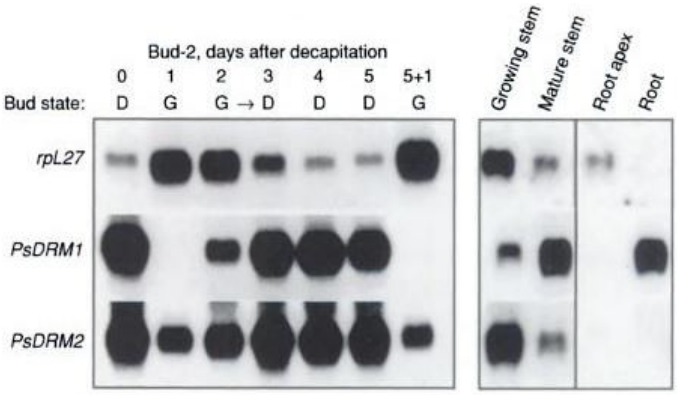


Fig. 23.3. Northern blot analysis of gene expression in pea axillary buds and other organs. The *rpL27* gene is preferentially expressed in growing axillary buds and in other growing organs (root apices and elongating stems). *PsDRM1* expression is much greater in dormant axillary buds and in non-growing stems and roots than in their growing counterparts. *PsDRM2* mRNA accumulated preferentially in dormant buds but was also present in growing buds. (Adapted from Stafstrom *et al.*, 1998a.)

Figure 3. Expression de DRM1 dans un bourgeon axillaire de pois (*Pisum sativum*) décapité. Le statut du bourgeon (G, growing ; D, dormant) est indiqué sous le nombre de jours écoulés depuis la décapitation.

DRM1 est par ailleurs sensiblement réprimé par certains sucres, puisque le saccharose, le fructose et le glucose répriment son expression tandis que ce n'est pas le cas du turanose et du mannitol (Gonzali et al., 2006). Ces éléments appuient l'hypothèse que les sucres portent un message qui induirait ou réprimerait le maintien en dormance des bourgeons axillaires (Kebrom et al., 2012). Les études impliquant l'action d'hormones sur *DRM1* sont peu nombreuses. Chez *Arabidopsis*, un mutant *35S :YUCCA,* qui produit deux fois plus d'auxines que le génotype sauvage, ne montre toutefois pas de différence dans l'expression de *DRM1* comme cela serait pourtant attendu (Finlayson, 2007). Cela peut laisser penser que *DRM1* puisse être impliqué dans la régulation du débourrement seulement sous certaines conditions environnementales. Des plants de pois (*Pisum sativum*) traités à l'acide abscissique montrent quant à eux une augmentation des transcrits de *DRM1 (Stafstrom, 2000)*, sans que cela n'ait été confirmé par ailleurs. Tous ces éléments, ainsi que des données en cours de publication[3] obtenues par l'équipe Arch-E, laissent à penser que *DRM1* est un candidat sérieux au poste de contrôleur final de la dormance.

[3] Travaux de M.Barbier et de M.Péron.

2.1.3 Restriction hydrique et écodormance : un enjeu pour l'agriculture

Trois types de dormance peuvent affecter un bourgeon axillaire, simultanément ou non : l'**endodormance** est définie comme la dormance induite par des facteurs endogènes au bourgeon, qui ne peut être levée que par la soumission du bourgeon à certaines conditions (besoin de froid, hydratation, etc.). La **paradormance** est la dormance qu'un organe de la plante induit sur des bourgeons axillaires distants, comme c'est le cas avec la dormance induite par l'apex via la production d'auxines. Enfin l'**écodormance** est provoquée par des conditions environnementales défavorables qui poussent la plante à réduire son développement pour mieux faire face au stress qu'elle subit.

L'inhibition du débourrement parfois observé pendant une restriction hydrique (Guo et al., 2007) est un cas d'écodormance. La compréhension des mécanismes par lesquels une restriction hydrique induit la dormance des bourgeons constitue un enjeu agricole important. En effet à l'échelle mondiale, les stress causés par les sécheresses – qui associent des déficits d'irrigation à des vagues de chaleur – sont les risques les plus fréquents pour les cultures alimentaires. Les chutes de rendement causées par les stress hydriques sont d'autant plus importantes lorsqu'ils surviennent pendant les phases précoces de reproduction, qui sont des périodes décisives pour le rendement des cultures (Boyer and Westgate, 2004; Salter and Goode, 1967).

Les plantes ont mis en place tout un arsenal de réponses pour faire face aux stress hydriques : à l'échelle de la plante entière les feuilles et les tiges sont raccourcies tandis que la ramification du système racinaire est stimulée (Shao et al., 2008). La photosynthèse et la transpiration sont rapidement ralenties par la fermeture des stomates (Chaves, 1991), et la plante stressée consacre une importante partie de son métabolisme à la production d'osmolites et d'antioxydants (Shao et al., 2008). Le débourrement des bourgeons est généralement retardé ou inhibé durant une période de restriction hydrique, comme c'est le cas chez le chêne (*Quercus robur*) (Spiess et al., 2011), l'eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) (Osório et al., 1998), la matricaire (*Matricaria chamomile*) (Razmjoo et al., 2008), le pêcher (*Prunus persica*) (Steinberg et al., 1990) ou encore le blé (*Triticum aestivum*) (Keim and Kronstad, 1981). Cependant des épisodes plus ou moins longs de restrictions hydriques peuvent avoir un effet stimulateur sur le débourrement après un retour à des conditions hydriques favorables, comme chez le rosier (Demotes-Mainard et al., 2013; Michonneau, 2002; Portemer, 2009) ou le chêne (*Quercus robur*) (Spiess et al., 2011).

Les processus adaptatifs mis en œuvre par les plantes lors de stress abiotiques font souvent intervenir l'acide abscissique (ABA) (Sreenivasulu et al., 2012; Umezawa et al., 2006). Cette hormone est synthétisée au niveau des chloroplastes (Umezawa et al., 2010) et peut s'accumuler dans la plupart des organes de la plante, comme c'est le cas durant une restriction hydrique (Dobra et al., 2010). L'éventail d'action de l'ABA est très large puisqu'il peut moduler l'expression d'environ 10 % des gènes connus chez les plantes (Sreenivasulu et al., 2012). L'ABA a d'abord été connu pour son rôle dans la fermeture des stomates afin de diminuer les pertes d'eau par transpiration, mais il est aussi capable par exemple d'affecter la synthèse et le stockage de protéines et de lipides (Sreenivasulu et al., 2012). Sa participation à l'inhibition du débourrement durant une restriction hydrique est questionné depuis longtemps. Il semble en effet que l'ABA ait un rôle dans le maintien des bourgeons dans un état de dormance, puisque des applications exogènes d'ABA permettent d'inhiber le débourrement (Tamas et al., 1979; Tucker, 1978). De nombreuses études montrent une

corrélation entre la dormance des bourgeons et une élevation de leurs concentrations en ABA (Destefano-Beltrán et al., 2006; Emery, 1998; Gocal et al., 1991; Pearce et al., 1995; Ruttink et al., 2007), ainsi qu'une augmentation de la transcription de gènes inductibles par l'ABA (Ruttink et al., 2007; Shimizu-Sato and Mori, 2001). Les connaissances actuelles sont toutefois encore insuffisantes pour proposer une mode d'action précis de l'ABA sur la dormance des bourgeons.

Chatfield et al (2000)bproposaient que l'ABA puisse agir en inhibant le transport d'auxine, car l'application exogène d'ABA en position basale d'une tige améliore l'inhibition auxinique du débourrement, alors que de l'ABA appliqué sur l'apex décapité d'une tige réduit le potentiel inhibiteur de l'auxine (Chatfield et al., 2000). Ces résultats peuvent donc être en accord avec la théorie développée précédemment (partie 2.1.1) qui prévoit une nécessité absolue pour le bourgeon axillaire d'exporter son pool d'auxine afin de pouvoir débourrer. D'autres auteurs supposent que l'ABA pourrait agir en bloquant les divisions cellulaires au sein des bourgeons via la stimulation des gènes *ICK* (Wang et al., 1998). Le gène *ICK* code une protéine inhibitrice des gènes *CDK*, ces derniers régulant certains cycles de division cellulaire. Alors qu'aucune de ces hypothèses n'a été vérifiée, plusieurs éléments suggèrent de reconsidérer le rôle du gène *DRM1* dans l'induction de la dormance des bourgeons axillaires par la restriction hydrique. Il a été montré que l'ABA peut stimuler l'expression de *DRM1* chez le Pois (Stafstrom, 2000). Cela semble cohérent avec l'augmentation de l'expression de *DRM1* observée chez des plants de cacahuète (*Arachis hypogaea)* soumis à une restriction hydrique modérée (Govind et al., 2009). Nous savons que *DRM1* n'est pas exprimé uniquement chez le bourgeon axillaire (Rae et al., 2013), mais sa remarquable corrélation avec son statut (dormant/débourrement), ainsi que d'autres éléments issus des travaux de recherche de notre équipe, laissent à penser qu'il est d'avantage qu'un simple marqueur de la dormance.

Les changements hormonaux ne sont pas les seules explications envisageables pour l'inhibition du débourrement durant un stress hydrique. Des plantes subissant une restriction hydrique présentent souvent de fortes concentrations en carbone (Muller et al., 2011). L'ABA n'est toutefois pas le signal qui induit l'accumulation de sucres : de jeunes plants de soja en restriction hydrique ou bien traités avec 1mM d'ABA présentent tous une inhibition du débourrement ; mais seuls les plants en restriction hydrique montrent une accumulation de sucres (Creelman et al., 1990). Cette accumulation des sucres peut s'expliquer par une réduction de la photosynthèse qui intervient plus tardivement que la réduction de la croissance des organes, conduisant donc à une offre en carbone devenant supérieure à la demande (Muller et al., 2011). Nous avons vu dans la partie précédente que le bourgeon est capable de détecter les variations de concentrations en sucres de la tige voisine comme un signal pour autoriser ou refuser le débourrement, et que le gène *DRM1* est également réprimé par la présence de certains sucres. Par ailleurs, la restriction hydrique peut conduire à une répression des invertases vacuolaires, comme dans les feuilles de colza (*Brassica napus*) (Müller et al., 2010) ou dans les ovaires de maïs (*Zea mays*) (Mc Laughlin and Boyer, 2004). Les invertases sont des protéines qui dégradent le saccharose en fructose et glucose au niveau des organes puits. Or les travaux de notre équipe montrent une bonne corrélation entre l'augmentation de l'activité d'une invertase vacuolaire dans le bourgeon et le débourrement des bourgeons (Rabot et al., 2012). Cette même étude montre que le saccharose et le fructose agissent en tant que signal pour stimuler l'expression de ces invertases vacuolaires. Se pourrait-il alors que la restriction hydrique réprime l'expression des invertases au niveau du bourgeon, le privant ainsi du bénéfice des réserves en sucres formées dans la tige ? Face à ces éléments on ne peut pas exclure que les différentes

variations des concentrations en sucres durant une restriction hydrique puissent également être impliquées dans la régulation du débourrement.

Il reste de nombreuses pistes à explorer pour mieux comprendre les voies moléculaires impliquées dans la dormance des bourgeons. C'est notamment ce que souligne une review récente s'intéressant aux fonctions probables des gènes de la famille *DRM1/ARPs* et qui rappelle l'intérêt de conduire des études incluant des stress biotiques et abiotiques pour mieux comprendre leurs rôles dans le maintien de la dormance (Rae et al., 2013).

3 Objectifs de l'étude

L'un des thèmes de recherche fédérateurs de l'équipe Arch-E est l'étude de la régulation du débourrement. Des travaux de l'équipe ont montré que des rosiers soumis à des régimes d'irrigation particuliers présentent des phases d'inhibition puis de stimulation du débourrement (Demotes-Mainard et al., 2013). Parmi les nombreuses questions que ces phénotypes ont suscitées, celles qui nous ont particulièrement intéressées en cohérence avec les thématiques de recherche de l'équipe Arch-E sont les suivantes :

- **Quels sont les métabolites impliqués dans la dormance des bourgeons axillaires durant une restriction hydrique ?**
- **Leurs voies de signalisation sont-elles similaires à celles impliquées dans la dormance des bourgeons axillaires de plantes cultivées en confort hydrique ?**
- **Quelles sont les pistes pour expliquer la stimulation du débourrement après une réhydratation ?**

Etudier une voie de signalisation suppose que l'on s'intéresse à la fois aux métabolites porteurs du signal, aux organes qui les synthétisent, aux gènes que ces molécules activent ou répriment, et aux rétrocontrôles possibles. L'étude que nous avons conduite durant la saison 2013 avait donc pour but de s'attaquer aux premières étapes de cette démarche : caractériser clairement un phénotype répétable en plante entière, identifier les modifications physiologiques présentant à priori un intérêt pour les problématiques, notamment les teneurs en sucres et en acide abscissique dans les bourgeons et la tige, et les mettre en relation avec des variations d'expression de gènes préalablement identifiés dans la bibliographie. Ces premières étapes ont été réalisées sur le modèle de la plante entière cultivée en serre. Dans un deuxième temps il est paru pertinent d'étudier le dialogue qui s'opérait entre l'acide abscissique et les sucres, et pour y parvenir c'est le modèle du nœud cultivé in-vitro qui a été utilisé. Ce modèle a permis d'utiliser l'ABA et le saccharose à plusieurs concentrations et ainsi de mieux caractériser l'effet de leur interaction sur le débourrement. Enfin il fallait mener une réflexion sur de futures expérimentations qui permettront de comprendre plus finement certains aspects de la dormance en situation de stress hydrique.

4 Matériel et méthodes

Au cours de ce stage de fin d'études, trois types d'expérimentations ont été conduites :

- Phénotypage de plantes entières cultivées en serre et soumises à des régimes hydriques particuliers, avec un focus sur le débourrement des bourgeons végétatifs,
- Prélèvements d'organes sur plantes cultivées sous différents régimes hydriques, pour analyses de biochimie et de biologie moléculaire,
- Utilisation du modèle de nœud cultivé in vitro pour étudier plus finement le dialogue entre l'ABA et le saccharose dans la modulation du débourrement

4.1 Impact de régimes hydriques particuliers sur des rosiers cultivés en serre

4.1.1 Matériel végétal et conditions de culture

Des plants de *Rosa hybrida* cultivar 'Radrazz' (Knock out®) ont été multipliés par bouturage à partir d'un lot de pieds mères de génotype identique. Les boutures ont été prélevées dans la partie médiane des tiges des pieds mères, et mises à raciner dans des mottes FERTIS (FERTIL, Le Syndicat, France) pour une durée de 4 à 5 semaines sous hygrométrie saturante. Les boutures enracinées ont ensuite été empotées dans des containers de 0.5 litres avec un substrat composé de 70% de tourbe blonde, 20% de fibre de coco et 10% de perlite (v/v/v). Les plants rempotés ont été élevés sous serre-verre à une densité d'environ 45 plantes/m². Les températures consignes étaient de 20/18°C (diurne 16h / nocturne 8h), l'hygrométrie moyenne a été maintenue autour de 70%. Un éclairage d'appoint a été fourni par des lampes à vapeur de sodium (apport de 110 $\mu m.m^{-2}.s^{-1}$) lorsque le rayonnement photosynthétique actif (PAR) était inférieur à 112 $\mu m.m^{-2}.s^{-1}$ pendant la période diurne. Les plants ont été placés sur une tablette de culture de 5m² équipée d'un bac d'irrigation. La solution nutritive était constituée à partir d'engrais Peter® Excels (1 g/l de solution) et d'oligo-éléments Kanieltra® (Hydro Agri, Oslo, Norway ; 0.1 ml/l de solution). Le pH était maintenu entre 5.5 et 6.5 et l'électroconductivité autour de 1400 ms/m.

4.1.2 Traitements culturaux intéressants pour l'étude du débourrement

IMPORTANT : la définition des stades phénologiques du développement de la tige ainsi que des trois zones de la tige mentionnées ci-après sont fournies respectivement en Annexe 1 et en Annexe 2.

4.1.2.1 Régimes d'irrigation

Dès que le bourgeon d'une bouture débourre, la plante est affectée à l'un des deux régimes d'irrigation : confort ou restriction. Toutes les plantes sont fertirriguées en localisé (1 goutteur par pot) et le pilotage de l'irrigation se fait à l'aide de trois tensiomètres par

tablette de culture. L'irrigation est déclenchée lorsque 2 des 3 tensiomètres indiquent un potentiel hydrique inférieur au seuil d'irrigation (Tableau 1).

Régime d'irrigation	Seuil de potentiel hydrique mesuré dans le substrat pour déclencher l'irrigation	Volume de solution nutritive apportée (ml)
Confort	-8 kPa	50±5 ml
Restriction	-26 kPa	20±5 ml

Tableau 1.Consignes d'irrigation des rosiers.

Trois modalités sont alors définies pour le facteur « régime hydrique » (Figure 4) :

- les rosiers **CC** (Confort - Confort) sont cultivés **constamment en confort hydrique**
- les rosiers **RC** (Restriction - Confort) sont cultivés en **restriction hydrique** depuis le débourrement de la bouture jusqu'au stade CPV de l'axe d'ordre 1. **A CPV les rosiers sont complètement réhydratés** par bassinage puis déplacés sur la tablette de culture pilotée en confort hydrique.
- les rosiers **RR** (Restriction - Restriction) sont **maintenus en restriction hydrique** depuis le débourrement de la bouture jusqu'à la fin de l'expérimentation

La Figure 4 résume l'application des régimes hydrique selon les stades phénologiques des rosiers.

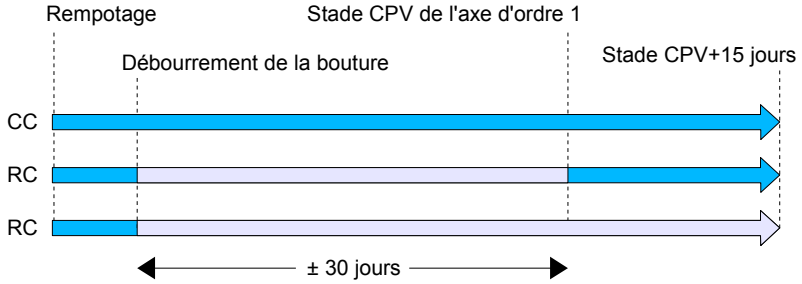


Figure 4. Période d'application des régimes hydriques de confort (bleu) ou de restriction (gris clair). Les trois modalités sont CC (Confort - Confort), RC (Restriction - Confort) et RR (Restriction - Restriction). Le stade CPV du bouton floral correspond au moment où l'on distingue pour la première fois les couleurs des pétales. Les seuils de déclenchement de l'irrigation sont respectivement de -8 kPa en régime Confort et de -26 kPa en régime restriction.

4.1.2.2 Décapitation des tiges de rosiers

Dix rosiers de chacune des trois modalités du facteur « régime hydrique » (**CC**, **RC**, **RR**) sont décapités au stade CPV de l'axe d'ordre 1. La décapitation se fait avec un scalpel en coupant la tige 1 cm au dessus du bourgeon situé à l'aisselle de la première feuille médiane (cf description des zones de l'axe d'ordre 1 en Annexe 2) en partant de la base de la tige (Figure 5).

4.1.2.3 Inhibiteur de transport d'auxines

Vingt rosiers de la modalité **CC** sont traités à l'acide 1-N-naphthylphthalamic (NPA) (Figure 5), un inhibiteur de transport de l'auxine. Deux concentrations de NPA sont testées : 1mM et 10mM. Le NPA est préparé en dissolvant la poudre de NPA à chaud (50°C) et avec agitation dans de l'éthanol 96 % (v/v), puis en versant cette solution dans de la lanoline chauffée à 60°C au bain marie et en homogénéisant vivement et immédiatement. Le volume d'éthanol présent dans la solution finale de lanoline est ≤ 10 %. Ces essais étant des mises au point préliminaires de protocole, il n'y a pas de témoins traités à la lanoline + éthanol sans

NPA. L'objectif est de trouver la dose minimale de NPA devant être appliquée sur les rosiers en confort pour permettre de lever l'inhibition des bourgeons axillaires basaux, afin d'étudier ultérieurement l'effet de l'application de NPA sur des rosiers en restriction hydrique.

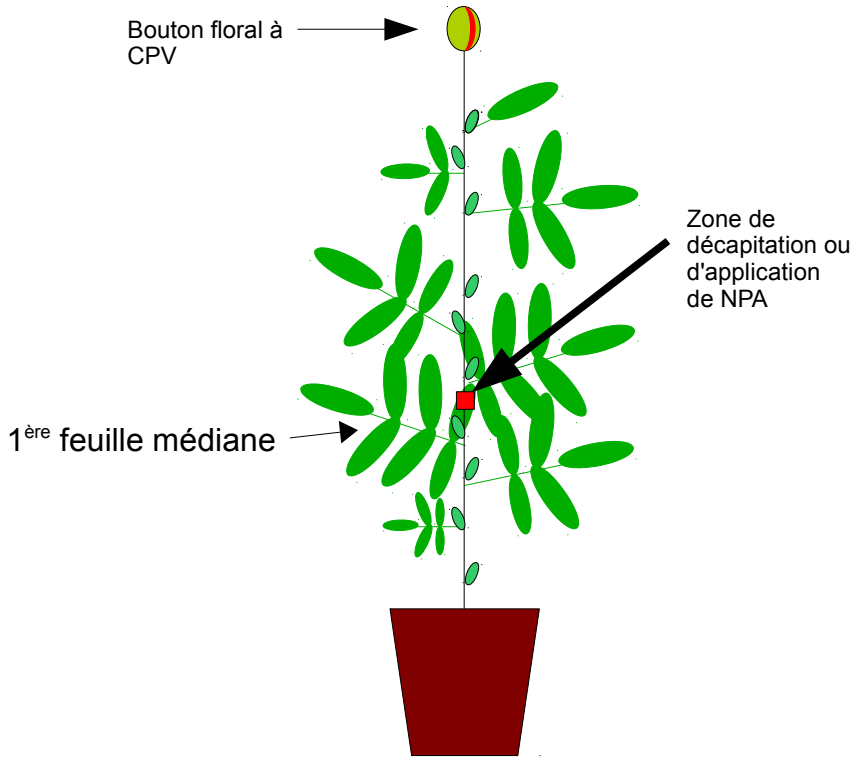


Figure 5. Zones (en rouge) de décapitation ou d'application d'un anneau de NPA 1mM ou 10mM. La zone d'application est définie comme la portion de tige située au dessus de la troisième feuille foliolée basale, en comptant à partir de la base de l'axe d'ordre 1.

4.1.3 Méthode de phénotypage des rosiers cultivés en serre

Les effets de la restriction hydrique sur la morphologie du rosier buisson sont caractérisés par des mesures de :

- longueur des folioles terminales de chacune des feuilles de l'axe d'ordre 1, cette mesure corrélant très fortement avec la surface de la feuille entière (Demotes-Mainard et al., 2009),
- diamètre à la base de la tige de l'axe d'ordre 1,
- temps thermique nécessaire à l'atteinte des stades DEB, BFV, CPV, FE, FF (Voir la description des stades phénologique en Annexe 1). La température de base du rosier utilisée est de 2,1°C (Massot, 2007) et les temps thermiques moyens journaliers sont calculés grâces aux mesures relevées toutes les 30 minutes en serre.

4.1.3.1 Cinétique de débourrement : mesure de l'élongation des bourgeons

Une attention toute particulière est portée à l'évolution du débourrement des bourgeons portés par l'axe d'ordre 1. Trois fois par semaine, la longueur de chaque bourgeon (ou de l'axe qu'il a formé) est mesurée et répertoriée en classes de longueur (arrêt du suivi d'élongation au delà de 50mm).

4.1.3.2 Porométrie : mesure de la conductance stomatique

Des mesures de porométrie de T0 (CPV) à T0+72h sont faites afin de suivre la transpiration et son évolution sous l'effet de la réhydratation après une période de culture sous restriction hydrique, à l'aide d'un poromètre (modèle AP4 DeltaT de Sol-Mesures, France). Un poromètre mesure la résistance stomatique, qui est corrélée au taux d'ouverture des stomates. Son principe de fonctionnement est le suivant : une chambre est accolée contre la face de la feuille à mesurer, puis un air dessiqué vient abaisser l'humidité de l'atmosphère initiale de la chambre. La chambre est hermétique et les seuls échanges gazeux possibles passent donc par les stomates de la feuille. L'appareil mesure alors le temps que met la feuille pour faire augmenter de 2,3% l'humidité relative de l'atmosphère de la chambre. Ce temps sera d'autant plus long que les stomates sont fermés et donc que la feuille transpire peu. Deux mesures sont faites par plante, sur des feuilles totalement développées (sur la deuxième et troisième feuille médiane à partir de l'apex de l'axe d'ordre 1).

4.1.4 Prélèvements d'organes et analyses

Des échantillons de tiges et bourgeons sont prélevés à différents stades (Tableau 2). Les organes prélevés sont récoltés dans des sachets en aluminium et immédiatement congelés dans l'azote liquide puis conservés au congélateur à -80°C. Les analyses envisagées sur les échantillons sont précisées dans le Tableau 2.

Organe prélevé	Traitement	Stade de prélèvement	Analyses de biochimie envisagées	Analyses de biologie moléculaire envisagées
Bourgeons médians	CC, RC, RR	CPV	Identification et dosage des sucres et des phytohormones	BRC1, DRM1, MAX2, IPT5, XERICO, ga2ox, YUCCA, TAA, PIN, VI1
Tiges médianes	CC, RC, RR	CPV CPV+1jour CPV+2jours CPV+3jours CPV+4jours	Identification et dosage des sucres et des phytohormones	BRC1, DRM1, MAX2, IPT5, XERICO, ga2ox, YUCCA, TAA, PIN, VI1, CKX, MAX1/3/4, SUC2
Feuilles médianes	CC, RC, RR	CPV CPV+1jour CPV+2jours CPV+3jours CPV+4jours	Identification et dosage des acides aminés	Aucune

Tableau 2. Analyses de laboratoire conduites sur les échantillons de rosier modèle "plante entière".

4.1.4.1 Analyses biochimiques

Le choix du laboratoire de sous-traitance des dosages biochimiques des bourgeons n'a pas encore été arrêté en raison de la faible quantité de matière sèche disponible, qui nécessite des analyses fines. Les dosages biochimiques des tiges sont sous-traités au plateau technique de profilage métabolique et métabolomique P2M2 basé à l'INRA de Rennes (France). Les échantillons sont lyophilisés puis broyés finement à l'aide d'un broyeur à bille (tiges) ou d'un broyeur à hélice (feuilles). Les analyses suivantes ont été commandées :

- Identification et dosage des sucres et phytohormones sur entre-noeuds médians de rosier
- Identification et dosage des acides aminés sur feuilles des métamères médians de rosier

Les trois modalités du facteur « régime hydrique » (**CC**, **RC**, **RR**) sont analysées, sur une cinétique comprenant les points T0 (CPV), T0+24 h, T0+48 h et T0+72h

4.1.4.2 Analyses de biologie moléculaire

- *Extractions et purification des ARNs totaux*

L'extraction des ARNs totaux d'un échantillon permet d'obtenir une « photographie » à un instant donné des gènes exprimés dans celui-ci. Les échantillons de tiges et de bourgeons sont broyés très finement au mortier dans de l'azote liquide, pour empêcher les réactions de biosynthèse et de catabolisme. L'extraction des ARNs de bourgeon et de tige est réalisée avec le kit *Rn Easy* de Qiagen (Qiagen, USA), en incluant l'étape de purification des ARNs par un traitement à la DNAse. Le rendement des extractions est mesuré par un dosage au NanoDrop (Thermo Fischer Scientific, USA).

- *Reverse transcription*

Les ADNc nécessaires aux qPCRs sont obtenus à partir des ARNs totaux extraits précédemment, grâce à la Super Script III RT et en suivant les indications du kit *SuperScript® III Reverse Transcriptase* de Invitrogen.

- Amorces utilisées et qPCRs

Toutes les amorces utilisées pour les qPCRs ont été préalablement obtenues par des collègues de l'équipe. Les qPCRs sont réalisées à l'université d'Angers au département biologie.

4.2 Étude du dialogue entre l'ABA et le saccharose par le modèle des nœuds cultivés in-vitro

4.2.1 Mise en culture et suivi de croissance

De jeunes rosiers issus de boutures sont cultivés jusqu'au stade BFV de l'axe d'ordre 1, en situation de confort hydrique. A ce stade aucun débourrement n'est encore observé le long de l'axe. Le nœud correspondant à la première feuille médiane (en comptant à partir de la base de la tige) bien développée est défolié puis prélevé au scalpel dans de l'eau du robinet. Les nœuds sont désinfectés pendant 30s dans de l'éthanol à 70% (v/v) puis disposés en boîte de pétri (12cm x 12cm) sous hotte stérile à flux laminaire. Les milieux de culture sont de type MS (Murashig and Skoog, 1962) et sont complétés par une gamme de saccharose et d'acide abscissique (Tableau 3). Le saccharose est ajouté au milieu avant le passage à l'autoclave, et l'ABA dissous dans l'acétone est ajouté sous hotte lors du coulage du milieu en boîte de pétri, en même temps que 2.5ml/l de PPM (plant preservative mixture, Plant Cell Technology, USA). Pour les modalités de la gamme sans ABA, des témoins ont été au préalable réalisés avec une gamme d'acétone et ne montrent aucun effet de la présence d'acétone sur la cinétique de débourrement (données équipe). Le transfert des nœuds en boîte de pétri est fait après avoir creusé une fosse de 15mm de large sur l'une des médianes de la

boîte de pétri, permettant ainsi de disposer 10 à 11 nœuds de telle sorte que chaque extrémité de la tige touche l'une des moitiés du milieu de culture (Figure 6). Les boîtes de pétri sont cultivées en phytotron sous un PAR de 120±10 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$ avec une photopériode diurne de 16 h et une température de 23±1 °C.

Le suivi cinétique consiste à prendre toutes les 24 heures une photo des nœuds jusqu'à ce que le dernier bourgeon de la boîte qui ait commencé à débourrer soit ouvert (i.e. la feuille s'écarte du reste du bourgeon). Une échelle sous la boîte de pétri permet d'obtenir l'évolution de la longueur de chaque bourgeon au cours du temps, grâce au logiciel de traitement d'ImageJ v1.47 (http://rsbweb.nih.gov/ij/index.html). Pour chaque nœud, une modélisation de la croissance est faite jusqu'à la date où le bourgeon s'ouvre, les mesures de longueur postérieures perdant alors en fiabilité du fait du repliement des feuilles lorsqu'elles sont en contact avec le couvercle de la boîte de pétri.

[Saccharose] mM	[ABA] µM
250	0
100	10
30	50
	100
	250
	500

Tableau 3. Gamme de saccharose et d'acide abscissique utilisées pour enrichir les milieux MS. Chaque concentration en saccharose a été testée avec chaque concentration en ABA, soit 18 milieux différents au total.

Figure 6. Culture des nœuds in-vitro. Les nœuds défeuillés sont disposés dans la fosse creusée dans chaque boîte de pétri, formant un pont entre chaque moitié de gel du milieu de culture.

4.2.2 Analyse des données des cinétiques de débourrement des nœuds cultivés in-vitro

Une cinétique de débourrement est tracée pour chaque bourgeon. On observe deux phases de croissance pour les bourgeons qui débourrent : une première phase de croissance lente (phase1), pendant laquelle le bourgeon gonfle progressivement, puis une phase de croissance exponentielle (phase2) correspondant surtout à l'ouverture progressive des premières feuilles. Chaque phase est modélisée par une régression linéaire de type $F_{phaseX}(T) = \log(longueur)$. Trois variables sont extraites des cinétiques de débourrement : le taux de débourrement (bud burst rate, %), la vitesse de débourrement (bud elongation rate, mm/day), le délai avant débourrement (lag-time, days). Un bourgeon est considéré comme débourré lorsque (1) sa vitesse de débourrement a atteint à un moment donné au moins la vitesse d'élongation minimale de 1,12 mm/jour, et (2) que sa taille finale est au moins égale à deux fois sa taille initiale. Le délai avant débourrement correspond au T qui résout $F_{phase1}(T) = F_{phase2}(T)$; et le taux de débourrement calculé pour une boîte de pétri est le rapport entre le nombre de nœuds présentant un débourrement et la quantité de nœuds mis en culture. Des tests bilatéraux de Student permettent de révéler les différences significatives. Cette procédure d'analyse a été développée et standardisée par Bertheloot et Barbier (communication personnelle), membres de l'équipe Arch-E.

5 Résultats

5.1 Une restriction hydrique affecte le développement des jeunes rosiers

La culture de rosiers en restriction hydrique ralentit significativement le développement de l'axe d'ordre 1 : les rosiers **RR** en restriction prolongée demandent en moyenne +8,9 % de degrés jours pour se développer du stade « débourrement de la bouture » au stade « fleur fanée » (Figure 7). La réhydratation des rosiers **RC** au stade CPV ne leur permet de rattraper que partiellement leur retard de développement, avec +6,9 % de degrés jours nécessaires pour la même période par rapport aux rosiers **CC**. La morphologie des rosiers **RR** et **RC** est également modifiée par rapport aux rosiers **CC** : les mesures réalisées au stade CPV montrent des réductions du diamètre mesuré à la base de la tige (- 15%) (Tableau 4), ainsi qu'une réduction des longueurs des folioles terminales des zones apicales (- 30%) et médianes (-20%) (Tableau 4). En revanche aucune différence n'est constatée entre modalités pour la longueur de la foliole terminale des feuilles de la zone basale.

Variable	Position sur la tige	CC	RC	RR
Longueur moyenne de la foliole terminale (mm) ± erreur type (groupe statistique)	Apicale	67,1 ± 3,0 (a)	44,1 ± 2,7 (b)	49,6 ± 2,3 (b)
	Médiane	58,9 ± 1,2 (a)	48,7 ± 1,1 (b)	47,5 ± 1,1 (b)
	Basale	35,8 ± 4,2 (a)	34,6 ± 3,8 (a)	38,4 ± 0,7 (a)
Diamètre à la base de l'axe d'ordre 1 au stade CPV		3,1 ± 0,3 (a)	2,6 ± 0,3 (b)	2,7 ± 0,2 (b)

Tableau 4. Conséquences de la restriction hydrique mesurées au stade CPV, sur la longueur des folioles terminales des feuilles et sur le diamètre à la base de l'axe d'ordre 1. CC, rosiers cultivés constamment en confort hydrique ; **RR**, rosiers cultivés constamment en restriction hydrique ; **RC**, rosiers cultivés en restriction hydrique puis réhydratés au stade CPV. Les lettres indiquent les différences significatives entre les modalités de régime d'irrigation, révélées par le test bilatéral de Student. n= 10 plantes par modalité.

Ces modifications morphologiques sont accompagnées d'une réduction de la transpiration foliaire : la conductance stomatique au stade CPV est réduite d'environ 70 % pour les rosiers **RC** et **RR** par rapport aux rosiers **CC** (Figure 8 B). La réhydratation des rosiers **RC** leur permet de diminuer leur déficit moyen de transpiration à seulement 37 % tandis que les rosiers **RR** maintiennent un déficit de moyen de 66 %. L'étude de la corrélation entre la conductance stomatique et le rayonnement PAR montre que pour les mesures réalisées entre le stade CPV et CPV+4 jours, la transpiration des rosiers **CC** est relativement bien corrélée au PAR, alors qu'aucune corrélation au PAR n'est constatée pour les rosiers **RR** et **RC**, malgré la réhydratation totale du substrat des rosiers **RC** (Figure 8 A).

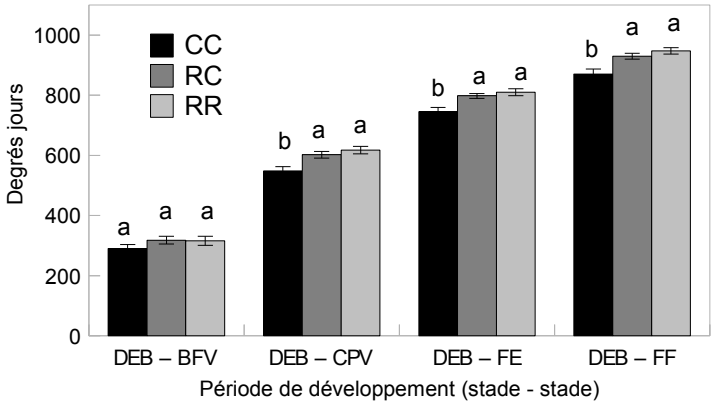


Figure 7. Conséquences de la restriction hydrique sur la cinétique de développement de l'axe d'ordre 1. DEB, débourrement de la bouture ; BFV, bouton floral visible ; CPV, couleur des pétales visible ; FE, fleur épanouie ; FF, fleur fannée. **CC**, rosiers cultivés constamment en confort hydrique ; **RR**, rosiers cultivés constamment en restriction hydrique ; **RC**, rosiers cultivés en restriction hydrique puis réhydratés au stade CPV. Les lettres indiquent les différences significatives entre les modalités de régime d'irrigation, révélées par le test bilatéral de Student. n = 10 plantes par modalité.

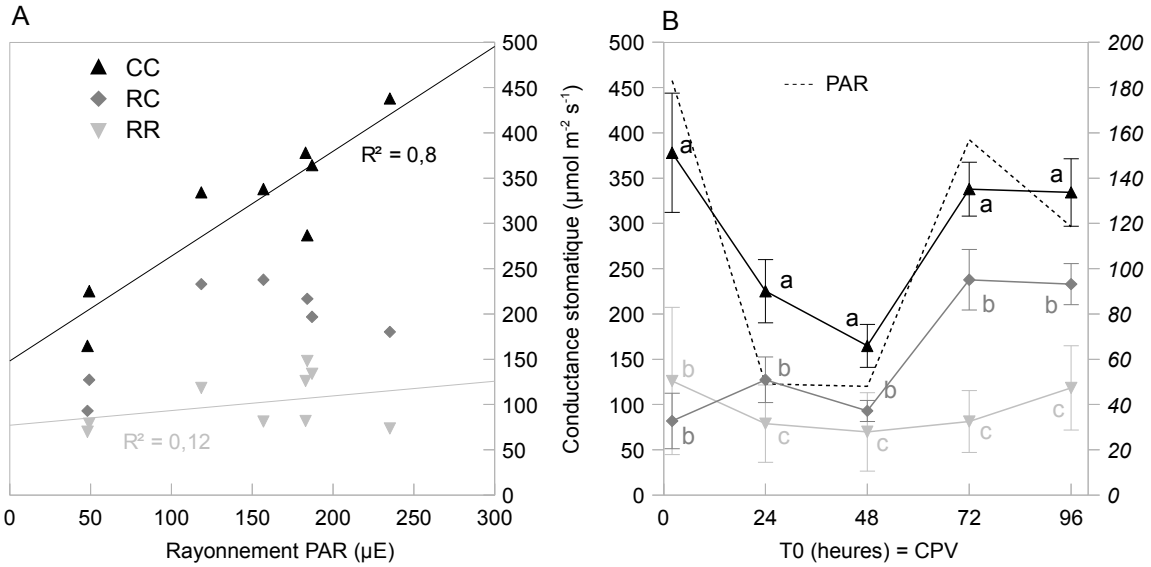


Figure 8. Suivi de la conductance stomatique des rosiers CC, RC, RR de T0=CPV à T+96h. (A) Relation entre le rayonnement PAR et la conductance stomatique des rosiers, mesurés 1 fois par jour le matin pendant 4 jours après le stade CPV ; (B) Evolution de la conductance stomatique et du PAR mesurés 1 fois par jour le matin pendant 4 jours après le stade CPV. **CC**, rosiers cultivés constamment en confort hydrique ; **RR**, rosiers cultivés constamment en restriction hydrique ; **RC**, rosiers cultivés en restriction hydrique puis réhydratés au stade CPV. Les lettres indiquent les différences significatives révélées par le test bilatéral de Student. n = 7 plantes par modalité.

Nous avons observé que les rosiers forment leur bouton floral terminal de l'axe d'ordre 1 (stade BFV) environ 15 jours après le débourrement du bourgeon de la bouture racinée. A partir de ce stade, les bourgeons apicaux débourrent assez rapidement chez les rosiers **CC** : leur taux de débourrement atteint 44 % au stade CPV, puis 74 % à CPV+14 jours (Figure 9). Les bourgeons médians de ces rosiers débourrent quant à eux beaucoup plus tardivement et en bien plus faible proportion, avec 16 % de débourrement à CPV+14 jours. Chez les rosiers **RR** (cultivés en restriction hydrique) le débourrement est globalement inhibé sur l'ensemble de l'axe, avec des taux de débourrement à CPV+14 jours de seulement 12,5 % pour les bourgeons apicaux et 4,5 % pour les bourgeons médians. Le comportement des bourgeons

chez les rosiers **RC** est remarquable, car on observe de nombreux débourrements qui commencent environ 7 jours après la réhydratation qui a lieu au stade CPV. L'observation à CPV+7 jours indique 30 % de débourrements en zone apicale, 20 % en zone médiane et 6 % en zone basale. A CPV+14 jours, ces ratios montent respectivement à 61 %, 73 % et 28 %. La réhydratation a donc permis de stimuler fortement le débourrement le long de l'axe d'ordre 1, parvenant même à lever la dormance des bourgeons basaux maintenue chez les rosiers **CC** et **RR**.

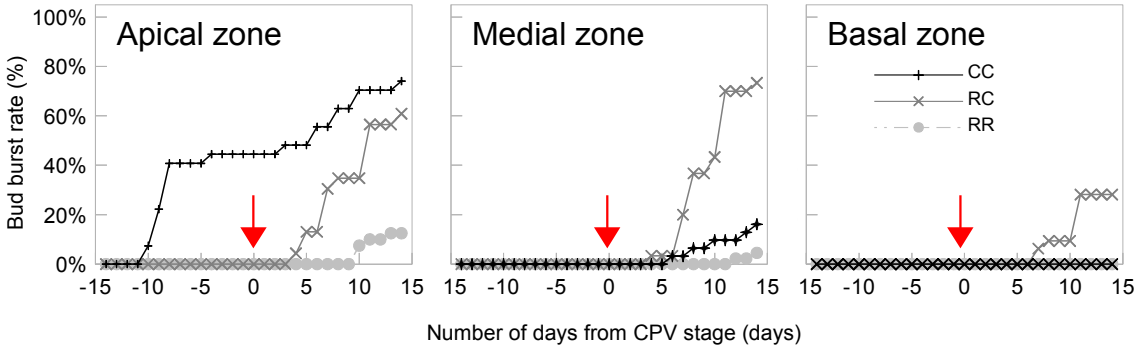


Figure 9. Cinétique de débourrement des bourgeons de l'axe d'ordre 1, selon leurs positions sur cet axe. CC, rosiers cultivés constamment en confort hydrique ; **RR**, rosiers cultivés constamment en restriction hydrique ; **RC**, rosiers cultivés en restriction hydrique puis réhydratés au stade CPV. La flèche rouge indique le stade de réhydratation des rosiers **RC**. n = 8 à 10 plantes pour chaque modalité.

La restriction hydrique inhibe donc presque totalement le débourrement des bourgeons des rosiers **RR**. La décapitation au stade CPV de ces rosiers en restriction hydrique montre que la dormance induite par la restriction hydrique peut être levée si la tige est sectionnée (Tableau 5).

	Taux de débourrement (%) ± erreur type		Délai avant débourrement (jours) ± erreur type	
Position du bourgeon	**CC**	**RR**	**CC**	**RR**
1	100 ± 0 (a)	100 ± 0 (a)	3,9 ± 0,6 (a)	5,4 ± 0,5 (a)
2	100 ± 0 (a)	78 ± 14 (a)	6,2 ± 0,6 (a)	8,0 ± 0,8 (a)
3	80 ± 13 (a)	33 ± 16 (b)	7,5 ± 0,8 (a)	7,7 ± 1,5 (a)
4	20 ± 13 (a)	22 ± 14 (a)	7,0 ± 1,0 (a)	6,5 ± 0,5 (a)
5	10 ± 9 (a)	0 ± 0 (a)		

Tableau 5. Impact d'une décapitation sur le débourrement des bourgeons de rosiers cultivés en confort ou en restriction hydrique. Les bourgeons sont repérés par une position allant de 1 (bourgeon sous la zone sectionnée) à 5 (bourgeon le plus basal). Les lettres indiquent les différences significatives entre modalités de régime d'irrigation révélées par le test bilatéral de Student.

Contrairement aux résultats escomptés, l'l'application du NPA n'a pas permis de lever l'inhibition des bourgeons dormants médians des rosiers cultivés en confort (données non présentées). Le témoin positif étant invalidé, les observations de l'application de NPA réalisées sur les rosiers en restriction hydrique sont également invalidées.

L'ensemble du profilage biochimique des rosiers, commandé auprès de la plateforme de profilage métabolomique (P2M2) de l'INRA de Rennes, n'a pas pu être mené dans les délais impartis du fait de problèmes techniques survenus durant l'été sur la chaîne d'analyse. L'absence de ces résultats clés, dont l'annulation est survenue à la fin du mois d'août, nous obligera à nous contenter des données issues de la littérature pour ce mémoire.

5.2 Des voies moléculaires à approfondir

A ce stade des expérimentations, deux hypothèses se dessinent pour expliquer le comportement des bourgeons en plante entière :

- l'inhibition du débourrement chez les rosiers RR passe par des voies probablement différentes de celles de l'inhibition observée chez les rosiers CC,

- les bourgeons des rosiers RR se « préparent » à débourrer en attendant que les conditions d'irrigation redeviennent favorables.

Il est alors intéressant de mener une approche moléculaire pour mettre en évidence des différences qui pourraient amener des pistes de reflexion vis à vis de ces deux hypothèses. Le protocole prévoyait de réaliser l'analyse moléculaire dans les tiges et bourgeons médians au stade CPV, puis dans les tiges seulement à différents timing après la réhydratation. Malheureusement, seuls les ARNs totaux des bourgeons médians CC et RR au stade CPV ont pu être extraits. Nous avons quantifié l'expression de gènes marqueurs de la dormance des bourgeons (*BRC1*, *DRM1*), sensibles à la présence d'auxine (*MAX2*, *IPT5*, *PIN*), liés à la synthèse d'auxine (*TAA*, *Yucca*), à la dégradation des gibbérellines (*Ga2ox*), à la synthèse d'ABA (*XERICO*) ou de cytokinines (*IPT5*) ainsi qu'un gène lié à la dégradation du saccharose en fructose et glucose (*Vi1*).

La quantification de l'expression de ces différents gènes ne montre que peu de différences. Seul le gène *IPT5* est trois fois plus exprimé dans les bourgeons dormants des rosiers en restriction hydrique que dans les bourgeons des rosiers en confort hydrique (Figure 10). Le gène *PIN* semble quant à lui être deux fois moins exprimé dans les rosiers en restriction, sans que l'on puisse être certain de la significativité de ce résultat étant donnée l'absence de répétitions biologiques.

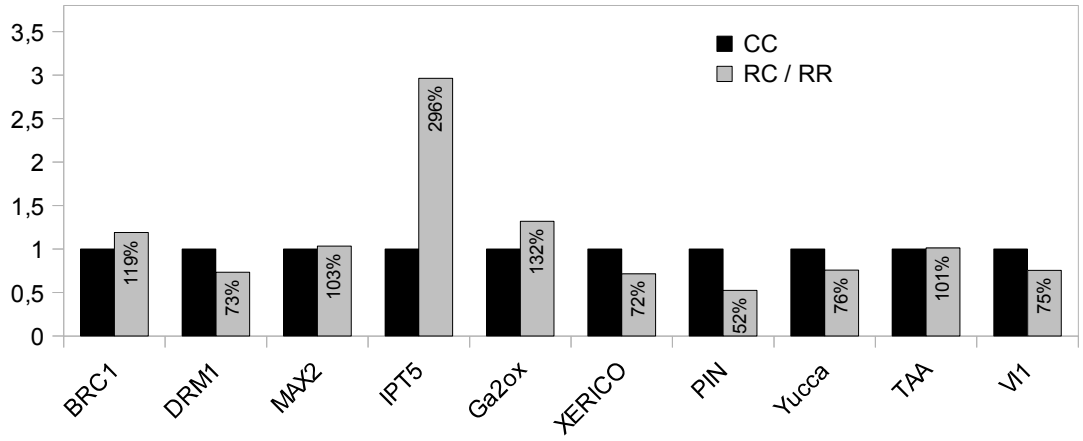


Figure 10. Expressions au stade CPV de gènes susceptibles d'intervenir dans la régulation du débourrement des bourgeons médians dormants de rosiers cultivés en confort et en restriction hydrique. Barres noires, bourgeons de rosiers CC ; barres grises, bourgeons de rosiers RR. Les échantillons sont constitués d'un pool de bourgeons prélevés au stade CPV sur au moins 8 plantes.

5.3 Le saccharose module l'effet inhibiteur de l'ABA sur le débourrement

Le postulat prévoyant que l'ABA soit un acteur dans le blocage du débourrement à travers l'augmentation de sa teneur dans la tige a été testé par le modèle de noeuds cultivés in vitro. Nous avons analysé l'effet d'une gamme d'ABA de 0 à 500µM sur le taux de débourrement, le délai avant débourrement et la vitesse d'élongation de bourgeons cultivés sur un milieu MS contenant 30mM de saccharose. L'ABA est capable d'inhiber totalement le débourrement à partir de 100µM (Figure 11 A), et dès 50µM on constate une légère baisse du taux de débourrement. On note par ailleurs que la vitesse d'élongation des bourgeons est peu affectée par la concentration en ABA du milieu (Figure 11 C), tandis qu 'une relation entre la quantité d'ABA et le délai avant débourerment (lag-time) est difficile à mettre en évidence (Figure 11 B).

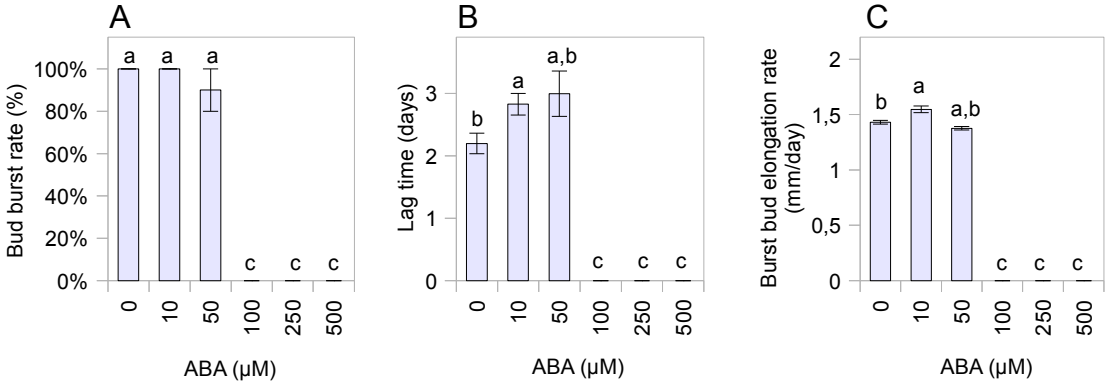


Figure 11. Noeuds de *Rosa hybrida* 'Radrazz' cultivés in-vitro sur milieu MS + saccharose 30mM + gamme d'ABA. (A) Taux de débourrement des bourgeons ; (B) Délai avant le débourrement des bourgeons qui ont débourrés ; (C) Vitesse d'élongation des bourgeons qui ont débourrés. n = 10 à 11 nœuds par boîte de pétri. Les lettres indiquent les différences significatives du facteur [ABA] révélées par le test bilatéral de Student.

L'ABA est ainsi capable d'inhiber totalement le débourrement. Une seconde hypothèse de travail est que l'équilibre entre les concentrations en sucres disponibles et les concentrations en ABA de la tige interviennent dans la régulation du débourrement. Le croisement d'une gamme de saccharose avec la gamme d'ABA précédemment testée permet d'apporter des éléments de réponse à ce postulat. On observe tout d'abord que le fait d'augmenter la teneur en saccharose dans le milieu permet de lever l'inhibition exercée par l'ABA : sur un milieu à 100µM d'ABA, les bourgeons ne sont pas capables de débourrer avec un apport de 30mM de saccharose, alors qu'ils débourrent si la concentration en saccharose est portée à 100 ou 250 mM (Figure 12-A). Plus la concentration en ABA augmente, plus l'effet antagoniste du saccharose est atténué : sur un milieu à 250 µM d'ABA la levée de l'inhibition par des teneurs en saccharose de 100 mM ou 250 mM n'est que partielle (91% et 27% de taux de débourrement respectivement) (Figure 12-A). Il y a donc clairement un effet antagoniste du saccharose sur l'inhibition exercée par l'ABA. Par ailleurs, sur les milieux à 100 mM et 250 mM de saccharose, on voit que le délai avant débourrement et la vitesse d'élongation des bourgeons sont tous deux corrélés, respectivement positivement et négativement, à la concentration en ABA du milieu (Figure 12-B et Figure 12-C). Ainsi lorsque la concentration en ABA augmente dans le milieu, le taux de débourrement diminue, de même que la vitesse d'élongation des bourgeons, et le délai avant le débourrement augmente.

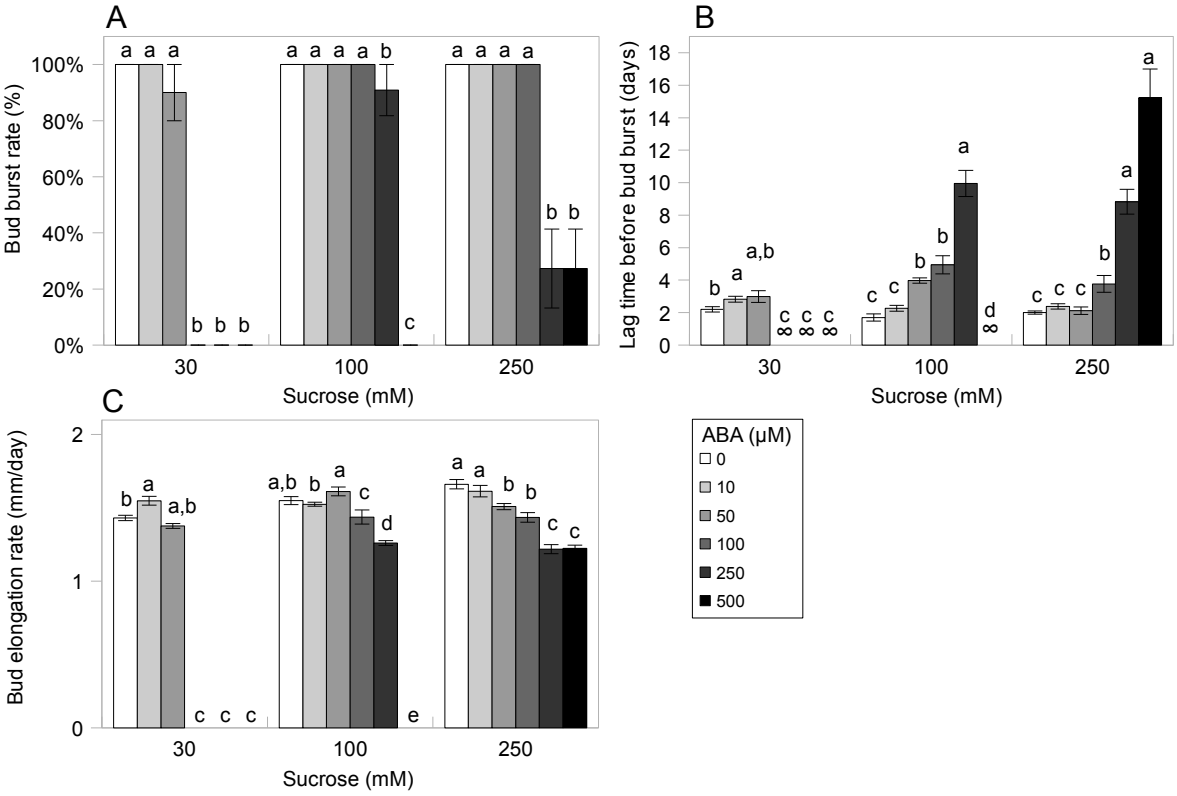


Figure 12. Noeuds de *Rosa hybrida* 'Radrazz' cultivés in vitro sur milieu MS + gamme de saccharose + gamme d'ABA. (A) Taux de débourrement des bourgeons ; (B) Délai avant le débourrement des bourgeons qui ont débourrés ; (C) Vitesse d'élongation des bourgeons qui ont débourrés. n = 10 à 11 nœuds par boîte de pétri. Les lettres indiquent les différences significatives du facteur [ABA] révélées par le test bilatéral de Student; les barres indiquent les erreurs types.

Concernant le saccharose, il est difficile de déceler un effet dose sur la cinétique d'élongation des bourgeons ou sur le taux de débourrement. Nous constatons que la teneur en saccharose nécessaire pour lever l'inhibition exercée par l'ABA augmente avec la concentration en ABA du milieu (Figure 13-A). Or l'augmentation de la teneur en saccharose au delà du seuil de levée de l'inhibition ne permet pas d'augmenter de façon dose-dépendante la vitesse d'élongation ou de diminuer le délai avant le débourrement (Figure 13-B et Figure 13-C).

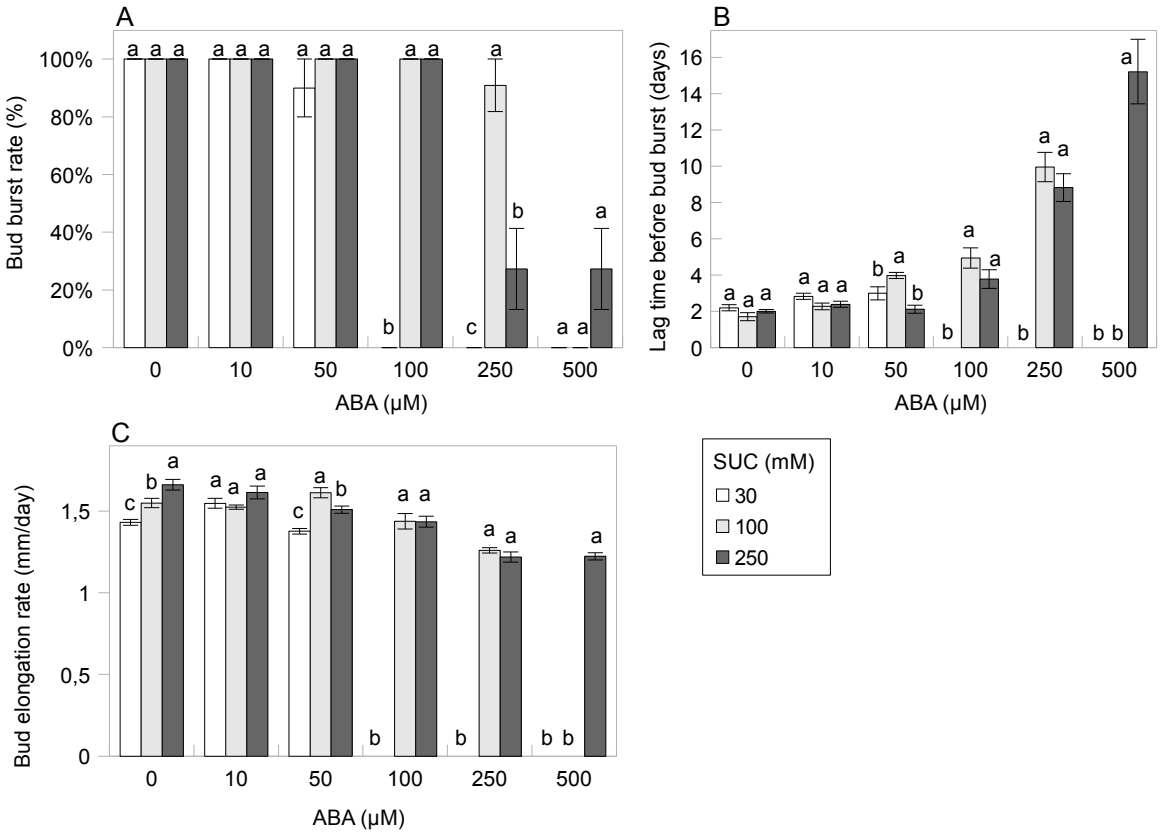


Figure 13. Noeuds de *Rosa hybrida* 'Radrazz' cultivés en in vitro sur milieu MS + gamme de saccharose + gamme d'ABA. (A) Taux de débourrement des bourgeons ; (B) Délai avant le débourrement des bourgeons qui ont débourrés ; (C) Vitesse d'élongation des bourgeons qui ont débourrés. n = 10 à 11 nœuds par boîte de pétri. Les lettres indiquent les différences significatives du facteur [SUC] révélées par le test bilatéral de Student; les barres indiquent les erreurs types.

Puisque le débourrement est régulé à la fois par la teneur en saccharose et la teneur en ABA, il y a vraisemblablement interaction entre les deux molécules. Afin de mettre en évidence l'existence d'un niveau seuil de teneur relative en ABA et en saccharose permettant de déclencher les processus de débourrement, les données ont été traitées en analysant l'évolution des trois variables de débourrement étudiées avec le ratio : $\log\left(\frac{SUC(mM)}{ABA(\mu M)}\right)$ (Figure 14). Le seuil d'interaction entre le saccharose et l'ABA devient alors évident : au dessus d'un seuil qui semble compris dans l'intervalle [1.6 ; 2.7] mM de saccharose par µM d'ABA, le débourrement est à la fois fortement stimulé (Figure 14-A) et se fait très tôt, en moins de 4 jours (Figure 14-C). La vitesse d'élongation est assez peu sensible aux variations du rapport entre la quantité de saccharose et d'ABA (Figure 14-B), par rapport aux variations observées pour les autres paramètres. Pour vérifier si le saccharose agit en tant que molécule signal sur le débourrement, nous nous sommes affranchis des bénéfices trophiques apportés par sa métabolisation en testant l'effet sur le débourrement du lactulose, un analogue non métabolisable du saccharose.

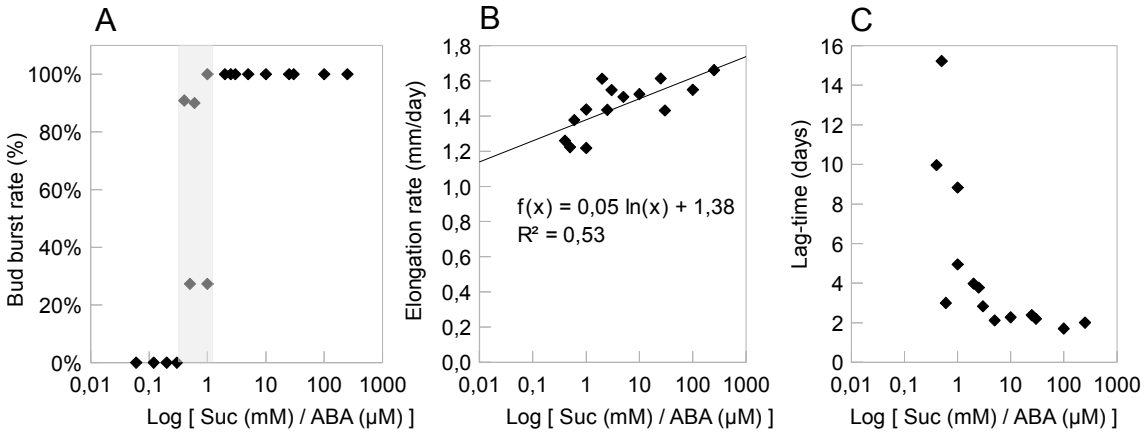


Figure 14. Effet des concentrations relatives en saccharose et ABA sur le débourrement. (A) Taux de débourrement des bourgeons ; (B) Délai avant le débourrement des bourgeons qui ont débourrés ; (C) Vitesse d'élongation des bourgeons qui ont débourrés.

Les résultats obtenus en remplaçant le saccharose par du lactulose révèlent deux points. Premièrement le lactulose est capable de mimer l'effet du saccharose pour le taux de débourrement (Tableau 6) : sur un milieu à 100 µM d'ABA, il n'y a quasiment aucun débourrement observé lorsque la teneur en saccharose ou en lactulose du milieu est de 30 mM : seul 1 bourgeon sur 11 débourre. En revanche, en augmentant la teneur en saccharose à 250 mM le débourrement atteint 100 %, le taux étant similaire (91%) avec 250 mM de lacultose. Deuxièmement, le lactulose induit une augmentation du délai avant débourrement, qui est doublé par rapport aux bourgeons cultivés sur un milieu avec 250 mM de saccharose. Ces résultats montrent que le débourrement en présence de 100µM d'ABA peut donc être modulé par la seule présence du saccharose dans le milieu, sans que sa métabolisation soit nécessaire, bien qu'elle permette d'obtenir un débourrement plus précoce.

[ABA]	[Sucre]	Taux de débourement	Délai avant débourrement (erreur type)
100	Saccharose 30 mM	9,1 % *(b)*	7,8 *(a)* /!\ *n = 1 seul bourgeon*
100	Lactulose 30 mM	9,1 % *(b)*	9,1 *(a)* /!\ *n = 1 seul bourgeon*
100	Saccharose 250 mM	100 % *(a)*	3,8 (0,29) *(b)*
100	Lactulose 250 mM	90,9 % *(a)*	8,3 (0,33) *(a)*

Tableau 6. Effets du saccharose et du lactulose sur le débourrement des bourgeons de noeuds cultivés in-vitro sur milieu MS. Le lactulose est un analogue non métabolisable du saccharose. Le délai avant débourrement est calculé seulement pour les bourgeons qui ont débourrés. Les lettres indiquent les différences significatives du facteur [SUC] révélées par le test bilatéral de Student. n = 11 noeuds cultivés par boîte de pétri.

6 Discussion

Les expérimentations que nous avons menées montrent que le rosier est une espèce sensible à la restriction hydrique, et qu'elle y répond notamment en maintenant ses bourgeons dans un état de dormance tant que l'eau est limitante.

Nous nous sommes donné comme objectif d'apporter les premiers éléments de réponse qui permettent de comprendre les différences existantes entre la dormance induite par l'auxine chez les rosiers cultivés en confort hydrique, et la dormance induite par la restriction hydrique. L'inhibition du débourrement par la restriction hydrique fait vraisemblablement intervenir des acteurs hormonaux (ABA) et glucidiques (saccharose) dont les concentrations sont modifiées dans la plante. Les futures dosages biochimiques dans les bourgeons ainsi que dans la tige des rosiers permettront de mieux caractériser les corrélations existantes entre ce phénotype de dormance et les variations des teneurs hormonales et glucidiques.

Il est intéressant de noter que la réhydratation des rosiers préalablement stressés permet de stimuler le débourrement le long de la tige, dans des proportions bien plus importantes que chez les rosiers cultivés en confort. La compréhension des causes de cette stimulation devrait également nous permettre de mieux comprendre comment une restriction hydrique module le débourrement.

Une restriction hydrique a un impact global sur la croissance et le développement des rosiers.

Face au manque d'eau, les plantes réagissent en réduisant leur croissance et leur développement. Cela maximise leur chance de survie en évitant de maintenir un nombre de zones en croissance trop important, qui sont très sensibles au manque d'eau. Nous avons appliqué un stress hydrique sévère à nos rosiers, puisque le potentiel hydrique mesuré dans le substrat était constamment maintenu entre -18 et -30 kPa. Au seuil de restriction hydrique le plus fort (-30 kPa), un défaut d'arrosage par une journée ensoleillée se traduit après quelques heures par le flétrissement des plantes et un début d'abscission des feuilles. Il était donc attendu que ce traitement de choc provoque d'importantes modifications morphologiques chez les rosiers.

Le diamètre de la tige principale a ainsi été réduit et son développement légèrement retardé, ce qui est cohérent avec les observations couramment associées à une restriction hydrique (Shao et al., 2008). Les rosiers en manque d'eau présentaient également des longueurs de folioles terminales plus petites pour les feuilles des zones apicales et médianes de la tige, ce qui se traduit par une diminution de la surface foliaire totale puisque la corrélation entre ces deux variables a été démontrée chez le rosier (Demotes-Mainard et al., 2009). L'activité transpiratoire des feuilles de rosiers stressés fut largement réduite et n'était plus corrélée au PAR, contrairement aux plantes cultivées en confort hydrique. La baisse d'activité transpiratoire ne s'explique pas seulement par la fermeture des stomates sous l'effet de l'ABA (Quarrie and Jones, 1977), puisque chez l'olivier ou le blé un stress hydrique augmente la densité et diminue la longueur des stomates (Bosabalidis and Kofidis, 2002; Quarrie and Jones, 1977). Dans notre étude, les feuilles des rosiers ont été produites durant la restriction hydrique. Il aurait été judicieux d'observer l'anatomie des stomates des rosiers

pour déterminer si la différence d'activité transpiratoire constatée est en partie constitutive ou non.

Au delà du ralentissement de la croissance et du développement des plantes, le stress hydrique a conduit également à une modification de l'architecture des plantes, notamment par l'inhibition du débourrement le long de la tige. Ce phénomène est courramment observé durant une restriction hydrique (Keim and Kronstad, 1981; Osório et al., 1998; Razmjoo et al., 2008; Spiess et al., 2011; Steinberg et al., 1990). Cependant cette inhibition du débourrement par le manque d'eau n'est pas absolue puisque la décapitation de rosiers maintenus en stress hydrique a conduit malgré tout au débourrement des bourgeons situés sous la blessure. Les bourgeons conservent donc leur capacité à débourrer mais sont maintenus dormants par des signaux qui restent à déterminer.

La dormance des bourgeons axillaires pendant une restriction hydrique pourrait être due à l'action de l'ABA, modulée par le saccharose.

Les dosages hormonaux et glucidiques qui seront réalisés dans les tiges et bourgeons des rosiers permettront de caractériser les variations qui ont lieu durant la restriction hydrique, et de les mettre en relation avec le phénotype observé des bourgeons dormants. Les résutats attendus sont une augmentation de la teneur en ABA et en saccharose de la tige, conformément aux données issues de la bibliographie. Il est en effet bien connu que la restriction hydrique provoque une accumulation importante d'ABA dans l'ensemble des organes de la plante (Zhang et al., 2006). La teneur en sucres augmente également chez les plantes en restriction hydrique (Muller et al., 2011). Par ailleurs de plus en plus d'éléments viennent suggérer un rôle clé des sucres dans la régulation du débourrement (Girault et al., 2010; Kebrom et al., 2012; O'Hara et al., 2012; Rabot et al., 2012; Smeekens et al., 2010).

La culture in vitro des nœuds de rosiers sur des gradients croisés de saccharose et d'ABA a permis de montrer que l'ABA est capable de maintenir les bourgeons dormants ou d'inhiber fortement leur croissance. Nous avons mis en évidence une relation dose-effet de l'ABA sur l'inhibition de la croissance des bourgeons, tandis que le maintien des bourgeons à l'état dormant fait intervenir une notion de seuil de concentration en ABA. Nos observations de l'effet inhibiteur sur le débourrement de l'ABA correspondent à ce qui a été observé sur d'autres modèles de plantes, par exemple chez la tomate (Tucker, 1978) ou le haricot (Tamas et al., 1979). Le deuxième élément clé que nous avons montré est que la teneur en saccharose du milieu est un modulateur de l'effet de l'ABA sur le débourrement. Plus il y a de saccharose dans le milieu, moins l'ABA est efficace pour inhiber le développement des bourgeons ou pour les maintenir dormants. Cette modulation par le saccharose est maintenue en l'absence de sa métabolisation, comme en témoignent les effets similaires obtenus avec son analogue, le lactulose. Ce résultat est novateur car il existe peu de travaux sur les intéractions existantes entre l'ABA et les sucres.

Puisque le ratio *saccharose/ABA* est une composante de la modulation du débourrement en CIV, il semble raisonnable de penser que ces observations in-vitro puissent être transposées à la situation que l'on observe en plante entière, où le ratio *saccharose/ABA* diminue probablement à la faveur d'une augmentation très importante de la teneur en ABA par rapport à celle du saccharose. Là encore, les prochains dosages biochimiques nous permettrons de mieux caractériser les variations réelles en plante entière. Il est toutefois probable que le saccharose ne soit pas le seul sucre capable de moduler l'action de l'ABA. Ce serait facile à démontrer en cultivant des nœuds in-vitro tel que nous l'avons fait, en remplaçant le saccharose par du fructose (et un de ses analogues) ou du glucose (et un de ses

analogues). Si le saccharose n'est pas le seul sucre modulant l'action de l'ABA, il pourrait être alors pertinent d'étudier le ratio *sucres totaux/ABA* dans ces rosiers en restriction hydrique qui présentent un phénotype de bourgeons dormants. Pour compléter ces travaux, il serait judicieux de réaliser des dosages hormonaux et glucidiques sur des tiges et bourgeons de nœuds cultivés in-vitro sur un gradient de *saccharose/ABA*, afin de pouvoir les mettre en parallèle avec les dosages et phénotypes obtenus sur plante entière. Ces investigations permettraient d'approfondir la compréhension de l'écodormance des bourgeons durant une restriction hydrique, notamment en ciblant les métabolites clés de cette régulation.

Nos analyses moléculaires permettent quant à elles de mener une première reflexion sur l'éventuelle différenciation des voies impliquées dans les deux types de dormance : (1) la dormance auxinique pour les rosiers cultivés en confort hydrique, et (2) l'écodormance faisant intervenir en partie au moins l'ABA et le saccharose pour les rosiers en restriction hydrique. Aucune différence d'expression entre modalités n'est constatée pour les gènes *BRC1* et *DRM1*, deux marqueurs forts de la dormance, alors que nous nous attendions à ce qu'ils soient exprimés plus fortement chez les rosiers en restriction hydrique. En effet des gradients dans l'expression de *DRM1* et *BRC1* ont déjà été observés en lien avec le potentiel de débourrement des bourgeons (Kebrom et al., 2006). Il semble pourtant que l'inhibition du débourrement soit plus forte chez les rosiers en restriction hydrique : les bourgeons peuvent être maintenus dormants très longtemps et la levée de dormance suite à une décapitation est également plus tardive. Or cela ne se traduit pas par une augmentation de l'expression de *BRC1* ni de *DRM1*, suggérant que le « niveau » d'inhibition semble similaire entre les deux types de dormance.

L'expérience de décapitation des rosiers, qui a conduit au débourrement des bourgeons situés sous la zone de décapitation pour les rosiers en restriction hydrique, nous conduit à émettre deux hypothèses : (1) si la levée de dormance est due à l'arrêt du flux d'auxine, on peut envisager que la restriction hydrique provoque une dormance bourgeonnaire via une hypersensibilité auxinique des bourgeons, par exemple sous l'action de l'ABA et des sucres. Une deuxième explication, plus plausible, serait (2) que la décapitation provoque une chute de la concentration en ABA sous la zone de décapitation (Everat-Bourbouloux and Charnay, 1982), rétablissant ainsi un ratio *sucres/ABA* favorable au débourrement des bourgeons. Parmi les gènes dont nous avons quantifé l'expression, le gène *MAX2* est impliqué dans la voie de signalisation des strigolactones (elle même finement régulée par l'auxine) mais ne montre aucune différence entre les modalités. En revanche, le gène *PIN* semble être sous exprimé dans les rosiers en restriction hydrique. Les protéines PIN, une fois qu'elles sont polarisées dans les cellules, permettent l'export de l'auxine des bourgeons vers la tige. Ce résultat permet de dessiner une troisième hypothèse, non exclusive avec les deux précédentes, qui serait que la dormance observée pourrait être lié à l'incapacité des bourgeons à exporter leur auxine pendant la restriction hydrique, par exemple sous l'effet de l'ABA. Ce postulat permettrait notamment d'expliquer l'expérimentation de Tucker en 1978, où des plants de tomates traités au TIBA (un inhibiteur du transport d'auxine) voient leurs bourgeons débourrer sous la zone d'application du TIBA, mais où ce débourrement est inhibé si de l'ABA est appliqué sur les bourgeons (Tucker, 1978). Les futurs dosages d'auxine dans la tige et les bourgeons en plante entière permettront une fois de plus de mieux corréler l'évolution de la teneur de ces métabolites aux phénotypes en plante entière et aux variations moléculaires observées.

Nous avons réalisé un premier examen prospectif de quelques gènes impliqués dans la biosynthèse d'hormones. La surexpression dans les bourgeons des rosiers en restriction

hydrique du gène *IPT5*, faisant partie de la voie de biosynthèse des cytokinines, n'était pas un résultat attendu. D'après la littérature, une restriction hydrique conduirait plutôt à une baisse ou à un maintien de la concentration en cytokinines dans la partie caulinaire des plantes (Granda et al., 2011; Hare et al., 1997). Il faudrait confirmer par des dosages que cette stimulation du gène *IPT5* se traduit par une augmentation de la concentration en cytokinines, mais à ce stade des recherches nous pouvons émettre deux hypothèses : premièrement il peut s'agir d'un signe d'une utilisation accrue des cytokinines par les bourgeons des rosiers en restriction. On sait que les cytokinines sont impliquées dans la maintenance des cellules méristématiques (Werner and Schmülling, 2009). Il se pourrait alors que la surexpression observée ait pour but de limiter d'éventuels dégâts causés par les potentiels hydriques faibles. En effet l'application exogène de zeatin (une des nombreuses formes de cytokinines) ou de gibbérellines$_3$ sur des plants de maïs soumis à un stress hydrique permet de diminuer les dommages cellulaires causés par un stress hydrique (Wang et al., 2008). Une deuxième explication à la sous-expression de *IPT5* chez les rosiers cultivés en confort serait simplement que les bourgeons de ces rosiers subissent la dominance apicale via la voie auxinique, connue pour réprimer les gènes *IPT* (Tanaka et al., 2006). Cela serait logique puisque les rosiers cultivés en confort ont des axes apicaux en cours de croissance, qui sont probablement des sources importantes d'auxines. Les dosages d'auxine de la tige et des cytokinines dans les bourgeons permettront facilement de trancher entre ces deux hypothèses.

Pour le reste des gènes, les faibles variations rendent le jugement délicat en raison de l'absence de répétitions biologiques des mesures. Toutefois, le gène *Ga2ox* semble légèrement surexprimé dans les bourgeons en restriction hydrique. *Ga2ox* est un gène de catabolisme des gibbérellines, dont l'expression diminue chez les bourgeons de rosiers dont la dormance est levée (Choubane et al., 2012). Le gène *Xerico* est impliqué dans la synthèse de l'ABA et semble quant à lui sous-exprimé dans les bourgeons des rosiers en stress. Les dosages hormonaux permettront de savoir si cela est associé à une baisse de la concentration en ABA, ce qui serait inattendu. Enfin concernant le gène *VI1*, codant pour une invertase vacuolaire, il semble sous-exprimé dans les bourgeons en restriction hydrique. Ceci est intéressant puisque cela pourrait traduire une moindre capacité du bourgeon à utiliser les réserves de la tige. Mais d'avantage d'analyses sont nécessaires pour pouvoir émettre des hypothèses plus ettayées.

Les sucres interviendraient dans la stimulation du débourrement après une réhydratation

Les rosiers qui sont réhydratés après une période de restriction hydrique importante montrent une stimulation forte du débourrement le long de la tige, bien supérieure au débourrement observé chez les rosiers cultivés classiquement. Cette stimulation intervient environ 5 à 7 jours après la réhydratation. Ce résultat pose la question de savoir si le phénomène à l'origine de la stimulation du débourrement se prépare durant la restriction hydrique, ou bien seulement au moment de la réhydratation.

Notre hypothèse est que la hausse rapide du ratio *sucres/ABA* est suffisante pour envoyer un signal stimulateur provoquant le débourrement des bourgeons. En effet il est probable que le rosier en restriction hydrique accumule une quantité importante de sucres, dont une partie est stockée dans la tige. Les prochains dosages hormonaux et glucidiques de la tige nous permettront d'asseoir ou d'infirmer cette hypothèse, puisque nous recevrons prochainement les résultats d'une cinétique d'évolution de la teneur en ABA et glucides sur une durée de 5 jours après la réhydratation. Les résultats attendus sont une chute rapide de la teneur en

ABA, telle qu'elle a été souvent observée moins de 24h après la réhydratation : c'est le cas chez le pois (*Pisum sativum*) (Dörffling et al., 1974), chez le manioc (*Manihot esculenta*) (Alves and Setter, 2000), ou encore chez l'arabette (*Arabidopsis thaliana*) (Huang et al., 2008). Nous nous attendons également à ce que cette chute de la teneur en ABA soit associée à une baisse plus progressive de la teneur en sucres, notamment du fait de la remobilisation des réserves présentes dans la tige et de la récupération progressive du plein potentiel de photosynthèse des feuilles.

Pour vérifier si la seule modification du ratio *sucres/ABA* peut être à l'origine de la stimulation du débourrement en plante entière, il serait intéressant de comparer ce ratio mesuré dans la tige en plante entière environ 3 jours après la réhydratation, aux ratios mesurés dans la tige de nœuds cultivés in-vitro. Cela nécessite préalablement de réaliser un profilage biochimique des tiges des nœuds en CIV pour obtenir des correspondances entre les (1) doses en ABA et saccharose des milieux de culture, (2) les doses présentes dans la tige et (3) le phénotype des bourgeons ainsi cultivés (débourrement / dormance). De tels éléments de comparaison permettraient d'apporter un argument fort à notre hypothèse.

Toutefois il est probable que d'autres métabolites stimulés par la réhydratation des rosiers stressés puissent intervenir dans l'augmentation du débourrement en plante entière. C'est le cas de l'auxine ou des cytokinines. Nous avons ainsi postulé que sous l'effet de la restriction hydrique, la force puit auxinique de la tige puisse décroître à cause de la plus faible activité des zones en croissance, productrices d'auxines. Un tel phénomène aurait pour conséquence de faciliter l'export de l'auxine des bourgeons, et pourrait ainsi constituer le processus par lequel les bourgeons se « préparent » à débourrer en attendant la réhydratation. Les dosages hormonaux dans les tiges et bourgeons devraient permettre de valider ou d'infirmer cette hypothèse. Cependant la sous expression des gènes *PIN* dans les bourgeons durant une restriction hydrique est un premier élément vers un rejet de ce postulat. Enfin les cytokinines peuvent stimuler le débourrement via leur synthèse dans la tige puis leur export vers le bourgeon. Des dosages seront nécessaires pour vérifier l'évolution de la teneur en cytokinines après une réhydratation, puisque les données de la littérature sont ambigües à ce sujet. Certaines études rapportent que la réhydratation ne provoque pas de stimulation importante de la production de cytokinines (Bano et al., 1993, 1994), alors que d'autres montrent au contraire une stimulation de la production de certaines cytokinines (Hansen and Dörffling, 2003).

7 Conclusion et perspectives

La restriction hydrique est l'un des facteurs les plus limitants pour les cultures à l'échelle mondiale. Son influence sur le potentiel de débourrement des bourgeons en fait un sujet d'étude de choix, pour espérer améliorer le rendement des cultures dans les environnements où l'irrigation est un enjeu majeur du fait de stress hydriques nombreux mais d'intensités modérées. Nos travaux poursuivent ainsi l'objectif de mieux comprendre les mécanismes par lesquels la restriction hydrique inhibe le débourrement des bourgeons végétatifs. En ciblant les métabolites clés de cette régulation ainsi que leurs voies d'action, nous pourrons mettre à disposition des sélectionneurs les connaissances nécessaires pour mieux raisonner l'amélioration variétale des cultures.

Nous avons donc axé nos recherches sur les voies de signalisation par lesquelles la restriction hydrique inhibe le débourrement, en comparant deux types de dormance observée en position médiane de la tige : la dormance des bourgeons de rosiers cultivés en confort hydrique et celle observée chez les bourgeons des rosiers cultivés en restriction hydrique.

La combinaison des modèles d'étude *plante entière* et de *nœuds cultivés in-vitro* nous a permis de créer des liens tout à fait intéressants pour faciliter la transposition des résultats aux différentes études de la littérature. Cette démarche de biologie intégrative nous a donné des résultats novateurs qui ne demandent qu'à être approfondis.

Nous avons montré que le débourrement est inhibé chez des rosiers cultivés en restriction hydrique prolongée, et qu'il est en revanche fortement stimulé après une réhydratation. Nous avons mis en évidence l'action antagoniste et signale du saccharose sur l'inhibition exercée par l'ABA sur le débourrement. Les premières analyses moléculaires des bourgeons laissent à penser que l'inhibition du débourrement durant une restriction hydrique se ferait via une moindre capacité des bourgeons à exporter leur auxine. Bien que la diminution de l'expression des invertases dans le bourgeon restent à confirmer, cela pourrait traduire une plus faible capacité du bourgeon à détecter les variations de concentrations en sucres dans la tige. Nos prochaines analyses biochimiques et hormonales permettront d'affiner nos hypothèses, mais nos résultats nous amènent à de nouvelles questions scientifiques :

La restriction hydrique affecte-telle la perception par le bourgeon dormant des concentrations en sucres présentes dans la tige ?

La restriction hydrique bloque-t-elle le débourrement en empêchant le bourgeon dormant d'exporter son pool d'auxine ? Si c'est le cas, comment s'exerce l'action de l'ABA sur les protéines PIN ?

8 Bibliographie

Aguilar-Martínez, J.A., Poza-Carrión, C., and Cubas, P. (2007). Arabidopsis BRANCHED1 acts as an integrator of branching signals within axillary buds. The Plant Cell Online *19*, 458–472.

Alves, A.A.C., and Setter, T.L. (2000). Response of Cassava to Water Deficit: Leaf Area Growth and Abscisic Acid. Crop Science *40*, 131–137.

Balla, J., Kalousek, P., Reinöhl, V., Friml, J., and Procházka, S. (2011). Competitive canalization of PIN-dependent auxin flow from axillary buds controls pea bud outgrowth. The Plant Journal *65*, 571–577.

Bano, A., Dorffling, K., Bettin, D., and Hahn, H. (1993). Abscisic Acid and Cytokinins as Possible Root-to-Shoot Signals in Xylem Sap of Rice Plants in Drying Soil. Functional Plant Biol. *20*, 109–115.

Bano, A., Hansen, H., Dörffling, K., and Hahn, H. (1994). Changes in the contents of free and conjugated abscisic acid, phaseic acid and cytokinins in xylem sap of drought stressed sunflower plants. Phytochemistry *37*, 345–347.

Barthélémy, D., and Caraglio, Y. (2007). Plant Architecture: A Dynamic, Multilevel and Comprehensive Approach to Plant Form, Structure and Ontogeny. Ann Bot *99*, 375–407.

Bennett, T., Sieberer, T., Willett, B., Booker, J., Luschnig, C., and Leyser, O. (2006). The Arabidopsis MAX Pathway Controls Shoot Branching by Regulating Auxin Transport. Current Biology *16*, 553–563.

Bonhomme, M., Peuch, M., Ameglio, T., Rageau, R., Guilliot, A., Decourteix, M., Alves, G., Sakr, S., and Lacointe, A. (2010). Carbohydrate uptake from xylem vessels and its distribution among stem tissues and buds in walnut (*Juglans regia L.*). Tree Physiol. *30*, 89–102.

Bosabalidis, A.M., and Kofidis, G. (2002). Comparative effects of drought stress on leaf anatomy of two olive cultivars. Plant Science *163*, 375–379.

Boumaza, R., Demotes-Mainard, S., Huche-Thelier, L., and Guerin, V. (2009). Visual Characterization of the Esthetic Quality of the Rosebush. Journal of Sensory Studies *24*, 774–796.

Boumaza, R., Huché-Thélier, L., Demotes-Mainard, S., Coz, E.L., Leduc, N., Pelleschi-Travier, S., Qannari, E.M., Sakr, S., Santagostini, P., Symoneaux, R., V., Guérin. (2010). Sensory profiles and preference analysis in ornamental horticulture: The case of the rosebush. Food Quality and Preference *21*, 987–997.

Boyer, J.S., and Westgate, M.E. (2004). Grain yields with limited water. J. Exp. Bot. *55*, 2385–2394.

Chatfield, S.P., Stirnberg, P., Forde, B.G., and Leyser, O. (2000). The hormonal regulation of axillary bud growth in Arabidopsis. The Plant Journal *24*, 159–169.

Chaves, M.M. (1991). Effects of Water Deficits on Carbon Assimilation. J. Exp. Bot. *42*, 1–16.

Choubane, D., Rabot, A., Mortreau, E., Legourrierec, J., Péron, T., Foucher, F., Ahcène, Y., Pelleschi-Travier, S., Leduc, N., Hamama, L., S., Sakr. (2012). Photocontrol of bud burst involves gibberellin biosynthesis in *Rosa sp.* Journal of Plant Physiology *169*, 1271–1280.

Crawford, S., Shinohara, N., Sieberer, T., Williamson, L., George, G., Hepworth, J., Muller, D., Domagalska, M.A., and Leyser, O. (2010). Strigolactones enhance competition between shoot branches by dampening auxin transport. Development *137*, 2905–2913.

Creelman, R.A., Mason, H.S., Bensen, R.J., Boyer, J.S., and Mullet, J.E. (1990). Water Deficit and Abscisic Acid Cause Differential Inhibition of Shoot versus Root Growth in Soybean Seedlings Analysis of Growth, Sugar Accumulation, and Gene Expression. Plant Physiol. *92*, 205–214.

Decourteix, M., Alves, G., Bonhomme, M., Peuch, M., Ben Baaziz, K., Brunel, N., Guilliot, A., Rageau, R., Ameglio, T., Petel, G., S., Sakr. (2008). Sucrose (JrSUT1) and hexose (JrHT1 and JrHT2) transporters in walnut xylem parenchyma cells: their potential role in early events of growth resumption. Tree Physiol. *28*, 215–224.

Demotes-Mainard, S., Guéritaine, G., Boumaza, R., Favre, P., Guérin, V., Huché-Thélier, L., and Andrieu, B. (2009). Coordinated Development of the Architecture of the Primary Shoot in Bush Rose. (IEEE), pp. 214–221.

Demotes-Mainard, S., Huché-Thélier, L., Morel, P., Boumaza, R., Guérin, V., and Sakr, S. (2013). Temporary water restriction or light intensity limitation promotes branching in rose bush. Scientia Horticulturae *150*, 432–440.

Destefano-Beltrán, L., Knauber, D., Huckle, L., and Suttle, J. (2006). Chemically forced dormancy termination mimics natural dormancy progression in potato tuber meristems by reducing ABA content and modifying expression of genes involved in regulating ABA synthesis and metabolism. J. Exp. Bot. *57*, 2879–2886.

Devitt, M.L., and Stafstrom, J.P. (1995). Cell cycle regulation during growth-dormancy cycles in pea axillary buds. Plant Mol Biol *29*, 255–265.

Dobra, J., Motyka, V., Dobrev, P., Malbeck, J., Prasil, I.T., Haisel, D., Gaudinova, A., Havlova, M., Gubis, J., and Vankova, R. (2010). Comparison of hormonal responses to heat, drought and combined stress in tobacco plants with elevated proline content. Journal of Plant Physiology *167*, 1360–1370.

Doebley, J., Stec, A., and Hubbard, L. (1997). The evolution of apical dominance in maize. Nature *386*, 485–488.

Domagalska, M.A., and Leyser, O. (2011). Signal integration in the control of shoot branching. Nature Reviews Molecular Cell Biology *12*, 211–221.

Dörffling, K., Šonka, B., and Tietz, D. (1974). Variation and metabolism of abscisic acid in pea seedlings during and after water stress. Planta *121*, 57–66.

Emery, R.J. (1998). Branch development in Lupinus angustifolius L. II. Relationship with endogenous ABA, IAA and cytokinins in axillary and main stem buds. J. Exp. Bot *49*, 555–562.

Eveland, A.L., and Jackson, D.P. (2011). Sugars, signalling, and plant development. Journal of Experimental Botany *63*, 3367–3377.

Everat-Bourbouloux, A., and Charnay, D. (1982). Endogenous abscisic acid levels in stems and axillary buds of intact or decapitated broad-bean plants (*Vicia faba L.*). Physiologia Plantarum *54*, 440–445.

Finlayson, S.A. (2007). Arabidopsis TEOSINTE BRANCHED1-LIKE 1 Regulates Axillary Bud Outgrowth and is Homologous to Monocot TEOSINTE BRANCHED1. Plant Cell Physiol *48*, 667–677.

Finlayson, S.A., Krishnareddy, S.R., Kebrom, T.H., and Casal, J.J. (2010). Phytochrome Regulation of Branching in Arabidopsis. Plant Physiol. *152*, 1914–1927.

Girault, T. (2009). Etude du photocontrôle du débourrement du bourgeon chez le rosier (*Rosa sp. L.*) : impact de la lumière sur le métabolisme glucidique et l'élongation cellulaire. PhD Thesis. Université d'Angers.

Girault, T., Bergougnoux, V., Combes, D., VIEMONT, J.D., and Leduc, N. (2008). Light controls shoot meristem organogenic activity and leaf primordia growth during bud burst in *Rosa sp.* Plant, Cell & Environment *31*, 1534–1544.

Girault, T., Abidi, F., Sigogne, M., Pelleschi-Travier, S., Boumaza, R., Sakr, S., and Leduc, N. (2010). Sugars are under light control during bud burst in *Rosa sp.* Plant, Cell & Environment no–no.

Gocal, G.F.W., Pharis, R.P., Yeung, E.C., and Pearce, D. (1991). Changes after Decapitation in Concentrations of Indole-3-Acetic Acid and Abscisic Acid in the Larger Axillary Bud of *Phaseolus vulgaris L.* cv Tender Green. Plant Physiol. *95*, 344–350.

Gomez-Roldan, V., Fermas, S., Brewer, P.B., Puech-Pagès, V., Dun, E.A., Pillot, J.-P., Letisse, F., Matusova, R., Danoun, S., and Portais, J.-C. (2008). Strigolactone inhibition of shoot branching. Nature *455*, 189–194.

González-Grandío, E., Poza-Carrión, C., Sorzano, C.O.S., and Cubas, P. (2013). BRANCHED1 Promotes Axillary Bud Dormancy in Response to Shade in Arabidopsis. Plant Cell *25*, 834–850.

Gonzali, S., Loreti, E., Solfanelli, C., Novi, G., Alpi, A., and Perata, P. (2006). Identification of sugar-modulated genes and evidence for in vivo sugar sensing in Arabidopsis. J Plant Res *119*, 115–123.

Govind, G., Vokkaliga ThammeGowda, H., Jayaker Kalaiarasi, P., Iyer, D.R., Muthappa, S.K., Nese, S., and Makarla, U.K. (2009). Identification and functional validation of a unique set of drought induced genes preferentially expressed in response to gradual water stress in peanut. Molecular Genetics and Genomics *281*, 591–605.

Granda, V., Cuesta, C., Álvarez, R., Ordás, R., Centeno, M.L., Rodríguez, A., Majada, J.P., Fernández, B., and Feito, I. (2011). Rapid responses of C14 clone of Eucalyptus globulus to root drought stress: Time-course of hormonal and physiological signaling. Journal of Plant Physiology *168*, 661–670.

Guo, W., Li, B., Zhang, X., and Wang, R. (2007). Architectural plasticity and growth responses of *Hippophae rhamnoides* and *Caragana intermedia* seedlings to simulated water stress. Journal of Arid Environments *69*, 385–399.

Hansen, H., and Dörffling, K. (2003). Root-derived trans-zeatin riboside and abscisic acid in drought-stressed and rewatered sunflower plants: interaction in the control of leaf diffusive resistance? Functional Plant Biol. *30*, 365–375.

Hare, P.D., Cress, W.A., and Staden, J. van (1997). The involvement of cytokinins in plant responses to environmental stress. Plant Growth Regulation *23*, 79–103.

Henry, C., Rabot, A., Laloi, M., Mortreau, E., Sigogne, M., Leduc, N., Lemoine, R., Sakr, S., Vian, A., and Pelleschi-Travier, S. (2011). Regulation of RhSUC2, a sucrose transporter, is correlated with the light control of bud burst in *Rosa sp.* Plant, Cell & Environment *34*, 1776–1789.

Horvath, D.P., Anderson, J.V., Chao, W.S., and Foley, M.E. (2003). Knowing when to grow: signals regulating bud dormancy. Trends in Plant Science *8*, 534–540.

Huang, D., Wu, W., Abrams, S.R., and Cutler, A.J. (2008). The relationship of drought-related gene expression in *Arabidopsis thaliana* to hormonal and environmental factors. Journal of Experimental Botany *59*, 2991–3007.

Huché-Thélier, L., Boumaza, R., Demotes-Mainard, S., Canet, A., Symoneaux, R., Douillet, O., and Guérin, V. (2011). Nitrogen deficiency increases basal branching and modifies visual quality of the rose bushes. Scientia Horticulturae *130*, 325–334.

Kebrom, T.H., Burson, B.L., and Finlayson, S.A. (2006). Phytochrome B Represses Teosinte Branched1 Expression and Induces Sorghum Axillary Bud Outgrowth in Response to Light Signals. Plant Physiol. *140*, 1109–1117.

Kebrom, T.H., Brutnell, T.P., and Finlayson, S.A. (2010). Suppression of sorghum axillary bud outgrowth by shade, phyB and defoliation signalling pathways. Plant, Cell & Environment *33*, 48–58.

Kebrom, T.H., Chandler, P.M., Swain, S.M., King, R.W., Richards, R.A., and Spielmeyer, W. (2012). Inhibition of Tiller Bud Outgrowth in the tin Mutant of Wheat Is Associated with Precocious Internode Development. Plant Physiol. *160*, 308–318.

Keim, D.L., and Kronstad, W.E. (1981). Drought Response of Winter Wheat Cultivars Grown under Field Stress Conditions. Crop Science *21*, 11–15.

Lauri, P.E., Costes, E., Regnard, J.L., Brun, L., Simon, S., Monney, P., and Sinoquet, H. (2009). Does Knowledge on Fruit Tree Architecture and its Implications for Orchard Management Improve Horticultural Sustainability? An Overview of Recent Advances in the Apple. In I International Symposium on Horticulture in Europe, G.R. Dixon, ed. (Leuven 1: Int Soc Horticultural Science), pp. 243–249.

Le Bris, M., Champeroux, A., Bearez, P., and Le Page-Degivry, M.T. (1998). Basipetal Gradient of Axillary Bud Inhibition Along a Rose (*Rosa hybridaL.*) Stem: Growth Potential of Primary Buds and their Two Most Basal Secondary Buds as Affected by Position and Age. Annals of Botany *81*, 301–309.

Le Hir, R., Pelleschi-Travier, S., Viémont, J.-D., and Leduc, N. (2005). Sucrose synthase expression pattern in the rhythmically growing shoot of common oak (*Quercus robur L.*). Annals of Forest Science *62*, 585–591.

Lee, J., Han, C.-T., and Hur, Y. (2013). Molecular characterization of the *Brassica rapa* auxin-repressed, superfamily genes, BrARP1 and BrDRM1. Mol Biol Rep *40*, 197–209.

Ljung, K., Bhalerao, R.P., and Sandberg, G. (2001). Sites and homeostatic control of auxin biosynthesis in Arabidopsis during vegetative growth. The Plant Journal *28*, 465–474.

Massot, C. (2007). Détermination de la température de base et des unités thermiques accumulées pour différentes phénophases des rosiers *Rosa x hybrida* Knock Out et *Rosa wichurana* (Angers, France: Université d'Angers).

Mc Laughlin, J.E., and Boyer, J.S. (2004). Sugar-responsive Gene Expression, Invertase Activity, and Senescence in Aborting Maize Ovaries at Low Water Potentials. Ann Bot *94*, 675–689.

Michonneau, P. (2002). Mécanismes de la réponse adaptative du rosier miniature aux stress abiotiques: aspects fondamentaux et appliqués. Thèse de doctorat. École doctorale ingénierie chimique, biologique et géologique - ICBG.

Minakuchi, K., Kameoka, H., Yasuno, N., Umehara, M., Luo, L., Kobayashi, K., Hanada, A., Ueno, K., Asami, T., Yamaguchi, S., J., Kyozuka. (2010). FINE CULM1 (FC1) Works Downstream of Strigolactones to Inhibit the Outgrowth of Axillary Buds in Rice. Plant Cell Physiol. *51*, 1127–1135.

Morel, P., Crespel, L., Galopin, G., and Moulia, B. (2012). Effect of mechanical stimulation on the growth and branching of garden rose. Scientia Horticulturae *135*, 59–64.

Morris, D.A. (1977). Transport of exogenous auxin in two-branched dwarf pea seedlings (*Pisum sativum L.*). Planta *136*, 91–96.

Muller, D., and Leyser, O. (2011). Auxin, cytokinin and the control of shoot branching. Annals of Botany *107*, 1203–1212.

Muller, B., Pantin, F., Genard, M., Turc, O., Freixes, S., Piques, M., and Gibon, Y. (2011). Water deficits uncouple growth from photosynthesis, increase C content, and modify the relationships between C and growth in sink organs. Journal of Experimental Botany *62*, 1715–1729.

Müller, T., Lüttschwager, D., and Lentzsch, P. (2010). Recovery from Drought Stress at the Shooting Stage in Oilseed Rape (*Brassica napus*). Journal of Agronomy and Crop Science *196*, 81–89.

O'Hara, L.E., Paul, M.J., and Wingler, A. (2012). How Do Sugars Regulate Plant Growth and Development? New Insight into the Role of Trehalose-6-Phosphate. Mol. Plant.

Osório, J., Osório, M.L., Chaves, M.M., and Pereira, J.S. (1998). Water deficits are more important in delaying growth than in changing patterns of carbon allocation in *Eucalyptus globulus*. Tree Physiol *18*, 363–373.

Pearce, D.W., Taylor, J.S., Robertson, J.M., Harker, K.N., and Daly, E.J. (1995). Changes in abscisic acid and indole-3-acetic acid in axillary buds of *Elytrigia repens* released from apical dominance. Physiologia Plantarum *94*, 110–116.

Portemer, V. (2009). Impacts de la contrainte hydrique sur l'architecture du rosier miniature : étude de gènes impliqués et développement de protocoles de transformation génétique en vue de leur validation. Université de Poitiers.

Prasad, T.K., Li, X., Abdel-Rahman, A.M., Hosokawa, Z., Cloud, N.P., Lamotte, C.E., and Cline, M.G. (1993). Does Auxin Play a Role in the Release of Apical Dominance by Shoot Inversion in *Ipomoea nil*? Ann Bot *71*, 223–229.

Quarrie, S.A., and Jones, H.G. (1977). Effects of Abscisic Acid and Water Stress on Development and Morphology of Wheat. J. Exp. Bot. *28*, 192–203.

Rabot, A., Henry, C., Baaziz, K.B., Mortreau, E., Azri, W., Lothier, J., Hamama, L., Boummaza, R., Leduc, N., Pelleschi-Travier, S., J., Le Gourrierec, S., Sakr. (2012). Insight into the Role of Sugars in Bud Burst Under Light in the Rose. Plant Cell Physiol *53*, 1068–1082.

Rae, G.M., Karine, D., and Marion, W. (2013). The dormancy marker DRM1/ARP: associated with dormancy but a broader role in planta.

Razmjoo, K., Heydarizadeh, P., and Sabzalian, M.R. (2008). Effect of salinity and drought stresses on growth parameters and essential oil content of *Matricaria chamomile*. Int. J. Agric. Biol *10*, 451–454.

Rolland, F., Baena-Gonzalez, E., and Sheen, J. (2006). SUGAR SENSING AND SIGNALING IN PLANTS: Conserved and Novel Mechanisms. Annual Review of Plant Biology *57*, 675–709.

Ruan, Y.-L. (2012). Signaling Role of Sucrose Metabolism in Development. Mol. Plant *5*, 763–765.

Ruan, Y.-L., Jin, Y., Yang, Y.-J., Li, G.-J., and Boyer, J.S. (2010). Sugar Input, Metabolism, and Signaling Mediated by Invertase: Roles in Development, Yield Potential, and Response to Drought and Heat. Mol. Plant *3*, 942–955.

Ruttink, T., Arend, M., Morreel, K., Storme, V., Rombauts, S., Fromm, J., Bhalerao, R.P., Boerjan, W., and Rohde, A. (2007). A molecular timetable for apical bud formation and dormancy induction in poplar. The Plant Cell Online *19*, 2370–2390.

Salter, P.J., and Goode, J.E. (1967). Crop responses to water at different stages of growth. Res. Rev. 2 Commonw. Bur. Hort. Plantation Crops 256 pp.

Shao, H.B., Chu, L.Y., Jaleel, C.A., and Zhao, C.X. (2008). Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. Comptes Rendus Biologies *331*, 215–225.

Shimizu, S., and Mori, H. (1998). Analysis of Cycles of Dormancy and Growth in Pea Axillary Buds Based on mRNA Accumulation Patterns of Cell Cycle-Related Genes. Plant Cell Physiol *39*, 255–262.

Shimizu-Sato, S., and Mori, H. (2001). Control of Outgrowth and Dormancy in Axillary Buds. Plant Physiol. *127*, 1405–1413.

Shimizu-Sato, S., Tanaka, M., and Mori, H. (2009). Auxin–cytokinin interactions in the control of shoot branching. Plant Mol Biol *69*, 429–435.

Simon, S., Morel, K., Durand, E., Brevalle, G., Girard, T., and Lauri, P.-E. (2012). Aphids at crossroads: when branch architecture alters aphid infestation patterns in the apple tree. Trees-Struct. Funct. *26*, 273–282.

Skoog, F., and Thimann, K.V. (1934). Further Experiments on the Inhibition of the Development of Lateral Buds by Growth Hormone. Proc Natl Acad Sci U S A *20*, 480–485.

Smeekens, S., Ma, J., Hanson, J., and Rolland, F. (2010). Sugar signals and molecular networks controlling plant growth. Current Opinion in Plant Biology *13*, 273–278.

Spiess, N., Oufir, M., Matusikova, I., Stierschneider, M., Kopecky, D., Homolka, A., Burg, K., Fluch, S., Hausman, J.F., and Wilhelm, E. (2011). Ecophysiological and transcriptomic responses of oak (*Quercus robur*) to long-term drought exposure and rewatering. Environmental and Experimental Botany.

Sreenivasulu, N., Harshavardhan, V.T., Govind, G., Seiler, C., and Kohli, A. (2012). Contrapuntal role of ABA: Does it mediate stress tolerance or plant growth retardation under long-term drought stress? Gene *506*, 265–273.

Stafstrom, J.P. (2000). Regulation of growth and dormancy in pea axillary buds. (Angers: J. D. Viemont, J. Crabbé), pp. 331–346.

Stafstrom, J.P., and Sussex, I.M. (1988). Patterns of protein synthesis in dormant and growing vegetative buds of pea. Planta *176*, 497–505.

Stafstrom, J.P., Ripley, B.D., Devitt, M.L., and Drake, B. (1998). Dormancy-associated gene expression in pea axillary buds. Planta *205*, 547–552.

Steinberg, S., Miller, J., and Mcfarland, M. (1990). Dry Matter Partitioning and Vegetative Growth of Young Peach Trees Under Water Stress. Functional Plant Biol. *17*, 23–36.

Takeda, T., Suwa, Y., Suzuki, M., Kitano, H., Ueguchi-Tanaka, M., Ashikari, M., Matsuoka, M., and Ueguchi, C. (2003). The OsTB1 gene negatively regulates lateral branching in rice. The Plant Journal *33*, 513–520.

Tamas, I.A., Ozbun, J.L., Wallace, D.H., Powell, L.E., and Engels, C.J. (1979). Effect of fruits on dormancy and abscisic acid concentration in the axillary buds of *Phaseolus vulgaris L.* Plant Physiology *64*, 615–619.

Tanaka, M., Takei, K., Kojima, M., Sakakibara, H., and Mori, H. (2006). Auxin controls local cytokinin biosynthesis in the nodal stem in apical dominance. The Plant Journal *45*, 1028–1036.

Thimann, K.V., and Skoog, F. (1933). Studies on the Growth Hormone of Plants. Proc Natl Acad Sci U S A *19*, 714–716.

Thorp, T.G., Barnett, A.M., and Blattmann, P. (2011). What Are the Productivity Limits for "Hayward" Kiwifruit? In VII International Symposium on Kiwifruit, G. Costa, and A.R. Ferguson, eds. (Leuven 1: Int Soc Horticultural Science), pp. 419–424.

Tucker, D.. (1978). Apical dominance in the tomato: The possible roles of auxin and abscisic acid. Plant Science Letters *12*, 273–278.

Umehara, M., Hanada, A., Yoshida, S., Akiyama, K., Arite, T., Takeda-Kamiya, N., Magome, H., Kamiya, Y., Shirasu, K., and Yoneyama, K. (2008). Inhibition of shoot branching by new terpenoid plant hormones. Nature *455*, 195–200.

Umezawa, T., Fujita, M., Fujita, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K., and Shinozaki, K. (2006). Engineering drought tolerance in plants: discovering and tailoring genes to unlock the future. Current Opinion in Biotechnology *17*, 113–122.

Umezawa, T., Nakashima, K., Miyakawa, T., Kuromori, T., Tanokura, M., Shinozaki, K., and Yamaguchi-Shinozaki, K. (2010). Molecular Basis of the Core Regulatory Network in ABA Responses: Sensing, Signaling and Transport. Plant Cell Physiol *51*, 1821–1839.

Wang, C., Yang, A., Yin, H., and Zhang, J. (2008). Influence of water stress on endogenous hormone contents and cell damage of maize seedlings. Journal of Integrative Plant Biology *50*, 427–434.

Wang, H., Qi, Q., Schorr, P., Cutler, A.J., Crosby, W.L., and Fowke, L.C. (1998). ICK1, a cyclin-dependent protein kinase inhibitor fromArabidopsis thalianainteracts with both Cdc2a and CycD3, and its expression is induced by abscisic acid. The Plant Journal *15*, 501–510.

Werner, T., and Schmülling, T. (2009). Cytokinin action in plant development. Current Opinion in Plant Biology *12*, 527–538.

Zhang, J., Jia, W., Yang, J., and Ismail, A.M. (2006). Role of ABA in integrating plant responses to drought and salt stresses. Field Crops Research *97*, 111–119.

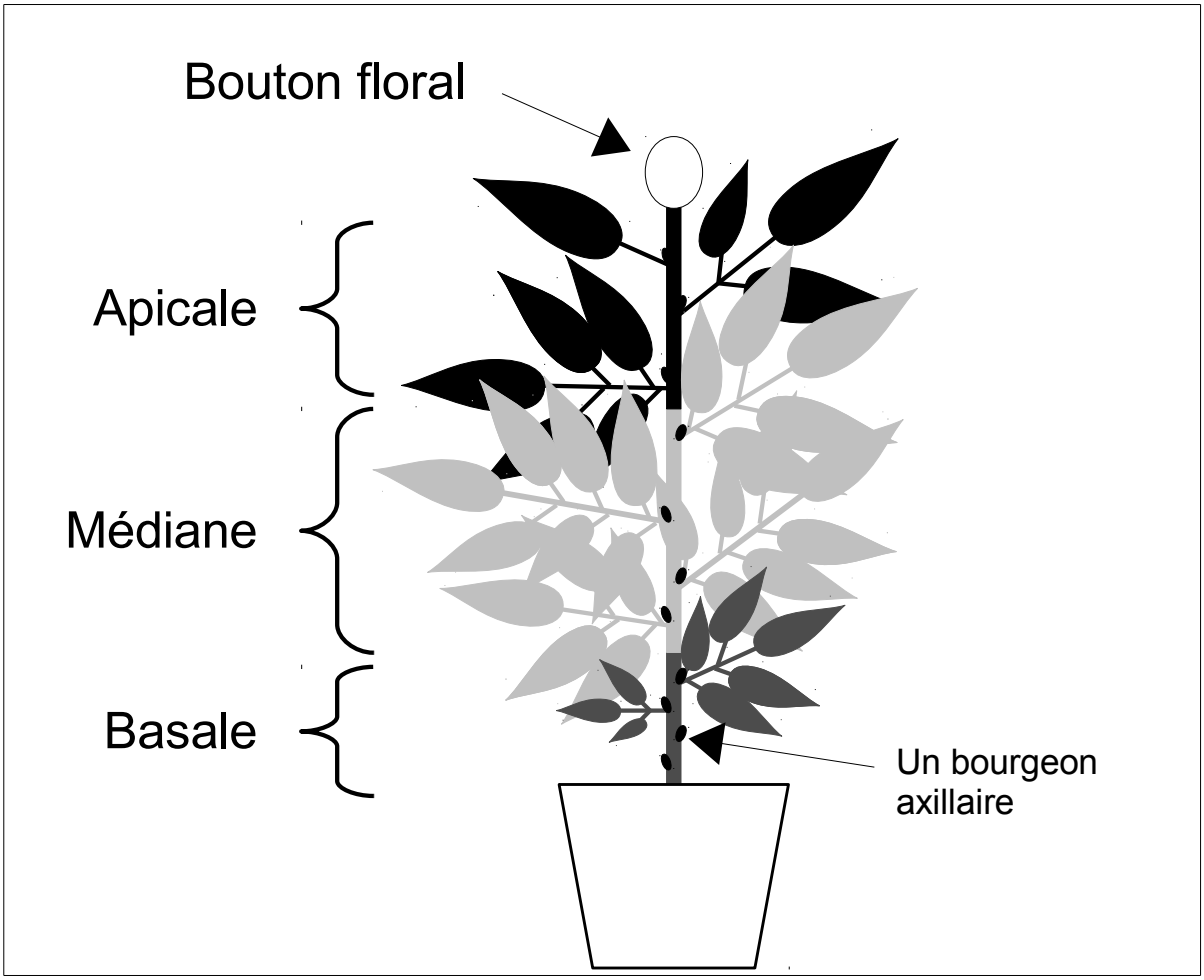
Annexes

ANNEXE 1. STADES PHÉNOLOGIQUES REMARQUABLES DU ROSIER UTILISÉS DANS NOTRE ÉTUDE

Stade (Abréviation)	Caractérisation
Bourgeon débourré (DEB)	On observe le bourgeon de la bouture qui émerge tout juste du substrat, sans avoir besoin de gratter celui-ci
Bouton Floral Visible (BFV)	Le bouton floral terminal de l'axe considéré est tout juste visible sans que son pédoncule ne soit distinguable
Couleur des Pétales Visible (CPV)	On distingue la couleur rouge-rosée des pétales du bouton floral sans écarter les sépales
Fleur Epanouie (FE)	On distingue les étamines sans avoir besoin d'écarter les pétales
Fleur Fanée (FF)	Un ou plusieurs pétales tombent lorsque l'on passe la main dans la fleur

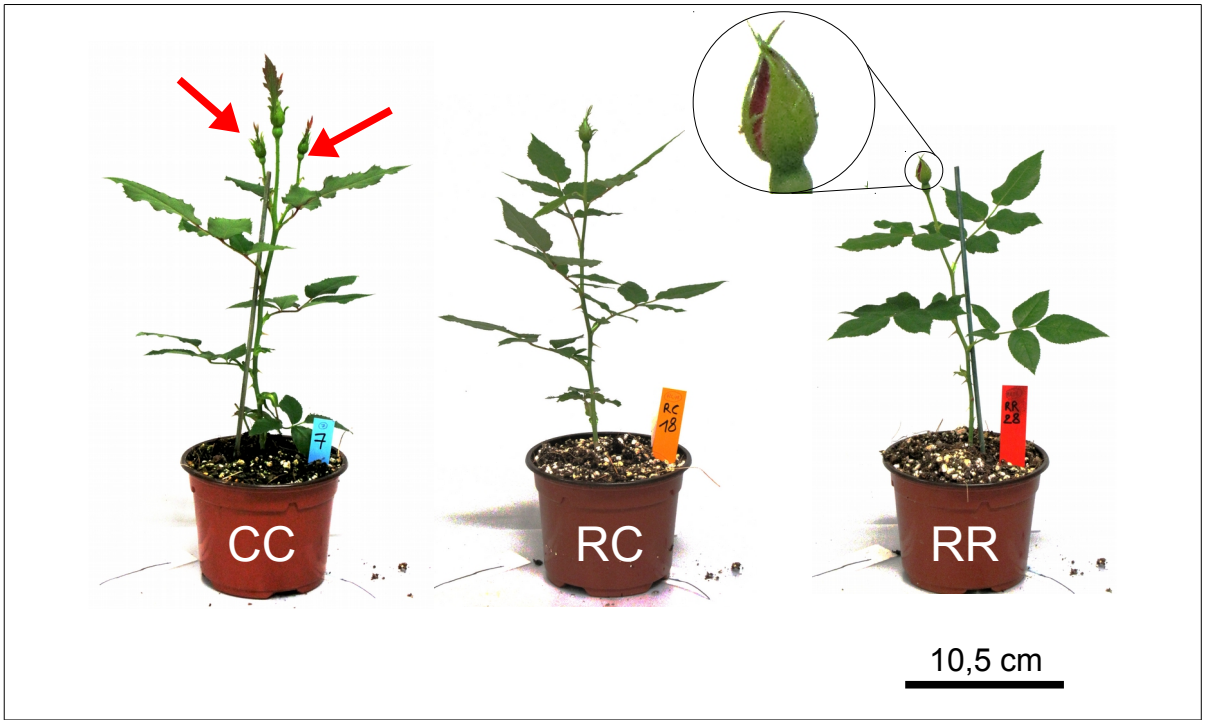
Description des stades de développement utilisés pour évaluer l'impact de la restriction hydrique sur le développement de l'axe d'ordre 1 des rosiers.

ANNEXE 2. DÉFINITION DES ZONES APICALES, MÉDIANES ET BASALES DE L'AXE D'ORDRE 1



Localisation des trois zones de l'axe d'ordre 1. La zone apicale (noire) comprend tous les métamères terminaux jusqu'au premier métamère (en partant du haut de l'axe) portant une feuille d'au moins 4 folioles. La zone basale (gris foncé) comprend les premiers métamères formés par le bourgeon, jusqu'au premier métamère (en partant du bas de l'axe) portant une feuille bien développée d'au moins 4 folioles. La zone médiane (gris clair) comprend tous les autres métamères.

Annexe 3. Photographies des rosiers CC, RC et RR prises au stade CPV



Photographies des rosiers au stade CPV. Au stade CPV, les rosiers RC n'ont pas encore été réhydratés et sont donc semblables en terme de traitements aux rosiers RR. Les flèches rouges indiquent les axes secondaires apicaux en cours de croissance chez les rosiers cultivés en confort hydrique. Ces axes sont absents chez les rosiers qui subissent la restriction hydrique. Le début de coloration des pétales n'est pas visible sur tous les rosiers de ces photos, en raison de l'orientation de la plante.

Diplôme : Diplôme d'Ingénieur de l'Institut Supérieur des Sciences Agronomiques, Agroalimentaires, Horticoles et du Paysage
Spécialité : Horticulture
Spécialisation / option : Gestion Durable du Végétal
Enseignant référent : Soulaiman Sakr

Auteur(s) : Mathieu Caradeuc
Date de naissance* : 29 novembre 1988

Nb pages : 36 Annexe(s) : 3
Année de soutenance : 2013

Organisme d'accueil : IRHS équipe Arch-E
Adresse : 42 rue Georges Morel 49071 Beaucouze Cedex
Maître de stage : Lydie Huché-Thélier

Titre français : Restriction hydrique et débourrement : étude du dialogue entre l'acide abscissique et les sucres

Titre anglais : Water restriction and bud outgrowth : crosstalk between abscisic acid and carbohydrates

Résumé :

La restriction hydrique est l'une des menaces les plus importantes pour les rendements agricoles à l'échelle mondiale. Chez le rosier cela se traduit notamment par un maintien des bourgeons axillaires en dormance le long de la tige. Curieusement une réhydratation du substrat stimule fortement le débourrement. Nous avons axé notre travail sur la recherche d'éventuelles différences entre les voies de signalisation de la dormance en situation de stress hydrique, et celles de la dormance due à la dominance apicale. Notre étude apporte les premiers éléments permettant de comprendre le rôle que tient le dialogue entre l'acide abscissique et les sucres dans la régulation du débourrement par le stress hydrique. Nous avons montré que l'acide abscissique est capable à lui seul de bloquer le débourrement sur des nœuds cultivés in-vitro, et que le saccharose antagonise cette action inhibitrice. Nous avons également montré le fait que cet antagonisme ne nécessite pas la métabolisation du saccharose, ce qui montre que le saccharose interagit avec l'acide abscissique en tant que signal. Grâce à des analyses moléculaires dans les bourgeons et à de prochains dosages hormonaux et biochimiques, nous dressons de nouvelles hypothèses de travail pour le futur, vis à vis de l'implication des protéines PIN1 dans cette inhibition par le stress hydrique.

Abstract :

Water deficit is one the most important threat for wordwilde crops. Rosebush reacts to water restriction by keeping its buds along the stem into dormancy. Interestingly, susbtrat rehydration causes a strong stimulation of bud burst. We aimed to highlight possible differences between the dormancy caused by water limitation, in regard to the dormancy caused by apical dominance. Our study focuses on the role of the cross-talk between abscisic acid and carbohydrates within bud outgrowth regulation. We showed that abscisic acid is capable alone to prevent bud burst of nodes cultivated in-vitro, and that sucrose is able to antagonism this inhibition. We also pointed the fact that this antoganism does not require sucrose metabolisation, arguing for a signal role of sucrose. Thanks to moleculare analysis and upcoming biochemical and hormonal dosages in stem and bud, we propose new hypothesis for future investigations, questionning the involvment of PIN1 proteins in the water restriction induced dormancy.

Mots-clés : restriction hydrique ; architecture ; bourgeon axillaire ; dormance ; débourrement ; acide abscissique ; sucre ; saccharose ; signal ; nœuds cultivés in-vitro.

Key Words: water restriction ; drought ; architecture ; axillary bud ; dormancy ; bud outgrowth ; bud burst ; abscisic acid ; carbohydrates ; sucrose ; signal ; nodes cultivated in-vitro.