



Pourquoi aimons-nous tant le parfum de la rose ?

Inès Adrar

► To cite this version:

Inès Adrar. Pourquoi aimons-nous tant le parfum de la rose?. Biologie végétale. Université Jean Monnet - Saint-Etienne, 2023. Français. NNT : 2023STET0014 . tel-04510650

HAL Id: tel-04510650

<https://theses.hal.science/tel-04510650>

Submitted on 19 Mar 2024

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.



N° d'ordre NNT : 2023STET014

THESE de DOCTORAT DE L'UNIVERSITE JEAN MONNET de SAINT-ETIENNE

Membre de l'Université de LYON

**Ecole Doctorale N° 488
Science Ingénierie Santé**

Spécialité / Discipline de doctorat :
Biologie, Neurosciences et Physiologie végétale

Soutenue publiquement le 07/06/2023, par :
Inès Adrar

Pourquoi aimons-nous tant le parfum de la rose ?

Devant le jury composé de :

DUCHAMP-VIRET, Patricia, Directrice de Recherche CNRS (CRNL), Présidente

DUCHAMP-VIRET, Patricia, Directrice de Recherche CNRS (CRNL), Rapporteuse
CRESPEL, Laurent, Enseignant – Chercheur, Agrocampus Ouest (IRHS), Rapporteur
TOPIN, Jérémie, Maître de conférences, Université Côte d'Azur (ICN), Examineur

BAUDINO, Sylvie, Professeure, Université de Saint-Étienne (LBVpam), Directrice de thèse
MANDAIRON, Nathalie, Directrice de Recherche CNRS (CRNL), Co-directrice de thèse

Pourquoi aimons-nous tant le parfum de la rose ?



**Thèse de doctorat de l'Université Jean-Monnet de
Saint-Etienne**

Préparée au Laboratoire de Biotechnologies Végétales
appliquées aux plantes aromatiques et médicinales ainsi
qu'au Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon

Ecole doctorale n°488 : Sciences Ingénierie Santé

Thèse présentée et soutenue à Lyon, le 7 juin 2023, par
Inès Adrar

Composition du jury :

Patricia DUCHAMP-VIRET,
Directrice de Recherche CNRS (CRNL)

**Présidente
Rapporteuse**

Laurent CRESPEL,
Enseignant-Chercheur, Agrocampus Ouest (IRHS)

Rapporteur

Jérémie TOPIN,
Maître de conférences, Université Côte d'Azur (ICN)

Examineur

Sylvie BAUDINO,
Professeure, Université de Saint-Étienne (LBVpam)

Directrice

Nathalie MANDAIRON,
Directrice de Recherche CNRS (CRNL)

Co-Directrice

Remerciements

J'aimerais remercier en premier lieu les membres de mon jury pour avoir accepté d'évaluer mon travail de thèse et de participer à ma soutenance. Merci donc à **M. Laurent Crespel**, **Mme. Patricia Duchamp-Viret** et à **M. Jérémie Topin**. J'ai très hâte de pouvoir discuter de mes travaux de recherche avec vous.

Merci également à la région AURA et son appel à projet « Pack Ambition Recherche » qui a financé l'intégralité du projet initialement et qui a accepté une longue prolongation de mon contrat de thèse suite à la pandémie mondiale due à la COVID19. Merci également à l'entreprise Meilland Richardier pour nous avoir fournis les rosiers. Merci aux différentes roseraies de Lyon et des alentours, la roseraie internationale du Parc de la Tête d'Or de Lyon, le jardin botanique de Lyon, la roseraie de Saint-Galmier et la roseraie privée de Meilland de Diémoz.

A la personne uniquement curieuse du travail scientifique apporté par cette thèse, je vous donne rendez-vous directement à la page 8.

Pour celles et ceux soucieux.ses des relations humaines supportant tout ce travail, voici une liste presque exhaustive des personnes que j'aimerais remercier. Je vous préviens, ça risque d'être un peu long. Si en cours de route vous vous apercevez que vous n'êtes finalement intéressé que par la thèse en elle-même, ce qui est tout de même la principale raison de votre lecture, je ne vous en voudrai pas de vous rendre vous aussi directement à la page 8.

La thèse a été pour moi un assez gros objectif à atteindre. Elle a été un travail professionnel tout autant qu'un travail personnel. J'ai appris énormément, dans ces deux parties de moi non pas si distinctes et je suis heureuse d'être arrivée au stade où je dois seulement remercier les personnes m'ayant accompagnées dans ma vie et dans mon travail durant ces dernières années.

Depuis le lycée, j'ai été attirée par les neurosciences et sans même savoir ce qu'était le métier de chercheuse en neurosciences, j'ai voulu y goûter en y mettant au moins un pied. Je commence tôt dans les remerciements, mais j'aimerais remercier **M. Cayet** et **M. Luthereau** pour vos encouragements et votre véritable croyance en mes capacités. Je n'ai jamais marché au bâton et vous le saviez. Je suis en volonté de faire croître mes capacités si je sais qu'elles seront valorisées ensuite. On a tous des profs qui nous ont aidé et permis de continuer ensuite, de ne pas lâcher. Merci donc à vous d'avoir été les premiers à me donner la motivation nécessaire.

Bien sûr, plusieurs années nous séparent entre la fin du lycée et le début du doctorat et il y a beaucoup de personnes dans mon cœur qui m'ont accompagnées durant toutes ces années et qui m'ont permis de continuer à avancer sans trop de peine, merci à vous.

Il y a 4 ans, débutait mon premier jour en tant que doctorante. Thèse proposée par **Nathalie** et **Sylvie**. Merci à vous de m'avoir proposé ce projet et pour m'avoir fait confiance dès le début pour le mener à bien. Merci de m'avoir accompagnée jusqu'à la fin. Vous m'avez beaucoup apportée lors de nos échanges sur la thèse. Nous nous sommes bien cassé la tête pour proposer un travail sérieux et rigoureux mais également en jonglant avec les contraintes d'un travail sur la rose. Vous m'avez permis d'acquérir des connaissances pluridisciplinaires dans des domaines parfois très éloignés des miens initiaux, et vous ne m'avez pas lâchée, merci.

Remerciements

Mon travail a débuté au CRNL, dans l'équipe Neuropop, où j'ai rencontré des collègues mais aussi des amis. Pour commencer, j'aimerais remercier **Bénédicte**. Tu as été ma directrice de stage en master, je te remercie de m'avoir accompagnée durant ses deux années qui ont précédé la thèse, et de m'avoir fait confiance pour ensuite me confier à Nathalie. Merci aux chercheurs du CRNL, **Anne** et **Marion**, mais aussi **Nicola**, merci d'avoir permis à l'équipe de garder son unité à travers ces années en t'occupant des réunions. J'ai beaucoup apprécié discuter avec toi et de voir l'intérêt que tu portes au travail et au moral des membres de l'équipe. **Arnaud**, tu as trouvé ta voie ailleurs que dans l'équipe désormais mais ta bonne humeur et ton travail ingénieux d'ingénieur nous manque quand même. Toujours présent pour aider, j'espère que ta nouvelle équipe t'appréciera autant que nous. **Christophe**, tu n'as pas été là longtemps et pourtant tu as su marquer les esprits. Passionné, curieux et motivé, tu as été notre boîte à outils statistiques même après être parti et bien plus encore. Tu as été présent pour les étudiants et les autres membres de l'équipe, même après ton départ. Ta gentillesse nous manque et j'espère également que tu t'épanouies en Allemagne. **Catherine**, moins présente mais dont la présence se remarque forcément. Déjà par un look coloré et des lunettes très très stylées, mais aussi car tu as toujours le mot pour rire et que tu prends souvent des nouvelles des étudiants quand tu le peux. **Camille**, merci pour ta gentillesse. Tu as toujours été véritablement soucieuse du bien-être des membres de l'équipe et je t'en remercie. **Moustafa**, tu as une place très importante aussi dans cette thèse. Je te remercie d'avoir chapeauté mon expérience, merci pour tes conseils et d'avoir pu mener le projet à bien. Qui sait, on se recroisera peut-être à Marseille ou encore en Algérie ! Je sais que tu es très observateur et soucieux de l'intégration et du bien-être des étudiants de ton équipe.

Merci aux ITA de l'équipe, **Ounsa**, **Christelle** et **Marc**, pour votre grande aide ! **Christelle**, merci pour cette menthe chocolat que tu m'avais offerte au début de ma thèse car elle t'avait fait penser à moi.

Un grand merci également à tous les doctorants et doctorantes de l'équipe, ainsi qu'aux stagiaires pour avoir su mettre une sacrée bonne ambiance ! Déjà, merci aux anciens, aux gerlandais et gerlandettes. **Laura**, **Cédric**, **Marine**, **Kenza**, **Lucile** (infiltrée dans l'équipe). **Kenza**, merci pour les sessions coiffures expertes cheveux bouclés, je pense à toi lors de ma petite routine capillaire. **Lucile**, neuropopienne dans nos cœurs, on s'est suivies quasi tout du long. Ce dernier voyage à Berlin nous aura permis de nous rapprocher encore plus. Merci pour tes conseils stats et pour ta présence, toujours là pour aider. **Marylou**, on a fait bien plus que partager un bureau en début de thèse. Tu as toujours été à l'écoute et ton empathie me touche beaucoup. Tu m'as aussi beaucoup aidée lors de la thèse, avec les différentes réunions stats qu'on a faites ensemble, qui parfois dérivait sur des discussions plus personnelles et plus humaines. Ça fait du bien de se sentir comprise.

J'ai eu la chance d'encadrer deux stagiaires, très volontaires, motivés, patients et toujours le smile, **Alicia** et **Julio**. Je n'aurai pas pu rêver mieux comme stagiaires. Merci **Julio** pour ton aide des derniers instants de thèse. Même si tu n'es plus mon stagiaire depuis longtemps puisque tu as rejoint l'équipe en tant que bébé doc, en même temps que **Théo**. Force à toi **Théo**, tu es un battant ! Hâte de découvrir tes nouvelles idées de recherche ! Vous avez rejoint la team des bébés docs avec **Anna**, **Valentine**, **Tasha** et **Erwan**, une très très bonne team. **Anna**, la première à vouloir aider et donner un coup de main, merci pour ton écoute et pour ta bonne humeur ! Même quand tu es « aigrie » comme tu dis, tu sais nous faire rire. **Valentine**, ma motivation sportive et culinaire (merci les paniers), merci pour ta gentillesse et ta présence. **Alice**, ce petit rayon de soleil qui nous a fait tant rire. Ta joie de vivre est communicative et a bien joué dans le fait qu'on s'entende tous aussi bien dans l'équipe. **Stéphane**, compagnon de master et de thèse, on s'est suivi de près pendant tout ce temps ! C'était très chouette de t'avoir eu comme collègue et ami. Merci **Morgon** pour tous tes encouragements et ton précieux soutien. Une rencontre intergénérationnelle des plus inoubliables. Merci pour tout, pour la formation escalade, pour les verres, pour Berlin, pour les pizzalleries, pour les presque randos. Enfin, pour tout quoi.

Remerciements

Evidemment, comment écrire ces remerciements sans mentionner la fabuleuse équipe de la **JIMM Tonic** ? Cette team, présente du début à la fin et même encore après a été d'une très très grande aide, sur absolument tous les plans. **Juliette**, l'amitié que je te porte est aussi grande qu'une girafe ! Mes aller-retours à Saint-Etienne ont simplement retardé notre lien mais ton dernier été de thèse qu'on a partagé ensemble a beaucoup compté pour moi. Tu es pleine de vie, ton rire s'entend à des kilomètres (tu ne pourras donc jamais te perdre, un bel avantage évolutif !) et surtout, redoutable pour pirater la NAS... euuuuh faire des stats légalement sur R ! Je te souhaite tout plein de bonnes choses et je sais que tu seras capable de les réaliser (en attendant de montrer notre super start-up avec toutes les idées qu'on a !). **Maëlle**, la Master de l'IA (non pas moi, l'autre IA), de la vulgarisation scientifique, de la pizza 18 viandes et des ateliers manuels, et bien plus encore ! Ma partenaire de formation et de fin de thèse, on s'est serrées les coudes et on se les serrera encore pour longtemps. J'espère que tu trouveras le job de tes rêves et que tu sauras nous faire rêver à notre tour.

Enfin dans cette belle équipe, on retrouve mon ami de trèèèèè longue date, **Mattia**. On se connaît depuis quoi, au moins 20 ans maintenant (ou presque, tout pareil, mais différemment). Tu as été d'un très grand soutien et ami du début à la fin, et même si parfois j'oublie que tout le monde a le droit à l'erreur, tu n'en as fait aucune. Merci pour ces derniers rendez-vous du lundi qui n'ont jamais été respectés à dates et heures fixes mais pendant lesquels nous nous rappelions presque à chaque fois que la vie ne tient parfois qu'à un jeté de stylo sur un bureau, elle peut nous revenir en pleine tête. C'est difficile d'écrire tout ce que je pense et ressens pour toi, mais je sais que tu sais que je sais que tu sais. Merci également à ta famille, **Pierrot**, **Zaza** et **Theresia** pour m'avoir permis de profiter un peu de l'océan pendant la mi-fin de thèse.

Merci à **Hervé** pour m'avoir sortie de galères informatiques ou électroniques, pour ces discussions très enrichissantes que nous avons partagées et surtout j'aurai appris avec toi que ramener des croissants et pains au chocolat aux personnes qu'on aime bien lorsqu'on n'a pas envie de voir d'autres gens est une chose qui se fait parfois ahah. Merci pour ta bonne humeur constante, pour avoir géré la régie de nos thèses et de toujours te montrer disponible ! **Nadia** et **Ziane**, les gardiens du CRNL, merci pour votre sourire matin et après-midi et votre gentillesse quotidienne. **Romain**, merci d'avoir géré toute la gestion de l'équipe.

Sylvain, tu es un peu mon héros. Pour moi tu es un peu le gardien ultime du CRNL et tu l'es encore dans mon cœur. Tu m'as beaucoup aidée, surtout au début de ma thèse, pour trouver les meilleures conditions possibles pour mes rosiers, on s'était bien cassé la tête tous les deux ! Premier arrivé, dernier parti et pourtant toujours le sourire aux lèvres, merci pour ton aide.

Je voulais également remercier les membres du BVpam, qui se sont tous et toutes montré.e.s présent.e.s pour offrir leur aide. **Jean-Claude**, **Jean-Louis**, **Fred**, **Sandrine**, les **Florences G** et **N, Denis** et **Benoît**. Merci pour les discussions, conseils pour le projet. Merci **Sandrine** pour ton suivi tout au long de ma thèse avec ta participation aux comités de suivi de thèse. Merci à l'équipe tech de l'UJM qui m'a permis de réaliser mes enseignements dans de bonnes conditions, à **Joël** et **Loïc** pour l'encadrement des TPs. Un grand merci aux gestionnaires **Pascal** et **Julie** pour votre super organisation et efficacité !

Bien sûr, cette thèse et toutes les expérimentations réalisées à Saint-Etienne n'auraient pas pu se faire sans la merveilleuse team des doctorants, post-doc et ingénieure. **Aurélie**, merci pour tout le travail que nous avons partagé, pour les manips, ton aide, les cueillettes de rose à travers les différentes roseraies, la presque cohabitation, ta gentillesse. Beaucoup de cette thèse a été réalisée grâce à toi et je ne saurais te remercier assez. Je penserai à toi à chaque fois que je verrai un canard en plastique ou que je ferai une commande dédole ! Merci aussi à ton mari, **Jimmy**, pour m'avoir laissée squatter chez vous quelques jours pour être plus proche du labo et éviter les aller-retours. **Corentin**, tes disquettes

Remerciements

quotidiennes ont embelli mes journées. Merci pour tes conseils, aides et suivi, qui m'ont permis de réaliser mes expérimentations dans de bonnes conditions et vive le champagne Decoty ! **Laure**, merci pour tes conseils au début de ma thèse et des petits tips qui m'ont bien aidée tout du long. Merci à **Saretta**, pour ta gentillesse, ton aide, ta formation en GC-MS, pour les apéros ensemble et surtout merci d'avoir été la première personne à m'avoir accueillie à Saint-Etienne, de m'avoir hébergée et laissée squatter aussi. Tu es toi aussi en fin de thèse sur les roses et je te souhaite tout le meilleur. Vous l'aurez compris, j'ai squatté chez plusieurs personnes à Saint-Etienne, y compris chez **Mathias** et **Victor**, merci à vous. Vous avez été d'une grande aide également pour moi et je n'oublie pas les soirées qui veut gagner des millions et les longues discussions très enrichissantes que nous avons eu autour d'un bon repas. Merci à **Cédric**, **Ludivine** et **Aya** d'avoir pris soin de mes petites roses tout au long de la thèse. **Dikki** et **Camille**, les deux nouvelles super post doc, plus si nouvelles ! Vous avez été adorables et j'aurai aimé partager plus de temps avec vous au labo, même si le peu de fois où je venais vous rendre visite vous avez été super !

Aussi, merci à mes amis, doctorants et non doctorants qui m'ont permis de passer ces dernières années en très bonne compagnie. Merci d'abord aux potes de Master. Un grand merci à **Athénais** pour ton énorme soutien, d'avoir été ma personnel shopper, pour nos discussions irrégulières au téléphone de plus de 3h et plus récemment nos messages vocaux de 8min. Je te remercie pour t'être montrée aussi présente pour moi et pour m'avoir fait découvrir le vrai Berlin ! En parlant de Berlin, merci aussi à **Maxime** qui m'a aidée pour certaines séances stats même s'il m'a détestée à cause de mes tableaux Excel. Parmi les potes de Master qui ont beaucoup comptés pour moi, **Lisa**, tu as une place très importante. Ton soutien sans faille malgré la distance m'a été d'une très grande aide et bien plus encore. **Aseel**, les jours où je ne te croise pas au labo sont moins lumineux. Tu es un soleil, une étoile, une excellente cuisinière et une amie. Qui sait, peut-être qu'un jour on se recroisera au Vietnam pour vivre notre meilleure vie ! **Flore** et **Axel**, redoutable duo de grimpeurs, vous m'avez fait sortir de ma caverne plus d'une fois ! **Axel**, fan incontestable de Johnny (ou du moins des briquets « Allumer le feu ») et de tout le rap et R&B des années 2000, je sais que tu penseras toujours à moi quand tu entendras les fameuses confessions nocturnes. **Flore**, pour toutes les discussions intimes et profondes que nous avons partagées en plus du reste, merci ! Très hâte de la soirée confession Hot Ones avec vous. Soirée également partagée avec **Valentin**, mon copain du Sud et presque voisin. Merci pour les sorties improvisées et les séances de ciné, moments privilégiés à deux à coup de « dégaine » et « tarpin » qui réchauffent les cœurs. **Kelly**, on se suit depuis 10 ans maintenant, depuis la L1. Nouvelle docteure lyonnaise, ces années de thèse ont été réglées par nos sorties ponctuelles qui m'ont fait beaucoup de bien. Également amie marseillaise, notre nostalgie du sud et du soleil nous a permis de consolider encore plus nos liens. Merci à toi et bravo d'avoir fini à ton tour malgré les difficultés de la thèse. Enfin, merci aux **Pineco** de mon enfance, les meilleures copines de Marseille, de m'avoir accompagnée depuis 17 ans, notre amitié est plus que solide et je sais que je pourrai toujours compter sur vous.

Un très grand merci à **Mme Faury** et **Mme David** de l'asso E. B. Depuis 2 ans, vous m'avez permis de devenir la personne que je suis aujourd'hui, vous m'avez redonné de la confiance et de la légitimité. J'espère un jour pouvoir vous rendre ne serait-ce qu'un dixième de ce que vous m'avez pu me donner. Je vous serais éternellement reconnaissante, vous m'avez en quelques sortes un peu sauvée.

Enfin, ma plus grande reconnaissance va à ma magnifique famille. Un soutien sans faille depuis toujours, financier, émotionnel, vous m'avez toujours fait confiance et encouragée dans mon parcours. Merci particulièrement à mes **parents** et à mes **frères**, pour votre amour inconditionnel et votre force face aux difficultés rencontrées. Malgré mon départ de la maison et la distance, vous n'avez cessé de croire en moi et en mes capacités, vous ne m'avez jamais lâchée. Un grand merci également à ma famille

Remerciements

plus élargie, je sais aujourd'hui que je pourrai compter sur vous pour toujours et à jamais. A ma **grand-mère**, je pense fort à toi.

A **Mme Péret**, en espérant te rendre fière le jour où tu tomberas sur ce travail d'ici quelques années et que tu te rappelleras que tu es une femme forte et intelligente.

Table des matières

Remerciements	3
Table des matières	8
Résumé	11
Abstract.....	12
Liste des abréviations	13
Table des illustrations	14
Introduction	15
I] La rose, son histoire et son parfum	15
A] Le genre <i>Rosa</i>	15
B] Domestication et diversités des variétés modernes	16
1) La domestication, de l'antiquité à nos jours	18
2) Usages actuels.....	19
3) La culture de la rose en période de réchauffement climatique	23
C] Les composés volatils émis par la rose	24
1) Production de l'odeur de rose	24
2) Les composés volatils de la rose et leurs voies de biosynthèse	25
2.1) Les terpènes et leurs dérivés	26
2.1.1) Monoterpènes.....	28
2.1.2) Sesquiterpènes.....	28
2.1.3) Ionones	29
2.1.4) Oxydes de rose	29
2.2) Les composés aromatiques	30
2.2.1) Phénylpropanoïdes et benzénoïdes	30
2.2.2) Phénylpropènes	31
2.2.3) Phényl méthyl éthers (DMT et TMB).....	32
2.3) Les oxylipines	33
II] La perception des odeurs.....	35
A] Fonctions de l'odorat.....	35
1) Alimentation, recherche de nourriture	36
2) Evitement de danger	37
3) Relations sociales	38
B] Anatomie fonctionnelle du système olfactif	38
1) Epithélium olfactif	38

Table des matières

2) Bulbe olfactif	40
3) Les structures cibles du bulbe olfactif	41
3.1) Cortex piriforme	42
3.2) Noyau olfactif antérieur	42
3.3) Cortex entorhinal	43
3.4) Amygdale	43
3.5) Tubercule olfactif	43
3.6) Aires olfactives supérieures	44
C] Perception hédonique des odeurs	44
1) Description de la valeur hédonique	44
2) Mesures de la valeur hédonique des odeurs	45
3) Structures cérébrales impliquées dans le codage de la valeur hédonique des odeurs	46
D) Codage des mélanges d'odeurs	47
1) Au niveau des récepteurs	48
2) Au niveau des aires olfactives primaires	48
3) Perception olfactive des mélanges d'odorants	49
E] Analyses sensorielles sur les roses et leurs composés	51
1) Perception de la rose et de son HE	51
2) Perception des composés de la rose	51
3) Bases neurales	52
III] Impact de l'odeur de la rose, de son huile essentielle ou de ses composés sur le comportement émotionnel et le bien-être	53
A] Impact sur l'humeur, le stress et les émotions	53
1) Effet de l'odeur de la rose ou de son HE	53
2) Effet des composés individuels de la rose	55
B] Effet de l'odeur de rose sur l'anxiété	55
1) Chez l'humain	56
2) Chez l'animal	57
C] Effet de l'odeur de rose sur les états de dépression	58
1) Chez l'humain	58
2) Chez l'animal	58
D] Conclusion	59
Objectifs de la thèse	60
Revue de littérature scientifique	62
Résultats	77

Table des matières

Etude 1: Why do we like so much the smell of roses: relationship between odorant compounds and olfactory hedonics	78
Etude 2: Study of the allelic diversity of rose fragrance genes.....	105
Discussion et conclusion	128
Discussion.....	129
I] Composés impliqués dans la perception plaisante de l'odeur de la rose	129
A] Rappel et discussion des résultats	129
1) Confirmation du rôle du 2PE dans l'odeur de rose et des monoterpènes à odeur de fruit.....	129
2) Rôle des ionones et des oxylipines dans la perception de l'odeur de rose	129
3) Composés isolés ou mélanges de composés, même perception ?	131
4) Impact positif de l'odeur de rose	131
5) Lien entre hédonique et bien-être : aimons-nous l'odeur de rose parce qu'elle nous fait du bien ?	132
B] Perspectives	132
II] Rôle des gènes <i>NUDX1-1</i> et <i>PAAS</i> dans le parfum de la rose	135
A] Rappel et discussion des résultats	135
B] Perspectives	136
Conclusion	136
I] Contribution de mes résultats dans les domaines de l'olfaction et de la génétique des plantes.....	136
II] Contribution de mes résultats dans le domaine industriel du secteur horticole	137
III] Contribution de mes résultats dans les domaines autres que la recherche fondamentale	137
Références	140
Annexes.....	161
Annexe 1: Impact of odor-induced reduction in anxiety on brain's activity and connectivity	162
Annexe 2: Measuring Hedonic Behaviors to Food Odors in Children	191

Résumé

Le rosier est l'une des plantes ornementales les plus cultivées au monde, et ce depuis l'Antiquité. Au-delà de ses couleurs et de ses formes qui sont particulièrement appréciées et valorisées dans la peinture et la poésie, son parfum est universellement reconnaissable et aimé. Au cours de cette thèse, nous avons étudié les composés organiques volatils qui jouent un rôle dans l'attractivité du parfum des roses. Ainsi, dans une première expérience, dix variétés de roses fraîchement cueillies ont été présentées en aveugle à vingt participants ayant pour consigne de noter les odeurs selon différents paramètres perceptifs (hédonicité, familiarité...). En parallèle de ces jugements, nous avons évalué, par vidéo-tracking, le comportement moteur des participants reflétant l'attractivité des odeurs de manière inconsciente. Les composés organiques volatils émis par les différentes roses ont ensuite été capturés par headspace et analysés par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Dans ce contexte, nous avons étudié les relations entre les espaces biochimiques, perceptifs et comportementaux et montré en particulier l'importance des oxylipines dans le caractère plaisant des roses. Ces données originales mettent en lumière la complexité des mécanismes mis en jeu dans la perception d'un mélange complexe d'odorants et l'importance de composés à odeur verte dont le rôle a été jusqu'ici négligé dans l'attractivité du parfum de la rose.

Dans une seconde expérience, nous nous sommes demandé dans quelle mesure la sélection a pris en compte le caractère olfactif et si cela a influencé la diversité des allèles des gènes impliqués dans les voies de biosynthèse des composés olfactifs. Nous avons donc étudié la diversité allélique des gènes *NUDX1-1* et *PAAS* dans soixante cultivars de roses, aux origines géographiques différentes. Cette diversité des allèles s'est révélée faible ce qui pourrait suggérer une faible diversité génétique des croisements réalisés par les obtenteurs. Ce résultat pourrait également être dû à la prise en compte du caractère « parfum » dans le processus de sélection.

Ce travail a été financé par le Pack Ambition Recherche de la Région AURA et soutenu par le CNRS, l'INSERM et l'Université Jean Monnet de Saint-Etienne.

Abstract

The rose is one of the most cultivated ornamental plants in the world and has been since antiquity. In addition to its colors and shapes, which are particularly appreciated and valued in painting and poetry, its fragrance is universally recognizable and loved. During this thesis, we studied the volatile organic compounds that play a role in the attractiveness of the rose fragrance. Thus, in a first experiment, ten varieties of freshly picked roses were presented blindly to twenty participants who were instructed to rate the odors according to different perceptual parameters (hedonicity, familiarity, etc.). In parallel to these assessments, we evaluated, by video-tracking, the motor behavior of the participants reflecting the attractiveness of the odors in an unconscious manner. The volatile organic compounds emitted by the different roses were then captured by headspace and analyzed by gas chromatography-mass spectrometry. In this context, we studied the relationships between biochemical, perceptual, and behavioral spaces and showed the importance of oxylipins in the pleasantness of roses. These original data highlight the complexity of the mechanisms involved in the perception of a complex mixture of odorants and the importance of green-smelling compounds whose role in the attractiveness of rose scent has been neglected until now.

In a second experiment, we asked to what extent selection has considered the olfactory character and whether this has influenced the allele diversity of genes involved in the biosynthetic pathways of olfactory compounds. We therefore studied the allelic diversity of the *NUDX1-1* and *PAAS* genes in sixty rose cultivars of different geographical origins. This allelic diversity was very low, which could suggest a small genetic diversity of crosses made by breeders. This result could also be due to the consideration of the fragrance character in the selection process.

This work was financed by the Ambition Research Pack of the AURA Region and supported by the CNRS, INSERM and the University Jean Monnet of Saint-Etienne.

Liste des abréviations

2PE : 2-phényléthanol
BNST : Noyau du lit de la strie terminale
CCD : (di-)oxygénase de clivage des caroténoïdes
COV : Composés volatiles odorants
DMT : 3,5-diméthoxytoluène
DMAPP : diméthylallyl diphosphate
FPP : Farnésyl diphosphate
GPP : Géranyl diphosphate
GLV : Green Leaf Volatiles
HE : Huile essentielle
HPA : Axe hypothalamo-pituitaire-adrénocortical
IPP : Isopentényl diphosphate
IRMf : Imagerie par résonnance magnétique fonctionnelle
LOX : Lipoxygénases
MDBF : Multidimensional Mood Questionnaire
MEP : Méthylerythritol phosphate
MVA : Acide mévalonique
OBP : Odorant Binding Proteins
OOMT : Orcinol O-méthyltransférases
PAAS : Phénylacétaldéhyde synthase
PAP1 : Anthocyanine pigment 1
PAR : Phénylacétaldéhyde réductase
R. : *Rosa*
RO : Récepteurs olfactifs
RyPPDC : Phénylpyruvate décarboxylase
VIGS : Virus-induced gene silencing
TMB : 1,3,5-triméthoxybenzène

Table des illustrations

Figure 1 : Groupes horticoles du genre <i>Rosa</i>	p.3
Figure 2 : Classification des roses cultivées	p.3
Figure 3 : Principaux sites producteurs d'huiles de roses dans le monde	p.7
Figure 4 : Différents domaines d'application de l'huile essentielle de rose	p.8
Figure 5 : Voie de biosynthèse des terpènes dans la cellule végétale	p.13
Figure 6 : Voie de biosynthèse des phénylpropanoïdes chez le rosier	p.17
Figure 7 : Voie de biosynthèse des phényl méthyl éthers chez le rosier	p.18
Figure 8 : Schéma simplifié de la voie de biosynthèse des oxylipines	p.20
Figure 9 : Schéma simplifié des voies ortho- et rétro-nasales chez l'humain	p.22
Figure 10 : Organisation schématique de l'épithélium olfactif	p.25
Figure 11 : Exemple de patrons d'activation des récepteurs olfactifs en réponse à différents odorants	p.26
Figure 12 : Organisation schématique du bulbe olfactif	p.27
Figure 13 : Représentation schématique du système olfactif	p.28
Figure 14 : Représentation schématique du codage additif et/ou suppressif des réponses des RO activés	p.34

Introduction

I] La rose, son histoire et son parfum

A] Le genre *Rosa*

Les rosiers sont des angiospermes (plantes à fleurs) et font partie de la famille des Rosacées. Cette famille comprend également certaines espèces fruitières comme le pommier ou le fraisier, mais aussi des espèces ornementales comme le laurier cerise. Environ 150 espèces de roses sauvages sont répertoriées (MacPhail & Kevan, 2001). La classification botanique des rosiers proposée par Alfred Rehder (Rehder, 1940) est encore fréquemment citée. Selon cette ancienne classification, le genre *Rosa* est divisé en 4 sous-genres : *Hesperodos*, *Platyrhodon*, *Hulthemia* et *Eurosa*, lui-même sous-divisé en 10 sections (Table 1).

Cependant, cette classification n'est pas entièrement validée par les études phylogénétiques, qui montrent que le genre *Rosa* serait plutôt divisé en 2 sous-clades majeurs, les *Synstylae* et les *Cinnamomeae* (Fougère-Danezan et al., 2015; Wissemann, 2003; Wissemann & Ritz, 2005).

Table 1 : Classification des sous-genres du genre *Rosa*, de ses sections ainsi que ses origines (Adaptée de la révision de Wissemann en 2003 de la classification de Rehder, 1960).

Sous-genre	Sections	Origines
<i>Hesperodos</i>		Amérique du Nord
<i>Platyrhodon</i>		Chine / Japon
<i>Hulthemia</i>		Asie
<i>Eurosa</i>	<i>Banksianae</i>	Chine
	<i>Bracteatae</i>	Chine
	<i>Caninae</i>	Europe / Asie
	<i>Carolinae</i>	Amérique du Nord
	<i>Cinnamomae</i>	Europe / Asie / Amérique
	<i>Gallicanae</i>	Europe
	<i>Indicae</i>	Chine
	<i>Laevigatae</i>	Chine
	<i>Pimpinellifoliae</i>	Europe / Asie
	<i>Synstylae</i>	Europe / Asie / Amérique

Toutefois, la prise en compte des processus d'hybridations interspécifiques et des différents niveaux de ploïdie rend la classification encore difficile aujourd'hui (Debray et al., 2022). Les rosiers ont un nombre de chromosomes de base de $x=7$ et sont souvent polyploïdes avec des espèces à niveaux de ploïdies variées : diploïdes, triploïdes, tétraploïdes, pentaploïdes ou encore hexaploïdes.

Les plus vieux fossiles du genre *Rosa* dateraient de plusieurs millions d'années et présentent des fragments de folioles ou de tige et non de fleur entière (Guoliang, 2003; Krussmann, 1981). La toute première représentation de rose daterait de 1700 à 1500 ans avant J-C, découverte réalisée lors des fouilles du palais de Cnossos en Crète en 1900 (Tucker, 2004). Sur cette représentation, « la fresque à l'oiseau bleu » sont figurées trois roses, dont une seulement est originelle et les deux autres rajoutées lors de la restauration du palais. Les espèces sauvages du genre *Rosa* ont généralement cinq pétales et cinq sépales, avec un grand nombre d'étamines. Elles sont issues principalement d'Europe et d'Asie de l'Est, du sous genre *Eurosa*, le plus important en nombre d'espèces.

Le parfum de la rose est émis de manière rythmique durant la journée, particulièrement en milieu de matinée (Picone et al., 2004). L'émission de ce parfum permet l'attraction des pollinisateurs, essentiellement généralistes dont les abeilles et les bourdons. Le pollen a une odeur particulière, différente de l'odeur générale de la fleur, conduisant les pollinisateurs vers le pollen (Dobson, 1991). L'âge de la fleur détermine le comportement des pollinisateurs, au fur et à mesure que la fleur entre en sénescence, celle-ci produit moins de pollen et perd en couleur. Les insectes pollinisateurs sont attirés par les odeurs et les couleurs des fleurs, dont la rose, et reconnaissent une fleur fraîchement épanouie, produisant le plus de pollen (MacPhail et al., 2007).

Il existe des composés, tels que l'eugénol, ayant une odeur dite « pollinique », permettant aux insectes pollinisateurs de différencier les fleurs mais également de distinguer si une fleur offre du pollen en quantité suffisante ou non pour l'insecte (Dobson & Bergström, 2000).

B] Domestication et diversités des variétés modernes

De huit à vingt espèces de roses auraient conduit à la domestication des rosiers cultivés (dont *R. canina*, *R. chinensis*, *R. foetida*, *R. gallica*, *R. gigantea*, *R. moschata*, *R. multiflora*, *R. phoenicia*, *R. rubra*, *R. rugosa*, *R. wichurana*) (Dubois et al., 2011). A partir de ces espèces,

Introduction

l'humain a créé plus de 30000 variétés de roses. La domestication a ainsi donné de nouveaux groupes horticoles du genre *Rosa* (Cairns, 2003; Guoliang, 2003) (Figures 1 et 2).

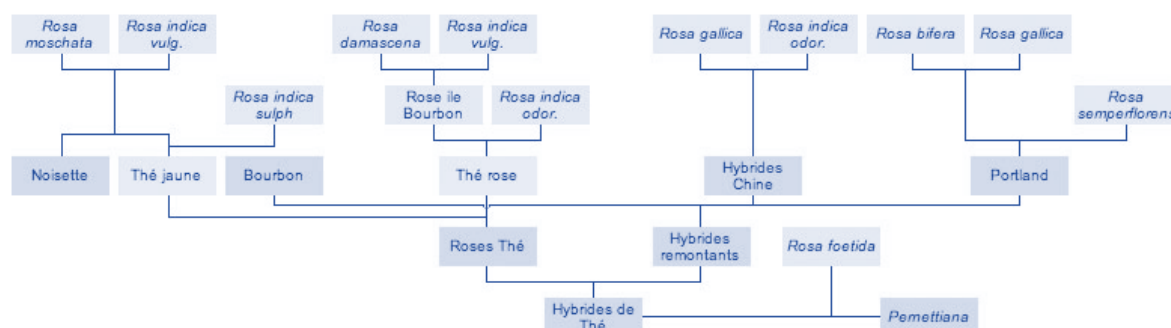


Figure 1 : Groupes horticoles du genre *Rosa* (Figure adaptée d'après Cairns, 2003).

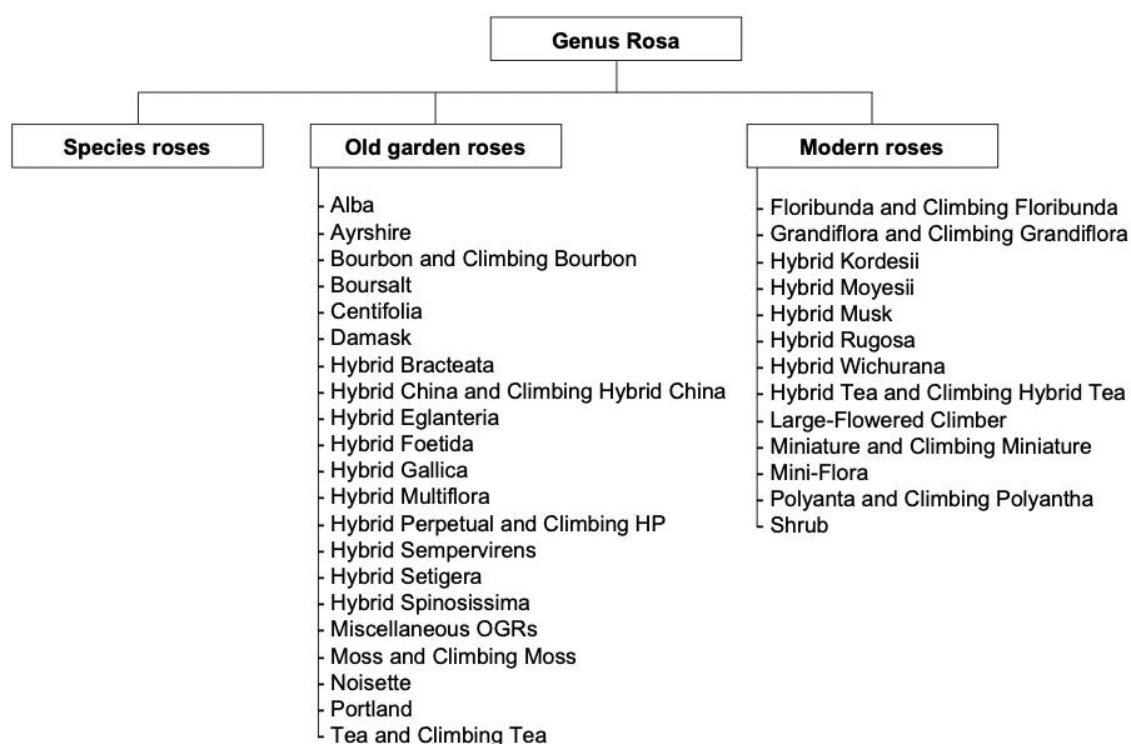


Figure 2 : Classification des roses cultivées (Figure issue de la thèse de C. Conart, 2022)

Un des critères de sélection des rosiers dans la domestication est la remontance, due à une mutation de certaines variétés chinoises. Ces variétés peuvent fleurir plusieurs fois entre le printemps et l'automne, ce qui leur a permis d'être particulièrement appréciées par les amateurs de roses. La plupart des rosiers européens, eux, ne fleurissent qu'une seule fois mais la floraison peut durer plus longtemps que celle des rosiers chinois. La remontée de floraison serait contrôlée par un gène majeur, le gène *RoKSN*. Les rosiers non-remontants produisent un

répresseur (KSN) après la première floraison mais une mutation empêche la production du répresseur chez les rosiers à floraison continue (Iwata et al., 2012). A partir de cette observation, l'humain a croisé des variétés asiatiques et européennes, pouvant bénéficier des qualités de chacune, par des processus d'hybridation. Par son influence, l'humain a domestiqué la rose, provoquant l'apparition de plusieurs nouveaux groupes de rosiers au cours du temps.

1) *La domestication, de l'antiquité à nos jours*

Pour les Grecs antiques, la rose était née du sang d'Adonis et des pleurs que versa Aphrodite sur son amant. Pour les Perses, elle était fleur du "paradis", ces premiers jardins de l'humanité emplis de charmes et de sagesse. Des écrits de l'antiquité montrent que la rose était déjà bien appréciée des Egyptiens, des Grecs et des Romains. Confucius, philosophe chinois (551-479 av JC) évoquait déjà dans ses écrits les roses des jardins impériaux de Pékin. Plus tôt encore, des récits de l'Iliade (Homère, IX^{ème} s. av JC) racontent qu'Hector, guerrier troyen tué par Achille a été enduit d'huile de rose avant son enterrement, pour le laver de toutes les souffrances que son corps a endurées. Sans oublier l'histoire de Cléopâtre qui, dans le but de séduire Marc-Antoine, aurait répandu dans tous ses appartements des pétales de roses afin qu'il puisse associer à son souvenir le parfum envoutant de la rose. L'odeur de la rose est au centre de nombreux usages depuis très longtemps, lors de cérémonies religieuses, de bains thermaux, lors de banquets, elle peut être aussi utilisée comme matière première de médicaments (Caissard et al., 2022).

On ne retrouve les rosiers sauvages que dans l'hémisphère nord initialement. Au 13^{ème} siècle, avec les croisades, les voyageurs auraient ramené du proche orient, notamment de la région de Damas, *R. gallica* 'officinalis' à Provins, en France. Cette rose fut surnommée la rose des apothicaires car elle était initialement utilisée pour ses vertus médicinales, bien qu'ensuite elle fut cultivée pour sa beauté au jardin. La rose *R. x damascena* 'Trigintipetala' ou 'Kazanlick', communément appelée « Rose de Damas », est principalement cultivée de nos jours pour l'extraction de son huile essentielle (Rusanov et al., 2009).

La rose était considérée au XIX^{ème} siècle voire au début du XX^{ème} siècle comme symbole de richesse, puisque seulement les personnes très fortunées avaient le privilège de la cultiver. Elle faisait l'objet d'exhibition « de richesse », comme des vêtements de haute couture ou des bijoux de grande valeur. Bien que plus accessible aujourd'hui, ses couleurs, son parfum, ses formes sidèrent encore et la placent toujours comme la reine des fleurs. Elle est très présente

dans nos souvenirs d'enfance, symbole de nostalgie, d'amour de la beauté mais surtout d'amour.

Les deux principales zones de domestication des roses étaient la Chine et la zone périméditerranéenne, qui englobe une partie de l'Europe et du Moyen-Orient, où *R. chinensis* Jacq. et *R. gallica* L. (respectivement) auraient contribué de manière prédominante au processus de sélection des rosiers (Dubois et al., 2011). Les croisements artificiels entre les rosiers asiatiques et européens ont permis la création des "cultivars de roses modernes". Bien que des témoignages et des documents historiques documentent les principaux croisements qui ont conduit aux roses modernes, la base génétique sur laquelle les cultivars de roses modernes sont établis est encore mal comprise (Martin et al., 2001). Les premiers croisements donnent les rosiers Bourbon, Noisette, Thé et les hybrides remontants (Fig. 2). Cependant, les rosiers ramenés des pays chauds ont du mal à supporter le froid d'Europe. Les obtenteurs ont alors commencé à créer de nouveaux hybrides plus résistants. En 1900, le rosiériste Pernet-Ducher créa à partir d'un croisement 'Antoine Ducher' × *R. foetida* 'Persian Yellow' un nouvel hybride : 'Soleil d'Or', qui fut la première variété de couleur jaune orangé avec un parfum agréable. Dès lors, de nouvelles expérimentations donnent lieu notamment au premier rosier moderne hybride de thé : le rosier 'La France', par Jean-Baptiste Guillot en 1867. Le rosier 'La France' résulte de croisements entre une rose ancienne (Thé) et une rose chinoise (hybride remontant). Cette date marque un tournant dans l'histoire des roses car elle a permis la création de roses pouvant fleurir du printemps aux premières gelées et ainsi garantir une floraison pendant presque une demi-année. Dans les années 60s, nous avons pu constater la création des « roses rétro » qu'on appelle aussi « roses anglaises » par le rosiériste David Austin, qui a croisé des roses modernes et des roses anciennes, qui ont la particularité d'avoir le feuillage résistant des roses d'aujourd'hui et les fleurs et le parfum des roses anciennes.

La beauté d'une rose ne vient pas uniquement de son esthétique ou de son parfum, mais elle plaît également à travers la symbiose avec son environnement. Ses couleurs, l'ampleur de la taille de ses pétales, son parfum, dépendent du temps qu'il fait au cours de la floraison de la rose. Lorsqu'il fait trop chaud, les pétales palissent et lorsqu'il pleut, le parfum est absent.

2) Usages actuels

Le rosier est utilisé aujourd'hui de différentes manières : comme plante de jardin, comme fleur coupée ou pour la production d'huile essentielle.

Introduction

Pour les roses de jardin, la sélection prend en compte de nombreux critères ornementaux (port de la plante) et esthétiques (couleur, forme de la fleur). La durée et le nombre de floraisons (remontance), la résistance aux maladies et la présence de parfum sont des caractères importants qui sont également pris en compte dans la sélection. A partir de ces roses de jardin, certains obtenteurs ont sélectionné des variétés pour les utiliser dans le marché des fleurs coupées. En France, en 2011, les dépenses en fleurs de la Saint Valentin se montent à 26 millions d'euros, dont la moitié environ pour les roses, soit 12 % des roses offertes de l'année (Pinet & Calas, 2013). En 2017, à l'occasion de la Saint Valentin, les roses ont représenté 74% des achats de fleurs coupées en France (Joly, 2018). Moins de 1% de ces roses sont produites en France, les autres provenant essentiellement du Kenya et des Pays-Bas. Toutefois, les roses coupées ont perdu leur parfum par rapport aux roses de jardin, chez lesquelles le parfum est souvent bien présent. Cette perte de parfum n'est pas encore totalement expliquée, bien que certaines hypothèses aient été émises : la tenue en vase et la capacité d'adaptation et de défense contre les maladies auraient été sélectionnées aux dépens du parfum des roses (Caissard et al., 2022). Toutefois, une étude a infirmé l'hypothèse de la tenue en vase en montrant que l'émission de composés volatils dans les roses coupées se produit indépendamment de la sénescence des pétales (Borda et al., 2011).

La rose est aussi cultivée un peu partout dans le monde à des fins cosmétiques. L'huile essentielle (HE) est produite à partir de l'hydrodistillation des pétales de roses dont la décantation permet d'obtenir également de l'eau de rose (Figure 3). L'hydrodistillation est la plus ancienne méthode d'extraction d'HE (Katekar et al., 2022). C'est en Perse (actuel Iran) que l'HE de rose aurait été créée. Une légende raconte que lors de sa nuit de noces, une princesse perse aurait été attirée par des pétales de roses flottant sur un bassin en plein soleil, laissant émaner ses huiles odorantes. Aujourd'hui, l'HE de rose est devenue l'une des huiles les plus utilisées par les parfumeurs. Le processus d'extraction de la rose pour créer l'HE est très méticuleux. La culture des roses est très contrôlée. Celle-ci doit être réalisée dans des régions localisées à une altitude d'au moins 1050 m au-dessus du niveau de la mer. La récolte des roses se fait entre mai et juin, en début de matinée. La production d'HE se fait immédiatement après la cueillette. Ces particularités de cueillette de la rose font d'elle une fleur précieuse et très prisée. Dans leur revue, Katekar et ses collaborateurs ont tenté d'énumérer les conditions opératoires optimales pour un rendement maximal de l'HE de rose par hydrodistillation (Katekar et al., 2022). La distillation de deux tonnes de rose, soit environ 100 millions de pétales de rose, est nécessaire à la production de 500 g d'HE de rose (Van de Pol, 2003).



Figure 3 : Principaux sites producteurs d'huiles de roses dans le monde (Figure issue de Mileva et al, 2021).

Une autre méthode est utilisée pour extraire le parfum de la rose. Ainsi, la concrète de rose est fabriquée à partir d'une extraction par le solvant hexane jusqu'à saturation, cette extraction étant ensuite décantée, concentrée et distillée ; Le produit final est appelé absolue de rose (Caissard et al., 2022). Près de 400 kg de pétales de rose sont nécessaires pour l'obtention d'1 kg de concrète et de 0,5 kg d'absolu de rose. A titre indicatif, le prix des produits de rose, en 2008, pour 1 kg d'huile essentielle de rose était de plus de 5200 €, 550 € pour 1 kg de concrète de rose et 1300 € pour 1kg d'absolu.

En 2018, le marché mondial de l'HE de rose était évalué à 278,7 millions de dollars américains (*Rose Oil Market Size, Share | Global Industry Analysis Report, 2025*) et devrait croître à un taux annuel moyen de 6,8% au cours de la période actuelle (entre 2019-2025). En 2025, l'estimation du revenu prévu est de 442 millions de dollars US pour atteindre 742,7 millions de dollars US en 2032 (*Rose Extract Market, 2022*). Des données récentes présentent l'Europe comme la région mondiale dominante sur le marché de l'HE de rose avec une part de 41 %. Environ 70 % de l'HE de rose sont utilisés pour les parfums et les cosmétiques. En 2018, les demandes des consommateurs pour les parfums sont des notes fruitées et florales. Parmi les variétés de roses, *R. x damascena* et *R. centifolia* présentent la majorité de la part du marché mondial (*Rose Oil Market Share, Size, Growth, Opportunity and Forecast 2022-2027*). La rose est présentée comme gage de valeur pour certaines grandes marques de parfumerie de luxe

Introduction

(*Rose Oil Market Share, Size, Growth, Opportunity and Forecast 2022-2027*). Outre son utilisation en cosmétique et en parfumerie, la rose est également utilisée dans les produits de soins personnels et notamment pour le bien-être induit avec l'aromathérapie. L'aromathérapie est une méthode alternative et complémentaire à la médecine traditionnelle qui consiste à utiliser l'HE des plantes pour moduler l'humeur et la santé (Ali et al., 2015).

L'humain cultive donc la rose pour son esthétique et son parfum emblématique mais également pour ses bienfaits en cosmétologie. En effet, l'HE de rose a des propriétés anti-inflammatoires mais aussi hydratantes grâce aux acides gras et aux cires extraits des pétales de roses, qui peuvent également stimuler la synthèse de collagène de la peau, lui apportant plus d'élasticité et de souplesse. L'HE de rose présente également des propriétés antiseptiques et calmantes. Elle est utilisée à de nombreuses fins (Figure 4).

Huiles essentielles			
Utilisations pour la saveur et l'agroalimentaire	Utilisations pour le soin	Utilisations pharmaceutiques	Utilisations industrielles
Nourriture et boissons • Arômes • Conservateurs • Confiseries • Boissons	Produits de toilette et cosmétiques • Parfums, eaux de Cologne • Sprays • Crèmes et poudres • Savons et shampoings	Médicales • Antibactérien • Antifongique • Décongestionnant	Industries du agrochimiques • Sprays • Répulsifs • Appâts
Industrie du tabac • Arômes • Fixateurs	Produits de soins dentaires • Dentifrices • Bains de bouches • Antiseptiques • Ciments dentaires	Vétérinaires • Pharmaceutiques	Industries automobiles • Vernis • Nettoyants • Désodorisants
Pharmaceutiques • Arômes	Produits ménagers • Savons et détergents • Nettoyants • Rafraîchisseurs d'air		Industries du papier • Crayons, encres • Etiquettes, emballages, papiers
			Industries du caoutchouc et plastique • Désodorisants • Caoutchouc et plastiques
			Industries du textile • Désodorisants • Tapisseries • Matériaux de finition
			Industries de la peinture et de l'adhésifs • Ciments et colles • Peintures et décapants • Nettoyants et rafraîchisseurs d'air

Figure 4 : Différents domaines d'application de l'huile essentielle de rose (Figure adaptée de Katekar et al., 2022).

Aussi, peu de fleurs ont tout un vocabulaire qui leur est dédié : les rosomanes, qui étaient les passionnés de roses, les rosiéristes, qui sont les horticulteurs qui cultivent les rosiers, les rhodologues décrivant les spécialistes de la culture des roses, ou de leur étude scientifique ou encore les roseraies qui font référence aux parcs et plantations de rosiers. Quant aux roseraies, certaines se voient offrir pour une durée de cinq ans, le label de jardins remarquables attribué par le Conseil national des Parcs et Jardins, institution dépendante du ministère de la Culture et de la Communication. Ce label est réservé aux parcs présentant un « intérêt culturel, esthétique,

historique ou botanique, qu'ils soient publics ou privés ». Par ailleurs, la ville où j'ai réalisé en grande partie ma thèse est riche en histoire de roses. Le célèbre Parc de la Tête d'Or de Lyon ne compte pas moins de trois roseraies : la Roseraie internationale de Lyon, la Roseraie Historique du Jardin Botanique de la Ville de Lyon ainsi que la Roseraie de Concours.

3) La culture de la rose en période de réchauffement climatique

A l'heure où les activités humaines ont un impact très important sur le réchauffement climatique, la culture de la rose a également été repensée afin de limiter les productions de dioxyde de carbone. Le domaine de la rose coupée est particulièrement coûteux en énergie. Environ 90 % des roses importées en France proviennent des Pays-Bas et les 11 % supplémentaires du Kenya, d'Éthiopie, d'Équateur et de Colombie (Joly, 2018). Tandis que les roses cultivées en Afrique poussent et fleurissent en plein air dans des conditions climatiques idéales, elles doivent être réfrigérées lors du transport, dans des emballages plastifiés pour la vente en Europe et le transport génère une consommation énergétique importante. A l'inverse, la culture des roses en Europe et principalement aux Pays-Bas entraîne moins d'émission de CO₂ liée aux transports mais les roses y sont cultivées sous serre à 20 °C toute l'année (Joly, 2018). Ainsi, une rose cultivée au Kenya ou aux Pays-Bas émet plus de 2 kg de CO₂ : une consommation très importante. Les roses provenant d'Afrique et d'Amérique centrale voyagent en avion et donc la culture de ces roses émet beaucoup de CO₂. Une étude britannique en 2007, de l'université de Cranfield, a démontré que la culture d'une rose aux Pays-Bas produit 6 fois plus de CO₂ qu'une rose cultivée au Kenya, à cause de la production en serre, du chauffage et/ou de la climatisation et de l'éclairage. La production des roses est à elle seule responsable de 99 % de l'empreinte carbone des roses aux Pays-Bas contre 7,3 % au Kenya (Alig & Frischknecht, 2018; Franze & Ciroth, 2011; Williams, 2007).

Aussi, l'utilisation importante d'engrais et de pesticides contribue également d'une certaine manière au dérèglement climatique. Plus de 100 kg de pesticides par hectare de roses sont utilisés aux Pays-Bas et le double en Colombie (du Roy, 2014). Aucune réglementation n'impose de limite quant à l'utilisation de produits chimiques pour les fleurs coupées non comestibles (Ambert, 2021). Cependant, les producteurs tendent vers une démarche éco-responsable de la culture de la rose en réduisant le recours aux produits phytosanitaires.

Pour la consommation d'eau, une méthode d'hydroponie avec système de récupération d'eau est majoritairement utilisée aux Pays-Bas, dont il est encore difficile d'évaluer l'impact environnemental (Ambert, 2021). Ainsi, une rose néerlandaise nécessite un peu plus de 3 L

d'eau seulement comparée à une rose d'Équateur, cultivée en sol, qui utilise 18 L d'eau. Au Kenya, la production de roses se concentre à côté du lac Naivasha, ce qui entraîne son assèchement et sa pollution (Ambert, 2021; du Roy, 2014).

En France, plusieurs labels ont vu le jour pour garantir une culture de la rose respectueuse de l'environnement tout en garantissant la qualité des roses, dont le label Fairtrade/Max Havelaar. En 2017, 23 millions de roses ont été ainsi labellisés sur les 600 millions vendus. Ce n'est encore qu'un début mais qui tend vers une prise de conscience massive de la surconsommation induite par la culture de la rose. Les labels garantissent à la fois de bonnes conditions environnementales visant à réduire la consommation d'eau et de pesticides mais également de bonnes conditions sociales : protection sociale, salaire minimum légal, accès à de meilleures conditions de travail (Franze & Ciroth, 2011).

C] Les composés volatils émis par la rose

L'odeur typique de rose n'est pas si évidente à se mettre en tête. En effet, il nous suffit de nous promener à travers les jardins pour nous éni vrer de différents parfums de rose avec tantôt des notes de thé ou d'anis, tantôt de clou de girofle et bien souvent de fruit. Les composés organiques volatils (COV) émis par les pétales de la fleur sont souvent considérés comme attractifs pour les pollinisateurs, tandis que les COV émis par les parties dites « vertes » de la plante (feuilles ou sépales) auraient plutôt un rôle de répulsif pour d'autres insectes ravageurs (Pichersky & Gershenzon, 2002). Parmi les variétés de roses à parfum, les rosiers d'origine européenne et chinoise n'émettent pas les mêmes COV, et donc ont un parfum assez distinct. Les COV des rosiers européens sont principalement le 2-phenyléthanol et ses dérivés ainsi que les monoterpènes et sesquiterpènes, tandis que les rosiers chinois émettent souvent des phényl méthyl éthers en grande quantité, ce qui donne à ces roses une odeur dite « de thé » (Conart et al., 2022; Magnard et al., 2015; Roccia et al., 2019; Scalliet et al., 2002, 2008; Sun et al., 2020).

1) *Production de l'odeur de rose*

Tous les organes de la fleur de rosier ont une odeur. Les sépales sécrètent particulièrement des molécules de défense, en particulier des terpènes dans des glandes ou trichomes recouvrant l'épiderme. Ces sécrétions collantes emprisonnent les insectes nuisibles et/ou ont un effet répulsif. Les cellules des pétales de roses synthétisent des molécules variées, dont plusieurs terpénoïdes très différents (Caissard et al., 2006). Dubois et collaborateurs ont décrit les COV

émis par les étamines qui peuvent être différents de ceux des autres organes de la plante (Dubois et al., 2010).

Le pétale est composé de deux couches d'épiderme : l'épiderme supérieur est composé de cellules coniques et l'épiderme inférieur est composé de cellules plates. Bergounoux et collaborateurs ont montré que les deux épidermes produisent et émettent des COV, contrairement au parenchyme qui se trouve entre ces deux épidermes (Bergounoux et al., 2007). Lorsque le pétale est observé en microscopie électronique à balayage environnementale, les gouttes d'HE sont visibles sur les cellules de l'épiderme. Ces cellules, coniques, permettent aux insectes de s'agripper aux pétales (Reed et al., 2022). Les COV sont donc produits dans les différents organes de la fleur et dans les feuilles, ainsi que dans le pollen, mais la production de COV dans les pétales est très majoritaire (cinq fois plus de composés émis par les pétales par rapport à ceux émis par le pollen) (Caser & Scariot, 2022).

2) Les composés volatils de la rose et leurs voies de biosynthèse

Les terpènes, les composés aromatiques et les dérivés d'acides gras (ou oxilipines), sont les principaux COV émis par la rose. Les quantités de ces molécules diffèrent selon l'origine géographique de la variété mais également selon la variété elle-même. Cependant, la quantité d'une molécule n'est pas nécessairement proportionnelle à la capacité de détection du nez humain. En effet, une molécule à très faible concentration peut-être facilement détectable et discriminée par l'humain tandis que certains composés à plus forte concentration sont imperceptibles. La quantité de COV à elle seule ne fait donc pas la qualité du parfum. Les interactions entre molécules peuvent également rentrer en jeu, mais les mélanges d'odeurs sont complexes à évaluer car il est difficile de modéliser et de simplifier les implications de ces interactions selon la présence d'autres composés. Aussi, l'humain peut être comme anosmique à certaines molécules odorantes. Par exemple, Plotto et collaborateurs ont montré que seulement 50% des participants de leur étude détectaient la β -ionone (Plotto et al., 2006). Aussi, certaines molécules peuvent amener différentes représentations mentales de l'odeur selon la concentration. Par exemple, l'indole à faible concentration évoque une odeur florale, tandis qu'à concentration élevée il peut nous rappeler une odeur putride. Une centaine de molécules compose le parfum de la rose. Nous allons voir dans cette partie les catégories de molécules majoritaires classifiées selon leurs voies de biosynthèse.

2.1) Les terpènes et leurs dérivés

Les terpènes représentent la classe de composés chimiques la plus grande et la plus variée de celles retrouvées chez les plantes (Tholl, 2015). Tous les terpènes sont dérivés de l'isopentényl diphosphate (IPP) et de son isomère allylique, le diméthylallyl diphosphate (DMAPP) (Figure 5). Chez les plantes, deux voies indépendantes pour produire l'IPP et le DMAPP ont été mises en évidence : la voie de l'acide mévalonique (MVA), principalement cytosolique, et la voie du méthylerythritol phosphate (MEP) qui est plastidiale (Tholl, 2015). Ces précurseurs sont ensuite transformés en prényl diphosphates, géranyl diphosphate (GPP) pour les monoterpènes (composés en C₁₀), et farnésyl diphosphate (FPP) pour les sesquiterpènes (composés en C₁₅). Finalement, le GPP et le FPP sont utilisés comme substrats par des mono- ou des sesquiterpène synthases, pour la production des monoterpènes et des sesquiterpènes, respectivement (Tholl, 2015). Dans cette partie, nous nous intéresserons principalement aux monoterpènes, sesquiterpènes, ionones et oxydes de rose, qui composent majoritairement la classe des terpènes dans le parfum de la rose. La voie MVA fournit principalement les précurseurs pour la biosynthèse cytosolique des sesquiterpènes, et la voie MEP est impliquée dans la biosynthèse des monoterpènes, des caroténoïdes et de leurs produits de dégradation, comme les ionones (Tholl, 2015). Cependant, récemment, Corentin Conart a démontré dans sa thèse que chez la rose, la biosynthèse du géraniol, composant majeur de l'odeur de rose, implique la voie du MVA. Cette voie de biosynthèse est cytosolique, ce qui indique que plusieurs voies sont mises en jeu dans la synthèse des monoterpènes (Conart, 2022).

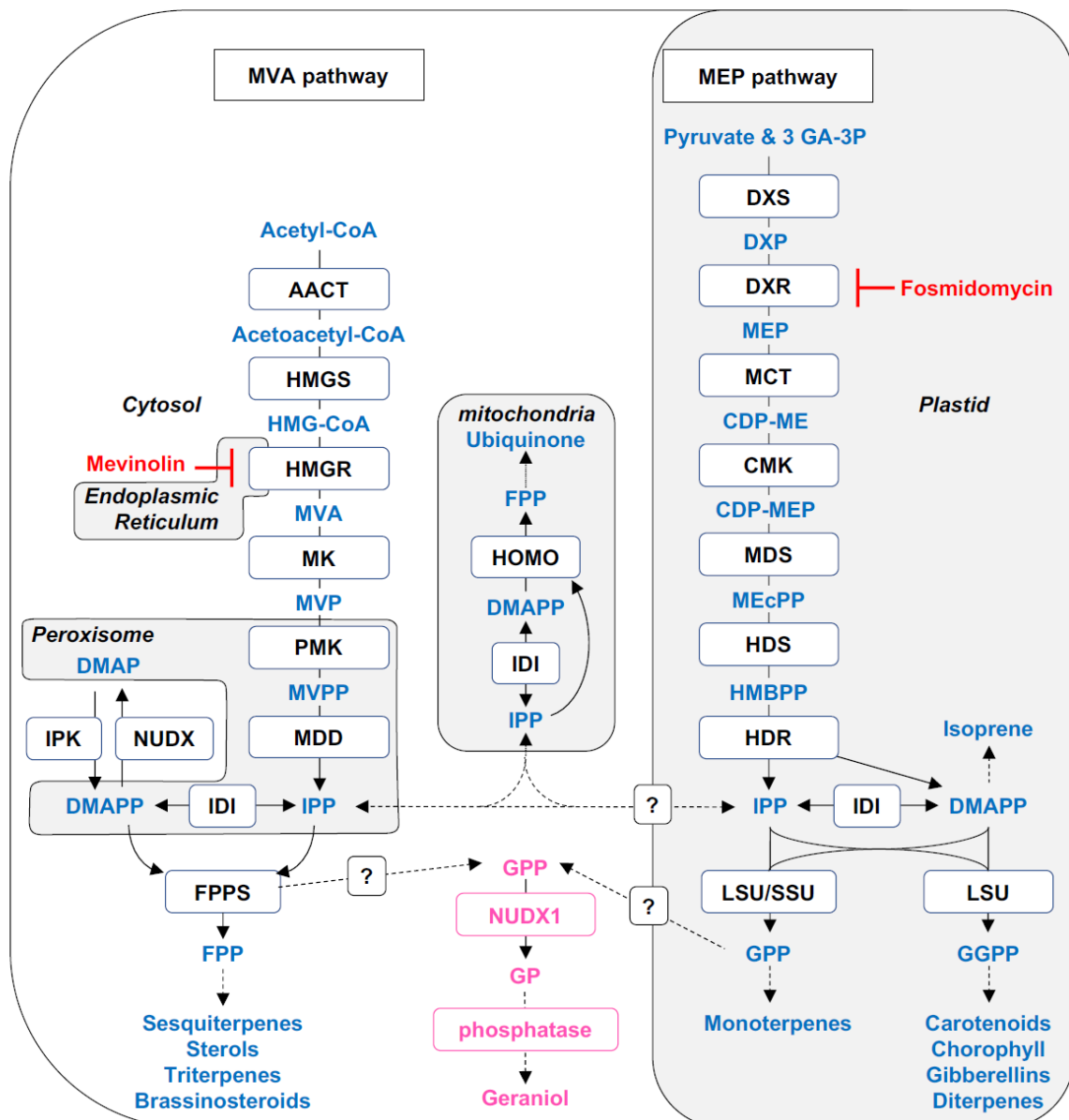


Figure 5 : Voie de biosynthèse des terpènes dans la cellule végétale. Adapté de Pulido et al. 2012 et issue de Conart, 2022. Les noms des enzymes sont en noir et les produits en bleu. En rouge sont représentés les inhibiteurs spécifiques. Les flèches en pointillé représentent une étape enzymatique multiple ou une enzyme inconnue. AACT : acétoacétyl-CoA thiolase ; DMAP : phosphate de diméthylallyle ; DMAPP : diphosphate de diméthylallyle ; DXP : 1-désoxy-D-xylulose 5-phosphate ; DXR : 1-désoxy D-xylulose 5-phosphate réductoisomérase ; DXS : 1-désoxy-D-xylulose 5-phosphate synthase ; CDP-ME : 4-(cytidine 5'-diphospho)-2-C-méthyl D-érythritol ; CDP-MEP : 4-(cytidine 5'-diphospho)-2-C-méthyl D-érythritol 2-phosphate ; CMK : 4-(cytidine 5'-diphospho)-2-C-méthyl D-érythritol kinase ; FPP, farnésyl diphosphate ; FPPS, farnésyl diphosphate synthase ; GA-3P, glycéraldéhyde 3-phosphate ; GP : géranyl phosphate ; GPP : géranyl diphosphate ; GGPP : géranyl-géranyl diphosphate ; HDR : 1-hydroxy-2-méthyl-2-butényl 4-diphosphate réductase ; HDS : 1-hydroxy-2-méthyl-2-butényl 4-diphosphate synthase ; HMBPP : 1-hydroxy-2-méthyl-2-butényl 4- diphosphate ; HMG-CoA : 3-hydroxy-3-méthylglutaryl CoA ; HMGR : 3-hydroxy 3-méthylglutaryl CoA réductase ; HMGS : 3-hydroxy-3-méthylglutaryl CoA synthase ; HOMO : GPPS homodimérique ; IPK : isopentényl phosphate kinase ; IPP : isopentényl diphosphate ; LSU : grande sous-unité ; MCT, 2-C méthyl-D-érythritol 4-phosphate cytidyltransférase ; MDS : 2-C-méthyl D-érythritol 2,4-cyclodiphosphate synthase ; MDD : 5-diphosphomévalonate décarboxylase ; IDI : isopentényl diphosphate isomérase ; MEcPP : 2-C-méthyl-D-érythritol 2,4-cyclodiphosphate ; MEP : 2-C-méthyl-D-érythritol 4-phosphate ; MK : mévalonate kinase ; MVA, : acide mévalonique ; MVP : 5-phosphomévalonate ; MVPP : 5-diphosphomévalonate ; NUDX : nudix hydrolase ; PMK : 5-phosphomévalonate kinase ; SSU : petite sous-unité.

2.1.1) Monoterpènes

Les monoterpènes les plus fréquents chez la rose sont le géraniol, le citronellol, le nérol et leurs dérivés (Erbaş & Baydar, 2016; Jirovetz et al., 2005; Magnard et al., 2015; Umezu et al., 2002; Yassa et al., 2015; Yi et al., 2019). Ces monoterpènes participent grandement à l'odeur de rose douce et citronnée (Xiao et al., 2017). Chez la plupart des plantes, la synthèse des terpènes fait intervenir des enzymes particulières, les terpène synthases. Chez la rose, il a été montré que la synthèse des monoterpènes résulte de l'implication d'un gène original, *NUDX1-1*. La superfamille des NUDX joue un rôle très intéressant chez la rose car très différent du rôle habituel qu'elle joue chez les autres espèces. Les NUDX forment un groupe de protéines partagé par les trois grands domaines de la vie cellulaire et les virus. Elles ont en général un rôle de réduction du stress cellulaire oxydatif (Bessman et al., 1996). Ce clade aurait évolué de manière différente dans le genre *Rosa*, jouant un rôle fonctionnel dans la synthèse de certains COV, les monoterpènes comme le géraniol (Conart et al., 2022; Magnard et al., 2015). L'enzyme NUDX1-1 transforme le géranyl diphosphate (GPP) en géranyl monophosphate (GP), qui est lui-même transformé en géraniol par une phosphatase encore inconnue. *RhNUDX1-1* est 1000 à 7000 fois plus exprimé chez les roses très parfumées par rapport aux roses non parfumées, et cette expression est fortement corrélée à l'émission de monoterpènes.

Il existe de nombreuses copies de *NUDX1* dans le génome de 'Old Blush', une des premières roses domestiquées (Conart et al., 2022; Sun et al., 2016). Ces copies sont présentes sur 4 chromosomes, les chromosomes 2, 4, 6 et 7. La présence de copies sur le chromosome 2 est assez récente chez les Rosacées car elle n'est observée que dans le genre *Rosa*, et pas chez les autres genres de cette famille (Conart et al., 2022). D'après l'étude de Conart et al., (2022), le gène *NUDX1-1b* initialement présent sur le chromosome 4 serait issu d'une mutation de *NUDX1-3* sur le même chromosome. Puis, probablement suite à l'activité d'un transposon, le gène *NUDX1-1b* aurait migré sur le chromosome 2 pour finalement devenir *NUDX1-1a*. Ce gène se serait ensuite dupliqué à plusieurs reprises. Le nombre de répétitions de ce gène sur le chromosome 2 est proportionnelle à l'expression de *NUDX1-1a* dans les pétales, qui est elle-même corrélée avec la quantité de monoterpènes, géraniol et ses dérivés (Conart et al., 2022).

2.1.2) Sesquiterpènes

Alors que le gène *NUDX1-1* joue un rôle important dans la biosynthèse des monoterpènes, un autre gène, appartenant toujours à la superfamille des NUDX, est impliqué dans la synthèse de certains sesquiterpènes. Les sesquiterpènes sont synthétisés en grandes

quantités par certaines roses. Par exemple, de grandes quantités de *E,E*-farnesol sont présentes chez l'hybride *R. x wichurana* (Roccia et al., 2019). En 2020, une étude a mis en évidence le rôle du gène *RwNUDX1-2* dans la synthèse de ce sesquiterpène. En effet, ce gène utiliserait le farnesyl diphosphate (FPP) pour produire du farnésyl monophosphate (FP), qui serait ensuite déphosphorylé par une phosphatase encore inconnue (Sun et al., 2020). D'autres sesquiterpènes comme le germacrène D, très présent chez les roses, sont synthétisés par des terpènes synthases classiques (D. Weiss et al., 2006).

2.1.3) Ionones

Les caroténoïdes jouent un rôle dans la couleur des fleurs, tout comme les flavonoïdes. Les couleurs jaunes et orangées des roses sont surtout associées aux caroténoïdes (Zvi et al., 2012). Les ionones, appelées aussi cétones de rose, sont des COV émis par les roses en quantités souvent faibles. Elles sont les produits de dégradation des caroténoïdes par les (di-)oxygénases (CCD) (Huang et al., 2009). Les différentes protéines CCD génèrent des produits différents. Par exemple, la protéine CCD1 permet la synthèse de β -ionone à partir de la molécule de β -carotène (Paparella et al., 2021).

Le facteur de transcription participant à la production de l'anthocyanine pigment 1 (PAP1) est également impliqué dans la production de β -ionone (Zvi et al., 2012). Les ionones sont surtout caractéristiques des odeurs florales et particulièrement de violette retrouvées chez les plantes.

La β -damascénone, molécule très utilisée notamment en parfumerie pour apporter un côté floral et rosé aux mélanges, n'est pas synthétisée directement par la rose. En effet, celle-ci n'est obtenue qu'après distillation des pétales de roses. Retrouvée en très petite quantité dans l'HE de rose, la β -damascénone contribue de manière importante à son odeur, car son seuil de détection olfactif est très bas (Ohloff & Demole, 1987).

2.1.4) Oxydes de rose

Les oxydes de rose font également partie des molécules responsables de l'odeur de rose. Les isomères d'oxydes de rose ont des qualités olfactives différentes. En effet, l'isomère (-)-cis apporte l'odeur typique de rose (Zhang et al., 2022). La production chimique d'oxydes de rose est possible à partir du β -citronellol, avec le procédé de « dark singlet oxygenation » par l'intermédiaire du processus d'oxydation de l'iodosylbenzène qui permet ainsi la peroxydation radicale du β -citronellol (Alsters et al., 2010; Dwivedi et al., 2018). Cependant, si on suppose

que le β -citronellol pourrait être le précurseur de ces composés, leur biosynthèse dans les pétales de rose n'a pas encore été élucidée.

2.2) Les composés aromatiques

2.2.1) Phénylpropanoïdes et benzénoïdes

Le 2-phényléthanol (2PE, composé en C6-C2 appartenant aux phénylpropanoïdes), majoritairement retrouvé dans le parfum de certaines roses, est utilisé dans l'industrie cosmétique car il est très caractéristique de l'odeur de rose. Au niveau de la plante, cette molécule a des propriétés antimicrobiennes (Berrah & Konetzka, 1962) et est très attractive pour les insectes pollinisateurs, jouant ainsi un rôle important dans la reproduction sexuée des plantes (Pichersky & Gershenzon, 2002).

Le 2PE est synthétisé en partie à partir de l'expression du gène *RhPAAS* (« Phénylacétaldéhyde synthase ») (Kaminaga et al., 2006) (Figure 6). L'enzyme catalyse une décarboxylation couplée à une oxydation de la L-phénylalanine, pour produire du phénylacétaldéhyde. La synthèse du 2PE est complétée par une phénylacétaldéhyde réductase (PAR) (Chen et al., 2011).

En 2016, une voie alternative à la production de 2PE décrite ci-dessus a été proposée par Hirata et collaborateurs. Cette voie alternative se produirait plutôt pendant l'été et serait due à des adaptations saisonnières des plantes sous l'effet de fortes températures. En effet, la voie initiale produirait du 2PE toute l'année, indépendamment des changements de température, avec une production régulière et constante de cette molécule (Hirata et al., 2016). Cette voie adaptative utilise une phénylpyruvate décarboxylase (RyPPDC) (Figure 6). Les niveaux de transcription du gène *RyPPDC* et la production de 2PE qui en résulte sont augmentés en fonction du temps sous des températures élevées, de manière bien plus importante qu'avec la voie initialement décrite (Hirata et al., 2016).

Certaines variétés de rose produisent aussi des benzénoïdes (composés en C6-C1), comme le benzyl alcool et le benzaldéhyde, qui contribuent à leur odeur florale. Les voies de biosynthèse de ces composés, partiellement connues chez d'autres plantes (Widhalm & Dudareva, 2015), n'ont pas encore été étudiées chez la rose.

2.2.2) Phénylpropènes

Parmi les phénylpropènes (composés en C6-C3), l'eugénol et le méthyl eugénol sont souvent retrouvés parmi les COV émis par les roses et sont caractéristiques de l'odeur épicée de certaines variétés. Les étamines, en particulier, sont des organes privilégiés pour l'émission de ces COV (Dubois et al., 2010). Le gène *RcEGS1* joue un rôle important dans la synthèse de ces molécules (Figure 6). Son rôle a été démontré par Yan et collaborateurs, qui ont diminué l'expression de ce gène dans des pétales de rose, grâce à la technique de VIGS (« virus-induced gene silencing »). Cette expérience a permis de réduire de manière significative les quantités d'eugénol chez les roses transformées (Yan et al., 2018).

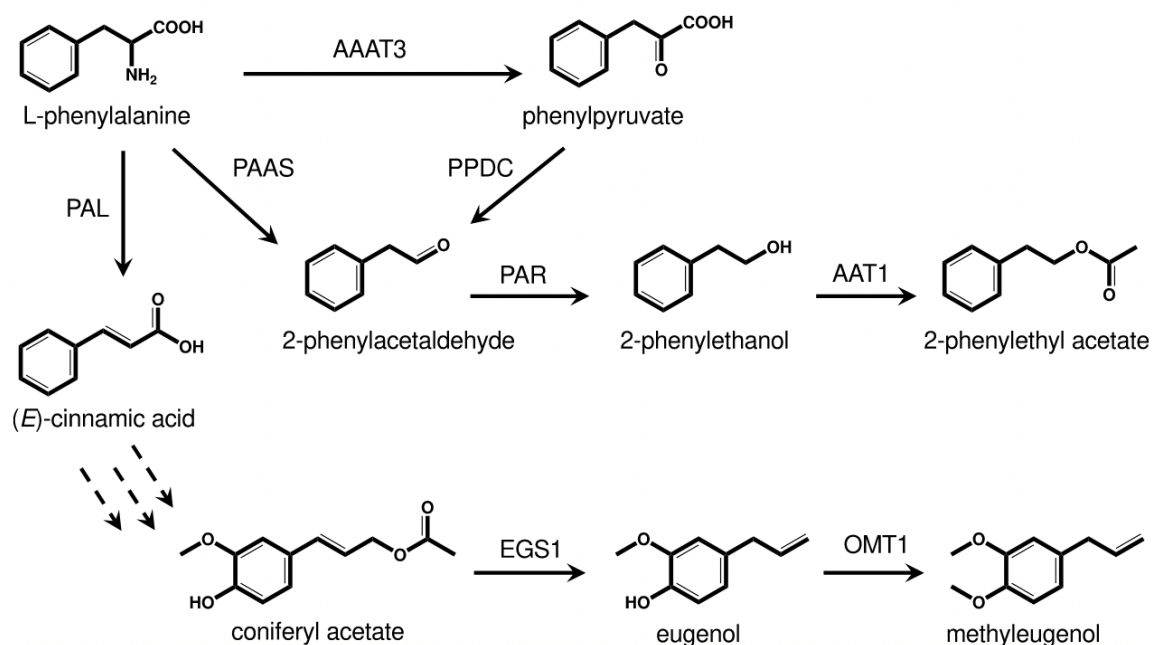


Figure 6 : Voie de biosynthèse des phénylpropanoïdes chez le rosier. Deux voies sont décrites chez le rosier pour produire le 2-phénylacétaldéhyde, précurseur du 2-phényléthanol. Les flèches en pointillé représentent des étapes enzymatiques multiples non caractérisées. AAT1, alcool acétyltransférases ; AAAT3, aminoacides aromatiques aminotransférases ; EGS1, eugénol synthase ; OMT1, O-méthyltransférase ; PAAS, phénylacétaldéhyde synthase ; PAL, phénylalanine ammonia lyase ; PAR, phénylacétaldéhyde réductase ; PPDC, décarboxylase de l'acide phénylpyruvique. Figure issue de Caissard et al, 2022.

2.2.3) Phényl méthyl éthers (DMT et TMB)

Certaines variétés de roses sont dites « à odeur de thé ». L'origine de cette appellation n'est pas claire et n'a peut-être pas de rapport avec l'odeur des feuilles de thé. Elle pourrait plutôt venir de la déformation du terme anglais « Fa Tea roses », indiquant que ces roses ont été ramenées de la pépinière chinoise « Fa Ti ». Quoi qu'il en soit, l'odeur de « thé » de ces roses est principalement due à l'émission de deux composés : le 3,5-diméthoxytoluène (DMT) et le 1,3,5-triméthoxybenzène (TMB), tous deux issus de la même voie de biosynthèse. Les roses hybrides de thé sont des croisements des roses européennes et chinoises, l'odeur de « thé » provenant de ces dernières, principalement de la rose sauvage *R. gigantea*. Selon les croisements et leurs descendance, toutes les roses n'émettent pas de DMT ou de TMB. Des analyses du transcriptome des pétales de la rose chinoise, *R. chinensis* 'Old Blush', ont permis l'identification de deux orcinol O-méthyltransférases, OOMT1 et OOMT2, catalysant des méthylations successives de l'orcinol pour produire du DMT (Figure 7) (Lavid et al., 2002; Scalliet et al., 2002, 2006, 2008). OOMT1 et OOMT2 partagent 96,5% d'identité, mais présentent des spécificités de substrat différentes, qui dépendent principalement d'un seul acide aminé dans le site catalytique (Scalliet et al., 2008). Une analyse de la famille des gènes *OOMT* dans le genre *Rosa* a révélé que toutes les espèces contiennent le gène *OOMT2*, mais que seules les roses chinoises comme *R. gigantea* possèdent le gène *OOMT1*. Comme OOMT2 peut effectuer la première étape de la biosynthèse, bien qu'avec moins d'efficacité que OOMT1, cela suggère que le gène *OOMT1* dérive d'une duplication et d'une divergence d'un gène *OOMT2* ancestral. Le DMT, qui est utilisé dans des parfums relaxants, est aussi perçu par les abeilles (Shalit et al., 2004; Wright et al., 2005). L'évolution de la synthèse du DMT suggère que ce composé est une cible olfactive pour les insectes pollinisateurs (Scalliet et al., 2008).

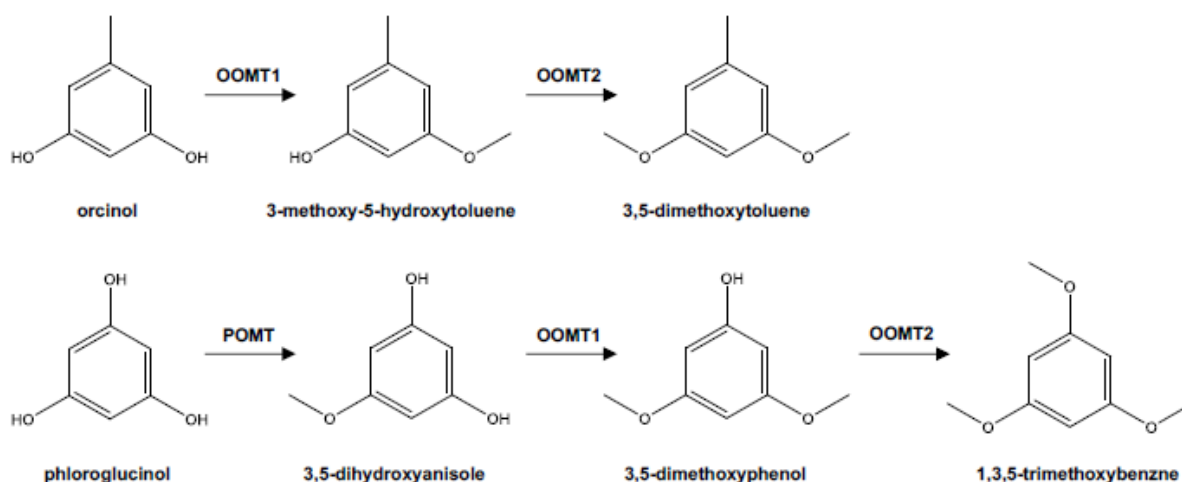


Figure 7 : Voie de biosynthèse des phényl méthyl éthers chez le rosier. OOMT1 et OOMT2 sont impliquées dans le 3,5 diméthoxytoluène et le 1,3,5-triméthoxybenzène. OOMT, orcinol O-méthyltransférase ; POMT, phloroglucinol O-méthyltransférase. Figure issue de Conart, 2022 d'après Lavid et al, 2022 et Scalliet et al, 2002, 2006 et 2008.

2.3) Les oxylipines

Les oxylipines ou dérivés d'acides gras, sont les produits d'oxygénation d'acides gras polyinsaturés, par des processus enzymatiques et non-enzymatiques, pouvant être de différentes natures : des alcools, des aldéhydes, des cétones, des acides et des hydrocarbures gazeux. Les lipoxgénases (LOX) entraînent l'oxygénation des acides gras dans une région spécifique de la molécule, soit sur le carbone 9 donnant lieu aux 9-hydroperoxydes, soit au niveau du carbone 13 donnant ainsi les 13-hydroperoxydes (Grechkin, 1998) (Figure 8). A partir de ces hydroperoxydes, plusieurs voies de biosynthèse s'ensuivent, dont les deux voies métaboliques qui sont respectivement impliquées dans la synthèse des jasmonates et des Green Leaf Volatiles (GLV) (Feussner & Wasternack, 2002; Heitz et al., 2002; Scala et al., 2013; Wasternack & Strnad, 2018). Les GLV sont des molécules à six carbones qui peuvent être des aldéhydes, des alcools ou des esters. Elles sont impliquées dans la signalisation entre plantes ainsi que dans les interactions plantes-herbivores (Matsui, 2006; Vancanneyt et al., 2001). La 13-hydroperoxyde lyase métabolise l'acide 13-hydroperoxylinoléique pour former l'acide 12-oxo-(Z)-9-dodécénoïque et du (Z)-3-hexénal (Matsui, 2006) (Figure 5). Les isomères (Z)-3-hexénal et (E)-2-hexénal peuvent passer d'une forme à une autre de manière spontanée ou enzymatique. La voie de biosynthèse de ces composés peut encore se poursuivre avec une réduction des isomères en alcools puis ensuite en aldéhydes (Griffiths, 2015). Les GLV portent également le nom de

« green odors » en référence à leur odeur herbacée. Celle-ci rappelle l'odeur « végétale » ou « verte » des tiges, des feuilles ou encore des sépales des fleurs. Leur rôle dans le parfum de la rose a été peu étudié, malgré leur présence et leur odeur. Ces molécules sont utilisées principalement pour apporter une note de fraîcheur aux accords floraux et donnent un aspect plus « naturel » au parfum.

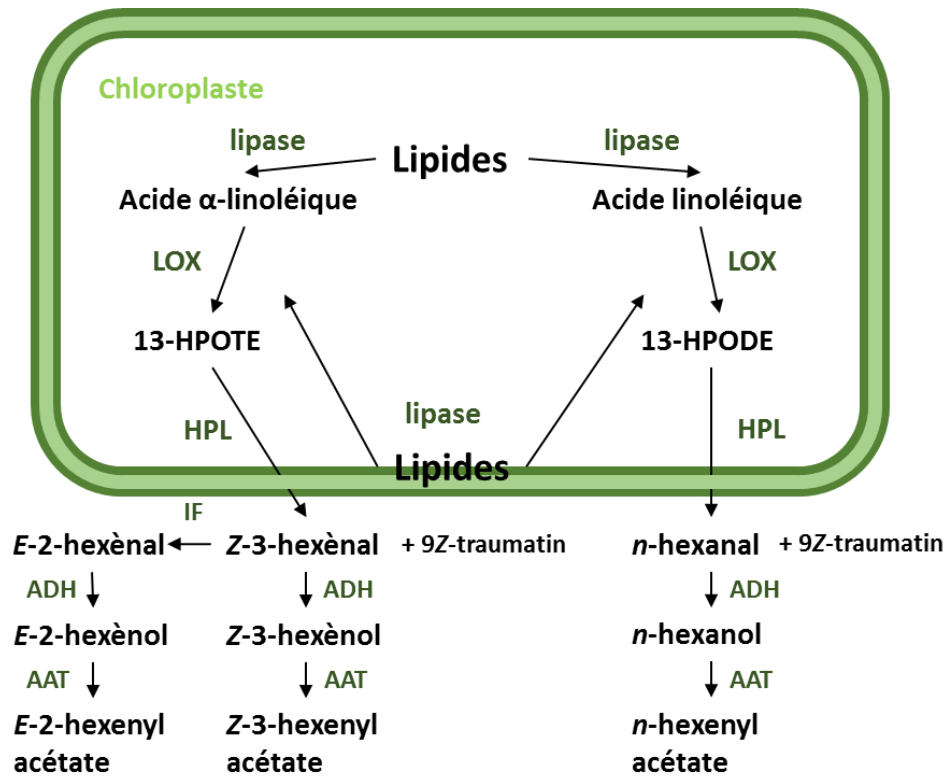


Figure 8 : Schéma simplifié de la voie de biosynthèse des oxylipines. LOX : 13- lipoxygénases. 13-HPOTE : acide 13(S)-hydroperoxy 9Z,11E,15Z-octadecatriénoïque. 13-HPODE : acide 13(S)-hydroperoxy 9Z,11E-octadécadiénoïque. HPL : hydroperoxydase. IF : (3Z) : (2Z)-énal isomérase. ADH : alcool déshydrogénase. AAT : alcool acétyltransférase (Figure adaptée de Scala et al, 2013).

II] La perception des odeurs

Pendant des années, la recherche en olfaction a tenté une classification des odorants sur la base de leur structure physicochimique. En effet, certaines caractéristiques physicochimiques des molécules odorantes sont liées à leur perception, telles que la taille, le poids ou la complexité de la molécule qui sont corrélés avec la perception hédonique des odorants (Hendrickson et al., 1987; Kermen et al., 2011; Khan et al., 2007; Zarzo, 2011). Le nombre de carbones et la position de certains groupements chimiques influencent également la perception olfactive (Guerrieri et al., 2005; Keller & Vosshall, 2016). Cependant, la structure d'une molécule odorante ne reflète pas toujours sa perception. Par exemple, des énantiomères peuvent avoir des perceptions très différentes comme la D-carvone qui sent la menthe verte et la L-carvone qui sent le cumin ; ou des perceptions similaires comme les énantiomères du limonène qui présentent tous deux des odeurs d'agrumes. Aussi, deux molécules de structures très différentes peuvent faire référence à des odeurs à peu près similaires comme le 2PE et le géraniol qui évoquent l'odeur de rose. La perception des odeurs peut changer également en fonction de la concentration des molécules odorantes, comme l'exemple de l'indole à différentes concentrations. Ainsi, il peut être aussi difficile d'établir et de prédire des liens directs entre stimulus olfactif et perception.

A] Fonctions de l'odorat

La perte de l'odorat souvent associée à la maladie de la COVID-19 a permis de faire prendre conscience, plus largement, du rôle essentiel de l'odorat au quotidien (Doty, 2022). Bien que la taille du cerveau et du bulbe olfactif varie grandement selon l'espèce, les fonctions olfactives sont assez similaires chez les mammifères (Jacobs, 2012). La variabilité de la taille du bulbe olfactif s'expliquerait par la nécessité et la demande de la perception olfactive, selon l'espèce animale. Richard J. Stevenson classe les fonctions de l'odorat en plusieurs grandes catégories (Stevenson, 2010).

En effet, l'odorat a une place prépondérante, particulièrement dans l'alimentation, la navigation, la détection de danger ainsi que dans des aspects sociaux et émotionnels comme la reproduction (Sarafoleanu et al., 2009). Pourtant, malgré son importance pour la survie de l'espèce, l'odorat fut longtemps ignoré par les scientifiques puis mis en lumière en 2004 grâce aux travaux de Linda B. Buck et Richard Axel qui ont été récompensés par le Prix Nobel de Physiologie et Médecine.

Il est important de faire la distinction entre odorant, odeur et olfaction. Un odorant est un composé chimique volatil, soluble et pouvant se fixer aux récepteurs olfactifs. Une odeur est une perception consciente de l'odorant et la représentation mentale de celui-ci. L'olfaction fait référence à la capacité de percevoir ces odorants, leurs traitements neuraux et cognitifs.

A partir de ces notions, nous allons dans cette partie décrire les fonctions de l'odorat, l'organisation anatomique du système olfactif, le codage de la perception hédonique des odeurs (odeurs plaisantes vs déplaisantes), ainsi que le codage des mélanges d'odeurs complexes et naturelles.

1) *Alimentation, recherche de nourriture*

La gustation est le sens qui permet d'identifier cinq différentes saveurs : le sucré, le salé, l'amer, l'umami et l'acide. L'olfaction et la gustation sont deux sens étroitement liés qui permettent la sensation de la flaveur. La flaveur est la sensation provoquée lors de l'ingestion d'un aliment, impliquant le goût, le toucher, l'olfaction ainsi que le système trigéminal. Deux voies olfactives coexistent : la voie rétronasale, ou « voie arrière », désigne la voie par laquelle les molécules odorantes émises lors de l'ingestion d'aliments atteignent les récepteurs olfactifs, de la bouche vers l'épithélium olfactif et la voie orthonasale fait référence aux molécules odorantes passant directement par la cavité nasale pour rejoindre l'épithélium olfactif (Figure 9) (Rowe & Shepherd, 2016). Dans les deux cas, l'information olfactive est ensuite envoyée de l'épithélium olfactif aux aires olfactives cérébrales.

L'olfaction est impliquée tout d'abord dans la quantité d'aliments ingérés. Le processus d'ingestion alimentaire implique le noyau arqué de l'hypothalamus et le noyau du tractus solitaire du bulbe rachidien, qui projettent tous deux sur le noyau paraventriculaire du thalamus (Gascuel et al., 2012). Ce noyau est une cible de projection neuronale des aires corticales olfactives. Ainsi, les signaux olfactifs transmis jusqu'à l'hypothalamus peuvent moduler le comportement alimentaire (J.-H. Zhou & Chen, 2022). Dans ce contexte, Proserpio et collaborateurs ont étudié les effets de l'exposition d'odeurs sur l'appétit et ont observé une augmentation de la production de salive, de l'appétit ainsi que de la prise alimentaire (Proserpio et al., 2017). Une modification de l'odorat en fonction de l'état de satiété a aussi été mise en évidence (Rolls & Rolls, 1997).

L'odorat est également impliqué dans les processus de sélection d'aliments, permettant d'établir cette fois-ci la qualité de l'aliment à ingérer. L'odeur des aliments palatables entraîne une attraction de l'individu tandis que l'odeur d'aliments pourris ou avariés indiquera à

l'individu qu'il vaut mieux ne pas s'y aventurer. Toutefois, ces comportements peuvent être modifiés selon l'expérience (Breslin & Spector, 2008).

Toujours dans le cadre de la prise alimentaire, l'odorat n'est pas seulement impliqué dans la détection, l'identification, le choix d'odeurs pour l'ingestion, il l'est également dans la chasse et le suivi d'odeur sur de longues distances, ce qui permettrait de localiser et traquer une proie (Piep et al., 2008). Une augmentation du comportement olfacto-moteur est observée lorsque l'individu est très proche d'une source alimentaire (Nevo & Heymann, 2015).

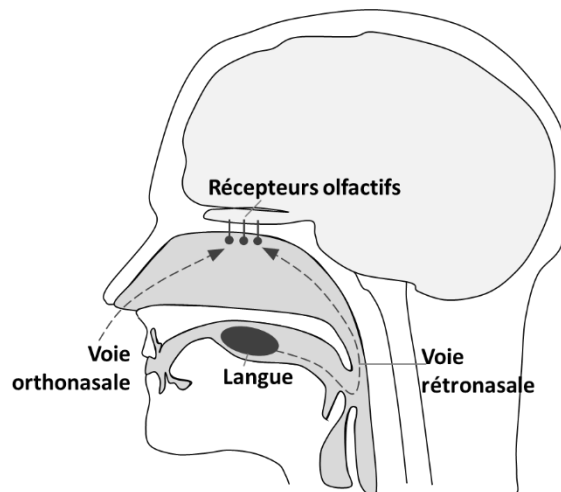


Figure 9 : Schéma simplifié des voies ortho- et rétro-nasales chez l'humain. (Figure adaptée de Rowe et Sheperd, 2015).

2) *Évitement de danger*

L'odorat permet également à l'individu de faire face à un danger dans son environnement plus ou moins proche. Le danger peut être de nature biologique comme un prédateur, et de nature non biologique comme une fuite de gaz ou un incendie. Aussitôt alerté, l'individu présente des comportements de fuite et/ou d'évitement avec une augmentation de l'activité de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien, impliqué dans les mécanismes de réponse au stress (Stevenson, 2010). Il est d'ailleurs important de noter que beaucoup d'accidents domestiques, particulièrement observés chez les personnes âgées, sont dus à une détection anormale de certaines odeurs de gaz ou de brûlé (Cantone et al., 2017; Nguyen et al., 2016). Pour nous aider à détecter une odeur de gaz, de l'éthyl mercaptan est rajouté au gaz de ville ou aux bouteilles afin de lui donner une odeur propre, détectable à très faible concentration (en dessous d'1 ppb) (Yeshurun & Sobel, 2010). La perte d'odorat est ainsi très inquiétante et représente un réel sentiment d'insécurité pour les personnes souffrant d'anosmie face à ce genre de situations (Schäfer et al., 2021).

3) *Relations sociales*

L'odorat est aussi très important lors de la construction de relations sociales de différents ordres. Par exemple, les relations mère-enfant sont en parties médiées par les odeurs corporelles émises, avec une reconnaissance et une préférence particulière de la mère vers l'enfant et inversement, notamment lors de l'allaitement (Coureaud et al., 2010; Raimbault et al., 2007; Schaal et al., 2003; Schäfer et al., 2020). Aussi, le choix de partenaire sexuel peut être médié par les odeurs, avec également une reconnaissance et préférence pour les odeurs corporelles d'un conjoint (Knaapila et al., 2012; Mahmut et al., 2019).

B] *Anatomie fonctionnelle du système olfactif*

L'organisation du système olfactif primaire est assez conservée à travers les différents mammifères (Ache & Young, 2005; Laurent, 2002). Dans la partie qui suit sera décrite l'anatomie détaillée du système olfactif, de l'entrée des informations olfactives au niveau de l'épithélium olfactif aux centres olfactifs supérieurs (cortex olfactifs primaires et secondaires) avec les différents relais corticaux, notamment le premier, le bulbe olfactif.

1) *Epithélium olfactif*

L'odorat est un sens chimique, dont les sensations olfactives proviennent de l'interaction des molécules olfactives avec des récepteurs olfactifs contenus dans les neurones sensoriels olfactifs. Le nez contient 10 à 100 millions de récepteurs olfactifs situés dans l'épithélium olfactif qui a une superficie de 10 cm² chez l'espèce humaine (15 cm² chez le rat, 20 cm² chez le chat et 380 cm² chez le chien). L'épithélium olfactif recouvre la face intérieure de la lame criblée de l'ethmoïde et s'étend le long du cornet nasal supérieur. Il contient trois types de cellules : les neurones sensoriels olfactifs qui ont pour fonction de détecter les molécules odorantes, les cellules de soutien et les cellules basales (Figure 10).

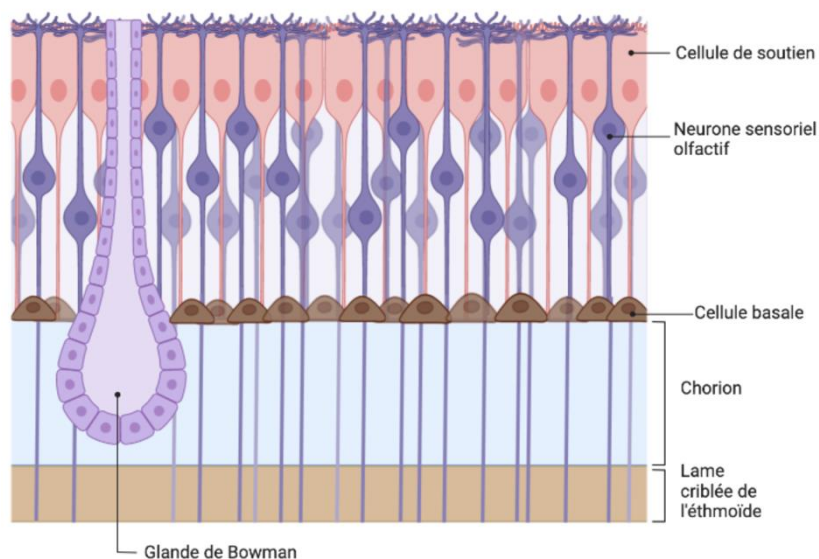


Figure 10 : Organisation schématique de l'épithélium olfactif. (Figure adaptée depuis le site web de Biorender).

Les neurones sensoriels olfactifs contiennent les récepteurs olfactifs sur leurs cils. Il y a un seul type de récepteur olfactif par neurone olfactif (environ 400 chez l'homme et 1300 chez la souris (Niimura, 2009)). Ces récepteurs peuvent lier différentes molécules odorantes selon leur affinité (Duchamp-Viret et al., 1999). Ce sont des neurones bipolaires dont l'axone passe à travers la lame criblée de l'éthmoïde pour se projeter sur le bulbe olfactif. Les glandes de Bowman, qui se situent dans le chorion de la muqueuse olfactive, permettent de sécréter du mucus ayant plusieurs fonctions, celle de nettoyage, d'apport en nutriment, d'humidification et de fixation des molécules odorantes sur les récepteurs par le biais de protéines de transport, les « Odorant Binding Proteins » (OBP). Les OBP permettent également la dissolution des molécules odorantes dans l'épithélium. L'épithélium olfactif forme une barrière immunitaire en protégeant les neurones olfactifs d'atteintes extérieures. Une molécule odorante est une molécule volatile, c'est-à-dire qu'elle pénètre dans le nez à l'état gazeux et soluble dans le mucus. Les neurones sensoriels olfactifs transforment une stimulation chimique en potentiels d'action qui forment la réponse olfactive. Plus précisément, la transduction du signal olfactif se fait par l'intermédiaire des récepteurs olfactifs couplés aux protéines G qui activent un second messenger, l'adénylate cyclase permettant l'ouverture des canaux sodiques, l'entrée d'ions sodium, qui entraîne une dépolarisation, et ainsi la création d'un influx nerveux se propageant le long de l'axone du neurone olfactif (Legouis, 1995).

Un odorant peut être reconnu par plusieurs récepteurs olfactifs (Malnic et al., 1999). Ainsi, deux odorants différents entraînent l'activation de combinaison différentes de récepteurs olfactifs. C'est ce qu'on appelle le codage combinatoire (Malnic et al., 1999). Ainsi, différents patterns d'activation sont associés à des différentes odeurs, dont un exemple est présenté en Figure 11.

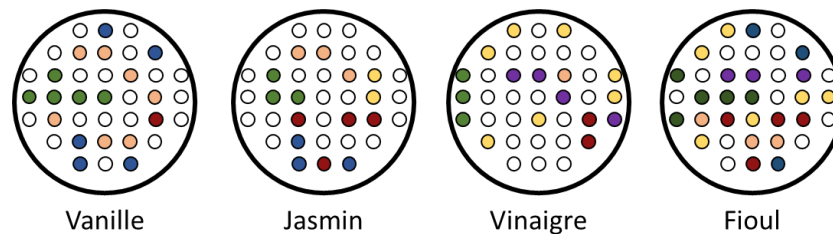


Figure 11 : Exemple de patrons d'activation des récepteurs olfactifs en réponse à différents odorants. Chaque récepteur répondant de manière unique (associé ici à une et une seule couleur), seule la combinaison des différentes activations des récepteurs est associée à un stimulus propre.

Les neurones olfactifs s'adaptent aussi très rapidement, avec 50 % des cellules devenant insensibles à la stimulation olfactive dans la première seconde. L'insensibilité complète à certaines odeurs très fortes est observée au bout d'une minute environ (Zufall, 2000). Les axones des cellules olfactives sont dépourvus de myéline et forment des faisceaux d'axones qui rejoignent le bulbe olfactif, au niveau de structures sphériques appelées glomérules olfactifs. Les axones des neurones olfactifs exprimant le même type de récepteur olfactif convergent vers les mêmes glomérules (Imai, 2014).

2) Bulbe olfactif

Le bulbe olfactif, premier relais cortical du système olfactif, est un paléocortex, composé de six couches : la couche des nerfs olfactifs, la couche glomérulaire, la couche plexiforme externe, la couche des cellules mitrales, la couche plexiforme interne et la couche de cellules granulaires (Nagayama et al., 2014) (Figure 12).

Etant donné que les neurones olfactifs exprimant les mêmes récepteurs se projettent sur les mêmes glomérules, le codage combinatoire observé dans l'épithélium olfactif permet d'obtenir des cartes spécifiques d'odeurs dans le bulbe olfactif (Leon & Johnson, 2003; Linster et al., 2001). C'est dans la couche glomérulaire, au sein des glomérules, que les terminaisons synaptiques des neurones sensoriels olfactifs font synapse avec les dendrites des neurones relais, les cellules mitrales (Bozza et al., 2002). Le message des cellules mitrales est régulé à deux niveaux par des interneurones inhibiteurs : à l'entrée par les cellules périglomérulaires et

en sortie par les cellules granulaires, qui forment la couche la plus profonde du bulbe olfactif des vertébrés. Le traitement des informations sensorielles dans le bulbe olfactif est modulé par des retours corticaux et neuromodulateurs : 1) le système cholinergique (impliqué dans les processus attentionnels et la mise en mémoire à court terme), 2) le système sérotoninergique (influençant les comportements liés à l'humeur) et 3) le système noradrénergique (en partie responsable de la vigilance et de la mémoire) (Brunert & Rothermel, 2021; Harvey & Heinbockel, 2018).

En plus de transmettre les informations olfactives aux aires olfactives primaires et supérieures, le bulbe olfactif est primordial dans de nombreuses fonctions telles que l'augmentation du ratio signal sur bruit (Cleland et al., 2007), l'encodage de la mémoire olfactive (Forest et al., 2019; Wilson & Stevenson, 2003), des apprentissages olfactifs et sociaux (Mandairon et al., 2018; Sanchez-Andrade & Kendrick, 2009), la discrimination des odeurs (Wu et al., 2020), le codage de la détection et l'intensité du stimulus (Escanilla et al., 2010; Harrison & Scott, 1986), ainsi que pour l'hédonicité des stimuli olfactifs (Kermen, 2021; Zatorre et al., 2000).

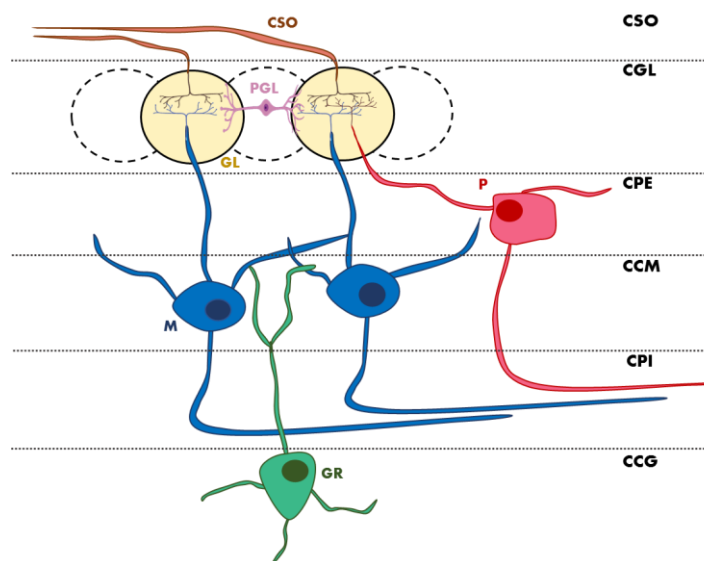


Figure 12 : Organisation schématique du bulbe olfactif. CSO : Cellule sensorielle olfactive. PGL : Cellule périglomérulaire. GL : Glomérule. P : Cellule à panache. M : Cellule mitrale. GR : Cellule granulaire. CGL : Couche glomérulaire. CPE : Couche plexiforme externe. CCM : Couche des cellules mitrales. CPI : Couche plexiforme interne. CCG : Couche de cellules granulaires.

3) Les structures cibles du bulbe olfactif

Les cellules mitrales et à panache glutamatergiques du bulbe olfactif projettent à leur tour sur plusieurs aires cérébrales impliquées dans le traitement perceptif des odeurs, composant

les aires olfactives secondaires, décrites ci-après (Figure 13). Ainsi, la perception olfactive se distingue des autres modalités sensorielles dans le sens où elle se fait de manière plus directe : sans relais thalamique entre les récepteurs et les aires cérébrales de l'olfaction. Le bulbe olfactif et le cortex piriforme joueraient le « rôle thalamique » de la conscientisation perceptive de l'olfaction (Keller & Young, 2014).

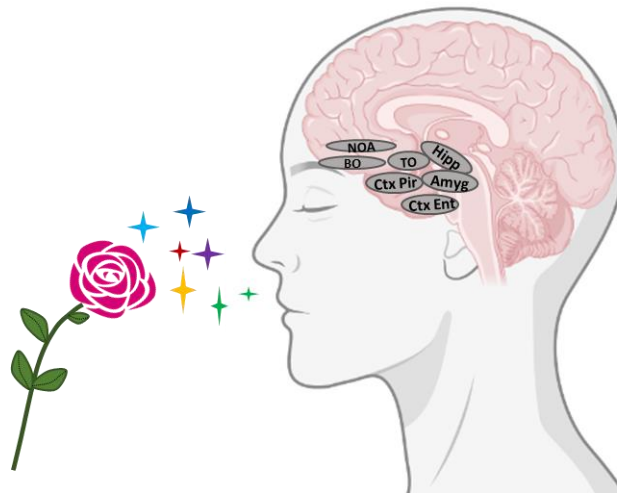


Figure 13 : Représentation schématique du système olfactif. BO : Bulbe olfactif. NOA : Noyau olfactif accessoire. Ctx Pir : Cortex piriforme. Ctx Ent : Cortex entorhinal. TO : Tubercule olfactif. Amyg : Amygdale. Hipp : Hippocampe. (Figure adaptée depuis le site web de Biorender).

3.1) Cortex piriforme

Le bulbe olfactif projette directement et massivement vers le cortex piriforme. Ce cortex est un archicortex à trois couches, considéré phylogénétiquement plus ancien que le néocortex à six couches, avec une organisation glutamatergique et gabaergique (Franks et al., 2011). Le cortex piriforme est impliqué dans la formation des associations d'odeurs, dans la recollection de la mémoire olfactive, ainsi que dans le codage de l'identification et de l'intensité des odeurs (Blazing & Franks, 2020; Bolding et al., 2020; Franks et al., 2011; Roland et al., 2017; Uchida et al., 2014).

3.2) Noyau olfactif antérieur

Le noyau olfactif antérieur est situé au niveau de la commissure antérieure, qui permet la communication anatomique des hémisphères cérébraux, le noyau olfactif antérieur permettrait ainsi la communication neuronale entre les deux bulbes olfactifs. Cette place stratégique permettrait au noyau olfactif antérieur de détecter et de localiser rapidement des sources odorantes (Esquivelzeta Rabell et al., 2017; Kikuta et al., 2010). Celui-ci serait impliqué

dans l'apprentissage contexte-dépendant des odeurs et l'intégration multisensorielle (Levinson et al., 2020), le traitement des odeurs sociales (Wacker et al., 2011), le stockage mnésique des odeurs (Aqrabawi & Kim, 2020) ainsi que dans le codage temporel de la présentation d'odeur (Tsuji et al., 2019).

3.3) Cortex entorhinal

Le cortex entorhinal est situé sous l'hippocampe. Sa position lui permet des connexions réciproques privilégiées avec celui-ci et participe ainsi grandement au traitement mnésique des odeurs (Biella & de Curtis, 2000; Li et al., 2017). La stimulation du cortex entorhinal module l'activité de l'amygdale et du cortex piriforme aux entrées du bulbe olfactif chez le rat (Mouly & Di Scala, 2006).

3.4) Amygdale

L'amygdale, qui porte son nom en référence à sa forme en amande, joue aussi un rôle très important dans le codage olfactif. Essentielle au traitement des émotions, particulièrement négatives, elle joue un rôle important dans la perception des odeurs et l'induction de comportements d'approche ou de retrait face à une source odorante. Elle est composée de trois sous-régions impliquées dans le codage olfactif : l'amygdale médiane, l'amygdale corticale et le complexe périamygdaloïde (Noto et al., 2021). Ces trois régions pourraient présenter des fonctions olfactives différentes. L'amygdale médiane serait impliquée dans la génération rapide de comportements moteurs en réponse à un stimulus olfactif (dans des contextes d'approche et de retrait). Le complexe périamygdaloïde serait impliqué dans l'intégration multisensorielle des informations olfactives en lien avec d'autres systèmes sensoriels. Enfin, l'amygdale corticale, quant à elle, serait impliquée dans le traitement de la récompense olfactive (Noto et al., 2021).

3.5) Tubercule olfactif

Pour finir, le tubercule olfactif est au croisement du circuit de la récompense (dont il forme avec le noyau accumbens le striatum ventral) et du circuit olfactif. Le tubercule olfactif reçoit des projections glutamatergiques directes du bulbe olfactif via les cellules à panache et les cellules mitrales (Imamura et al., 2011; Nagayama et al., 2014; Xiong & Wesson, 2016), mais également des projections indirectes via le cortex piriforme. Le tubercule olfactif joue donc lui aussi un rôle dans le traitement du caractère récompensant et attractif des odeurs (Midroit et al., 2021; Zhang et al., 2017).

3.6) Aires olfactives supérieures

Parmi les aires olfactives supérieures, nous retrouvons l'hippocampe, le thalamus, l'insula et le cortex orbitofrontal. L'hippocampe joue un rôle majeur dans la mémoire, notamment olfactive. De par les projections du cortex entorhinal sur l'hippocampe, ce dernier joue un rôle important dans la discrimination des odeurs (Gourévitch et al., 2010; Martin et al., 2007) et la mémoire des séquences d'odeurs (Agster et al., 2002). Le thalamus, aire majeure dans la perception sensorielle consciente, serait impliqué dans l'attention portée à l'odeur (Courtiol & Wilson, 2015; Plailly et al., 2008). L'insula est une aire primaire gustative mais joue également rôle dans la perception olfactive. Une activation différentielle droite/gauche en présence d'odorant désagréable a été mise en évidence, caractérisant ainsi cette aire cérébrale comme codant pour le dégoût (Royet et al., 2003). Enfin, le cortex orbitofrontal recevant des projections du cortex piriforme, est également considéré comme impliqué dans la perception olfactive et plus précisément dans le traitement d'informations complexes liés aux odeurs, dans l'adaptation du comportement (Jonker et al., 2015), dans l'apprentissage associatif olfactif (Banerjee et al., 2020) ainsi que dans la perception hédonique des odeurs (de Araujo et al., 2005; Kringelbach, 2005).

C] Perception hédonique des odeurs

L'étude de la valeur hédonique de l'odeur de rose est un point essentiel de ma problématique de thèse. C'est pourquoi, nous nous intéresserons ici particulièrement à la description et aux mesures de cette valeur hédonique ainsi qu'aux structures cérébrales impliquées dans son codage neuronal.

1) Description de la valeur hédonique

L'odorat régit nombre de nos comportements, notamment à travers la perception hédonique des odeurs qui correspond à la question : est-ce que nous aimons ou non cette odeur (Richardson & Zucco, 1989; Yeshurun & Sobel, 2010). Cette question, nous nous la posons avant même d'essayer de l'identifier ou de la discriminer par rapport à une autre odeur. Les odeurs désagréables sont détectées plus rapidement et plus précisément que les odeurs agréables dans le but de garantir la survie de l'individu, ces odeurs portant très probablement un message de danger (Boesveldt et al., 2010). C'est pourquoi, très tôt, nous sommes capables de dire si nous aimons ou non une odeur sans apprentissage, on parle de valeur hédonique innée. Cela dit,

il est également possible d'inverser ou de modifier cette valeur à travers les expériences vécues, la culture ou l'apprentissage (Herz et al., 2004; Oleszkiewicz et al., 2022; Poncelet et al., 2010). Nous parlons ainsi de valeur hédonique acquise, dont un exemple est l'odeur du fromage, notamment celle du camembert, appréciée en France mais moins dans le reste du monde, ou encore les fameux œufs de 100 ans, à la forte odeur de soufre, en Chine. La valeur hédonique des odeurs peut également être modifiée avec l'âge. Il est intéressant de noter que cette valeur hédonique des odeurs s'installe rapidement pendant le développement puisque les enfants âgés de 3 ans présentent des préférences aux odeurs similaires à celles des adultes (Rinck et al., 2011; Schmidt & Beauchamp, 1988) et qu'elle est altérée par le vieillissement seulement pour les odorants à valeur hédonique positive, les odorants désagréables ne présentant pas d'altération avec l'âge (Joussain et al., 2013).

Cependant, même si cette perception de la valeur hédonique des odeurs est modifiée par les apprentissages comme on vient de le voir, elle reste globalement stable à travers les cultures et serait ainsi fortement médiée par des principes universels (Arshamian et al., 2022; Oleszkiewicz et al., 2022). De manière intéressante, il a été également montré qu'une conservation de la valeur hédonique des odeurs à travers les mammifères a été mise en place au cours de l'évolution lorsqu'on voit que le temps d'investigation d'odeurs par des souris (traduisant leur attraction à l'odeur) est corrélée avec la valeur hédonique jugée par l'humain (Mandairon et al., 2009). La stabilité de la valeur hédonique retrouvée au sein des cultures et chez les mammifères pourrait être en partie expliquée par la structure chimique et les propriétés physiques des molécules odorantes. En effet, d'après plusieurs études, le jugement hédonique des composés chimiques serait corrélé avec le poids, la taille ou à la complexité moléculaire (Kermen et al., 2011; Khan et al., 2007; Licon et al., 2019; Zarzo, 2011). Les molécules contenant le plus d'oxygène seraient perçues comme plus plaisantes, tandis que les sulfures et les acides carboxylés seraient perçus comme les molécules les moins plaisantes (Zarzo, 2011). Ainsi, il serait possible de prédire la valeur hédonique à partir de la structure de la molécule odorante (Khan et al., 2007).

2) Mesures de la valeur hédonique des odeurs

Il est possible d'avoir accès à cette valeur hédonique avec des méthodes objectives et subjectives. Par exemple, chez l'humain, l'usage de questionnaires est récurrent dans l'évaluation subjective de la valeur hédonique des odeurs (Attia & Hamdan, 2021; Ferdenzi et

al., 2016; Gaby & Tepper, 2020; Kepler et al., 2022). Aussi, des paramètres physiologiques non conscients tels que des paramètres de conductance cutanée, de fréquence de pouls au doigt, de mesure de potentiels évoqués et de variabilité de la respiration abdominale sont également utilisés (Bensafi et al., 2002a, 2002b; Croy et al., 2013; Ikei et al., 2014; Jossain et al., 2017). Des paramètres moteurs sont aussi porteurs d'informations sur la perception de la valeur hédonique des odeurs tels que le nombre ou la durée du flairage ou les mouvements d'approche ou de retrait face à la stimulation odorante (Chalençon et al., 2022; Iravani et al., 2021; Schaefer et al., 2021). La mesure de la valeur hédonique des odeurs chez l'animal non-humain se fait grâce à l'analyse du comportement moteur. La durée d'exploration ou vitesse d'approche des odeurs est corrélée avec le caractère plaisant chez l'humain (Jagetia et al., 2018; Mandairon et al., 2009a; Mandairon et al., 2009b; Manoel et al., 2019; Midroit et al., 2021).

3) Structures cérébrales impliquées dans le codage de la valeur hédonique des odeurs

Concernant les structures cérébrales impliquées dans la perception de la valeur hédonique, elles ont été décrites dans la partie précédente. En effet, le codage de la valeur hédonique des odeurs a été mise en évidence dans plusieurs régions du système olfactif. Ainsi, elle a été mise en évidence dès l'épithélium olfactif, selon une organisation spécifique de la localisation des récepteurs olfactifs (Lapid et al., 2011), mais également dans le bulbe olfactif. Il existe une signature neurale de la valeur hédonique qui serait présente le long de l'axe antéro-postérieur du bulbe olfactif (Kermen et al., 2016a). Une stimulation avec des odorants désagréables entraîne une plus grande densité de cellules activées dans les couches glomérulaire et granulaire ventro-postérieures du bulbe olfactif ainsi que dans la couche glomérulaire postérieure de la partie dorsale du bulbe olfactif. En revanche, les odorants agréables induisent une activité plus élevée dans la zone antéro-ventrale des couches glomérulaire et granulaire du bulbe olfactif (Kermen et al., 2016a). Aussi, une manipulation optogénétique locale de ces régions du bulbe olfactif module le degré d'attractivité de ces odeurs (Kermen et al., 2016a).

Le tubercule olfactif joue lui aussi un rôle dans le codage de la valeur hédonique des odeurs. En effet, une activité neurale plus importante en réponse aux odeurs agréables versus désagréables a été observée dans le tubercule olfactif grâce à l'imagerie c-Fos et l'électrophysiologie (Midroit et al., 2021). De plus, une voie privilégiée bulbe olfactif - tubercule olfactif a également été mise en évidence par méthode de transparence, qui consiste à rendre un tissu transparent favorisant son observation (Midroit et al., 2021). Ces résultats ont également été confirmés chez l'humain avec une activité neurale plus importante dans le

tubercule olfactif observée par imagerie par résonnance magnétique fonctionnelle (IRMf) après présentation d'odorants plaisants par rapport à des odorants déplaisants (Midroit et al., 2021).

Chez l'humain, des techniques d'imageries comme la Tomographie par Emission de Positons ou l'IRMf ont permis d'identifier d'autres aires cérébrales impliquées dans le codage des odeurs agréables telles que l'amygdale gauche, le gyrus cingulaire antérieur droit et l'insula droite (Anderson et al., 2003; Bensafi et al., 2012; de Araujo et al., 2005; Gottfried, 2010; Grabenhorst et al., 2007; Katata et al., 2009; Patin & Pause, 2015; Rolls et al., 2003).

Un circuit cérébral en partie différent permet le traitement des odeurs désagréables, avec l'implication de l'amygdale droite, le cortex orbitofrontal médian gauche et le cortex orbitofrontal latéral droit, le cortex piriforme gauche, l'insula gauche et l'insula antérieure, ainsi qu'une région spécifique du cortex insulaire, autour du sillon insulaire central (Bensafi et al., 2007, 2012; Gottfried, 2010; Gottfried et al., 2002; Katata et al., 2009; Patin & Pause, 2015; Roy-Côté et al., 2021, p.; Royet et al., 2003; Wicker et al., 2003; Zelano et al., 2007).

D) Codage des mélanges d'odeurs

Dans notre environnement, nous sommes entourés d'odeurs et il est très rare d'être confronté à des odorants uniques. Ce qui compose une odeur est en fait souvent un mélange de plusieurs odorants monomoléculaires. Ces mélanges sont peuvent être perçus comme des « ensembles configuraux » (i.e, l'odeur d'un mélange est spécifique et différente de celle de ses composants) permettant ainsi la perception synthétique, s'opposant à la perception analytique des mélanges (i.e. l'odeur d'un mélange est perçue à travers celle de ses composants) (Coureaud et al., 2022). Dans cette thèse, nous nous intéressons à l'odeur naturelle de la rose, composée de plusieurs centaines de COV décrits dans les paragraphes I] C], induisant une perception synthétique.

Dans cette partie, nous allons décrire les processus olfactifs sous-tendant le codage et la perception des mélanges d'odeurs, des récepteurs olfactifs aux aires cérébrales secondaires supportant le traitement complexe des informations sensorielles.

1) *Au niveau des récepteurs*

La perception de milliers d'odeurs par quelques centaines de récepteurs olfactifs différents est possible grâce au codage combinatoire expliqué plus haut. Selon le récepteur olfactif (RO), un odorant peut agir aussi bien en tant qu'agoniste, qu'antagoniste (Sanz et al., 2008). Ce codage agoniste/antagoniste est observé particulièrement lors de la perception des mélanges d'odorants. Deux types de processus d'encodage de mélanges d'odorants peuvent être mis en jeu : un système compétitif où deux agonistes (à affinité et efficacité intrinsèque similaire) peuvent en théorie se fixer au même récepteur mais où un seul va pouvoir s'y fixer ; et un système non-compétitif où deux agonistes peuvent se fixer à un même récepteur mais pas sur le même site de liaison principal, modifiant ainsi les propriétés propres du récepteurs (Rospars et al., 2008). Par étude électrophysiologique *in vivo* des neurones olfactifs chez le rat, il a été montré que les interactions non-compétitives jouent un rôle majeur dans l'encodage des mélanges d'odorants et que ce dernier n'est pas qu'un encodage des composés individuels du mélange (Rospars et al., 2008). Les interactions entre odorants au niveau des récepteurs olfactifs peuvent mener à des effets additifs ou suppressifs selon le récepteur olfactif (de March et al., 2020) (Figure 14).

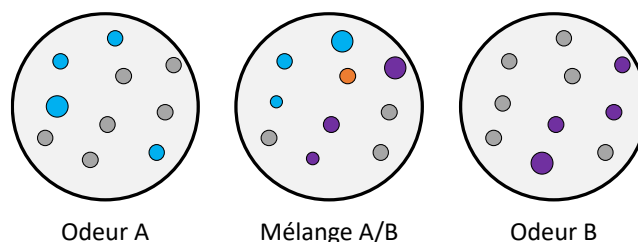


Figure 14 : Représentation schématisée du codage additif et/ou suppressif des réponses des RO activés. Les RO sont représentés par des points (le gris signifie l'absence de réponse) et leur taille indique la force de la réponse. L'odeur A active un motif de RO (bleu) et l'odeur B active un motif différent (violet). Le mélange A/B présente un schéma de réponse qui n'est pas la somme des réponses aux odeurs A et B, avec certains RO qui continuent à répondre (respectivement en bleu et en violet), d'autres qui sont supprimées (en gris), et d'autres qui ne répondent qu'au mélange en raison d'un effet additif ou synergique (orange). (Figure adaptée de de March et al., 2020).

2) *Au niveau des aires olfactives primaires*

Qu'il s'agisse d'odorants monomoléculaires ou de mélanges d'odorants, une activation des régions olfactives primaires et secondaires a été observée mais différente en fonction de la complexité du mélange (Thomas-Danguin et al., 2014). Une étude datant de 2006 a enregistré par imagerie optique le signal intrinsèque glomérulaire en réponse à des stimuli olfactifs (des mélanges et des composés isolés (Lin et al., 2006)). Les auteurs ont observé des réponses

glomérulaires différentes selon la complexité du stimulus : des composés isolés n'activent qu'un glomérule tandis qu'un mélange peut en activer une vingtaine. Ainsi, les réponses à des mélanges reflètent l'activation additionnelle par de multiples composants, chacun ne contribuant qu'à une petite partie de la représentation globale (Lin et al., 2006). Les mélanges d'odorants sont codés dans le piriforme de mammifère ou le corps pédonculé de l'insecte comme un seul groupe, de la même manière que peuvent l'être des odorants proches en termes de caractéristiques physico-chimiques. Ces processus ont été conservés à travers l'évolution et sont sujets à modulation en fonction de l'expérience, permettant la mise à jour constante de la perception des odeurs (Endo & Kazama, 2022). Ainsi, tandis que les neurones du bulbe olfactif décorrèlent les mélanges complexe d'odeurs, en discriminant deux odeurs très proches dès lors qu'un seul élément du mélange est manquant ou différent, le cortex piriforme lui a un rôle inverse (Barnes et al., 2008). Il joue un rôle de complétion de pattern qui permet de « retrouver » l'élément manquant et ainsi de regrouper en un seul pattern de réponse deux mélanges différents mais très proches. Il permet ainsi la perception stable des odorants et joue un rôle dans la prédiction de la perception des odeurs (Barnes et al., 2008).

Enfin, une différence entre les deux types de perception (odorants simples ou mélanges d'odorants) réside également dans l'activation différentielle du cortex cingulaire moyen, du cortex piriforme, du gyrus frontal supérieur, du gyrus angulaire et du cortex orbito-frontal (Boyle et al., 2009).

3) Perception olfactive des mélanges d'odorants

Comme mentionné en introduction, la perception des mélanges odorants peut être analytique ou synthétique. La première se définissant par la capacité de discriminer et différencier les divers composants d'un mélange, tandis que la seconde se produit lorsque le mélange complexe génère une perception différente et unique de celle induite par les composés isolés (Le Berre et al., 2008). Un exemple aujourd'hui connu de perception synthétique est proposé par Le Berre et collaborateurs en 2008. Il fait référence à la perception surprenante d'une odeur d'ananas à partir du mélange d'éthyl isobutyrate (odeurs de fraise) et d'éthylmaltol (odeurs de caramel) (Le Berre et al., 2008).

Dans la fin des années 70, tandis que la valeur hédonique des mélanges n'avait encore été que très peu étudiée, certains auteurs s'entendaient à dire que celle-ci ne reflétait que celle des composés individuels du mélange (Dravnieks & Jarke, 1980; Moskowitz & Barbe, 1977). De manière intéressante, il a été montré qu'un mélange composés d'odorants à valeur

hédonique variable entraîne des perceptions différentes selon la proportion des odorants plaisants et déplaisants. En effet, si un mélange est déséquilibré en termes de proportion de ces odorants à valeur hédonique différente, le mélange n'entraînera pas de perception neutre et l'activité cérébrale sous-jacente traduit un « choix » de perception similaire à un des composés. Par exemple, le mélange avec 70% de citral (à valeur hédonique positive) et 30% de pyridine (à valeur hédonique très négative) présente une valeur hédonique positive, presque similaire à celle du citral. Mais lorsque dans le mélange, le taux de pyridine est nettement supérieur à celui du citral, la valeur hédonique du mélange diminue légèrement, bien que toujours plus grande que celle de la pyridine seule, à intensité égale (Boyle et al., 2009).

Un autre exemple présenté par Grabenhorst et collaborateurs utilise deux odorants (le jasmin jugé agréable et l'indole jugé désagréable) et un mélange de ces odeurs. Ce dernier a été jugé comme plaisant (Grabenhorst et al., 2007). Les observations des auteurs montrent que ce mélange présentait des patterns d'activation neurale dans les régions similaires à celles induites par le jasmin. Les régions corrélées avec le caractère déplaisant des odeurs, à savoir la partie dorsale du cortex cingulaire antérieur et le cortex orbitofrontal postérieur, présentent une activation intermédiaire pour le mélange, entre celle induite par le jasmin (qui provoque une désactivation de ces régions) et l'indole (une activation). La stimulation par le mélange induit l'activation des régions impliquées dans la perception d'odeurs plaisantes et déplaisantes. L'ajout d'un élément déplaisant dans un mélange peut rendre le mélange plus agréable. En effet, l'ajout de l'indole dans le mélange (déplaisant quand isolé) apporte une caractéristique plaisante au mélange.

Reprenons l'exemple de l'odeur d'ananas portée par le mélange d'odeurs de fraise et de caramel. Ce phénomène est observé chez l'humain, mais également chez le lapereau avec la perception de la phéromone mammaire ainsi que chez l'abeille avec l'utilisation de différents composés et mélanges souvent utilisés chez cet insecte (le mélange 1-hexanol et 1-nonanol et le mélange 2-octanone and octanal), qui présentent une perception différente et unique de celle induite par les composés seuls (Coureaud et al., 2022). Si la perception des mélanges converge entre diverses espèces de vertébrés et d'invertébrés, cette convergence pourrait apporter des compétences adaptatives. En effet, l'organisation anatomique du système olfactif est assez similaire entre les espèces qui auraient un intérêt commun à simplifier la complexité chimique des odeurs afin de s'adapter à l'environnement au cours de l'évolution (Coureaud et al., 2022).

Le parfum de la rose repose sur un mélange important de composés. Les parfums très différents des roses de jardins sont le reflet d'une perception synthétique de ces mélanges variés.

Nous nous posons alors la question des bases neurales qui sous-tendent la perception synthétique de l'odeur de rose ainsi que son hédonicité.

E] Analyses sensorielles sur les roses et leurs composés

1) *Perception de la rose et de son HE*

Le parfum de la rose permet une perception synthétique, pouvant être différente de celle induite par ses composés individuels. Des analyses de descriptions verbales de l'odeur d'HE de rose par des parfumeurs et des aromaticiens, la caractérise comme typique de l'odeur de rose avec des nuances d'agrumes et de balsamiques, avec des sous tons floraux, ainsi que comme une agréable odeur de rose sucrée avec des notes vertes, fraîches, de pin avec des notes épicées (Jirovetz et al., 2005; Kurkcuoglu et al., 2020). Une description donnée par des étudiants non-spécialistes a permis d'évaluer l'odeur de roses dont les fleurs ont été fraîchement cueillies comme douce et aromatique (Kim et al., 2016). La caractérisation de la valeur hédonique de l'odeur de rose est une composante importante dans son évaluation sensorielle.

2) *Perception des composés de la rose*

Le parfum de la rose est composé d'une centaine de composés, dont les principales voies de biosynthèse ont été introduites et détaillées en première partie de cette thèse. Les monoterpènes et les dérivés du 2PE sont les composés les plus largement utilisés en analyse sensorielle parmi les composés de la rose et sont perçus comme des odorants agréables (Zhao et al., 2016). Par exemple, en utilisant une échelle de notation subjective, il a été montré que le 2PE, un des composés le plus identifié dans l'odeur synthétique de la rose, est perçu comme un odorant agréable (Chalençon et al., 2022; Han et al., 2020; Martínez-Avila et al., 2018; Nobuyuki et al., 2007). Aussi, Sezille et collaborateurs ont étudié la différence de perception de la valeur hédonique des odeurs et de leur description verbale entre novices et experts et ont utilisé des composés d'odeur de rose tels que l'eugénol, le linalol, l' α -pinène, le 3-hexénol, la β -ionone et le citronellal (Sezille et al., 2014). Parmi ces composés, le linalol a été jugé comme le plus agréable, suivi du citronellal, du 3-hexanol et de l' α -pinène. L'eugénol et la β -ionone n'ont pas été évalués comme désagréables mais plutôt neutres (évalués respectivement à 4,6/9 et 4,4/9 sur une échelle visuelle). Ainsi, l'odeur complexe de roses fraîches ou d'HE de rose est jugée plaisante même si tous ses composés principaux ne sont pas jugés à ce niveau.

Bien que plaisants, ces composés ont été jugés moins agréables par les personnes plus âgées (59 ans) par rapport à des jeunes adultes (20 ans) (Joussain et al., 2013). L'âge est donc un paramètre important à prendre en compte lors de l'étude sensorielle de l'odeur de rose.

3) Bases neurales

Anderson et collaborateurs ont montré par une étude IRMf la modulation de l'activation cérébrale lorsque les participants devaient sentir soit du citral (mélange de géraniol et nérol) soit de l'acide valérique (Anderson et al., 2003). Les auteurs ont montré que lors de la stimulation olfactive, l'activité de l'amygdale était particulièrement corrélée à l'intensité de l'odeur mais pas à la valence des odeurs, alors que l'activité du cortex orbitofrontal était liée à la valence et non à l'intensité des odeurs. Ces résultats sont en contradiction avec ceux mis en avant par Patin et Pause dans une revue rapportant l'implication de l'amygdale dans le traitement de la valeur hédonique des odeurs (Patin & Pause, 2015). Ils ont mis en avant l'implication du cortex orbitofrontal lors d'une stimulation olfactive avec du 2PE. Concernant la stimulation au 2PE, elle induit une activation du cortex piriforme droit, et de l'amygdale, hippocampe, insula, cortex orbitofrontal et thalamus droits et gauches en IRMf (Xiao et al., 2020). Ces résultats concordent en partie avec ceux décrits plus haut sur les aires cérébrales impliquées dans le traitement de la valeur hédonique des odeurs mais mettent également en lien le codage d'une stimulation olfactive agréable avec une activité de l'insula. Le 2PE est donc traité comme une odeur plaisante mais présente également des spécificités de traitement neurales.

L'influence de l'odeur de rose a également été étudiée à travers l'analyse de potentiels évoqués, mesurant les changements électriques dans le cerveau lors de la stimulation olfactive. Les composantes précoces reflètent particulièrement les caractéristiques physiques du stimulus et les composantes tardives la plupart des processus endogènes, comme l'évaluation émotionnelle subjective du stimulus. Croy et collaborateurs ont démontré que le 2PE comme d'autres odorants agréables, restait agréable après plusieurs présentations (Croy et al., 2013). De plus, les composantes neurales à la suite de l'inhalation de 2PE ne diffèrent pas selon les répétitions, c'est-à-dire que les participants ne sont pas moins concentrés sur la troisième ou quatrième présentation de l'odeur.

Ces données intéressantes indiquent ainsi que l'odeur de la rose est évaluée comme agréable avec la même attention accordée à son odeur au fur et à mesure de ses présentations et

aurait une action positive sur le circuit de la récompense qui renforcerait la motivation à ressentir l'odeur.

III] Impact de l'odeur de la rose, de son huile essentielle ou de ses composés sur le comportement émotionnel et le bien-être

A] Impact sur l'humeur, le stress et les émotions

L'humeur est une sorte d'affect qui n'est pas associée à un stimulus en particulier, elle est moins intense, plus diffuse et plus durable qu'une émotion (Luomala & Laaksonen, 2000). L'humeur peut se mesurer à travers l'utilisation de questionnaires subjectifs assez similaires à ceux utilisés pour mesurer les émotions (Wolf, 2021). Une émotion peut être définie comme toute expérience vive de forte intensité et hédonicité induisant des réactions cognitives, physiologiques et comportementale (Cabanac, 2002; Mulligan & Scherer, 2012). Le stress peut être défini de manière générale comme une réaction de l'organisme à des exigences qui pèsent sur l'organisme, nécessitant un ajustement ou une réponse physique, mentale ou émotionnelle (Kumar et al., 2013).

1) Effet de l'odeur de la rose ou de son HE

Des effets physiologiques et psychologiques de l'odeur de rose ont été reporté de manière positive. Par exemple, l'inhalation de roses fraîches, à travers la fleur entière ou bien juste les pétales, induit un effet positif sur l'humeur, avec une diminution des sensations de tension, de stress et de colère, évoquant une odeur douce (Emadikhalaf et al., 2023; Kim et al., 2016; Tomi et al., 2017).

L'inhalation d'HE de rose a également montré un effet positif sur l'humeur. À partir de l'utilisation d'une échelle visuelle analogue du caractère hédonique et du « Multidimensional Mood Questionnaire » (MDBF), il a été démontré que l'HE de rose était jugée plus agréable qu'un stimulus contrôle (eau sans odeur) et induisait une amélioration de l'humeur, accompagnée d'une augmentation de la sensation de calme et de l'état de vigilance des participants (Weber & Heuberger, 2008). Avec une stimulation olfactive d'HE de rose, des automobilistes nerveux se sont sentis moins nerveux, plus détendus, positivement affectés, moins émotifs, plus attentifs et plus positifs pendant la conduite (Dmitrenko et al., 2020). David et ses collaborateurs ont étudié les effets psychologiques et les bases neurales sous-jacentes lors

d'une stimulation olfactive avec une crème cosmétique parfumée à base de rose. Les auteurs ont utilisé une échelle d'auto-évaluation des états émotionnels basés sur des visages positifs, neutres et négatifs. Le parfum de la rose évoquait plus de bonheur et conduisait à un état plus détendu, plus satisfait, plus heureux et moins stressé. Ils ont également observé une diminution de l'activité dans les zones du cerveau impliquées dans le traitement des menaces et des stimuli négatifs, comme l'amygdale, le cortex cingulaire antérieur et le cortex orbitofrontal. Ils ont observé une augmentation de l'activité dans les ganglions de la base et spécifiquement dans le noyau caudé, impliqué dans le système de récompense (David et al., 2019).

L'activité du système sympathique, à travers des mesures de la variabilité de la fréquence cardiaque, de la pression sanguine ou de taux de cortisol salivaire par exemple, est un indicateur des états de stress (Goldstein, 1987; Igarashi et al., 2014). Par exemple, l'inhalation d'HE de *Rosa x damascena* à une concentration de 2% a été montré comme suffisante pour induire une diminution de l'activité sympathique relative (Haze et al., 2002). L'analyse GC-MS de cette huile a indiqué que ses principaux composés étaient le citronellol, le géraniol, le nonadécane, le nérol, le linalol, le méthyl eugénol et le 2PE. Les auteurs ont en effet observé une diminution de 40% de l'amplitude à basse fréquence de la pression sanguine systolique (utilisée comme indice de l'activité sympathique) après seulement 3 min d'inhalation, et une diminution de 30 % de la concentration d'adrénaline dans le plasma après 7 min d'inhalation. L'HE de rose a induit une inhibition de l'activité sympathique qui a conduit à une augmentation du sentiment de confort (Haze et al., 2002). Le cortisol salivaire est également utilisé comme biomarqueur des états de stress, sa concentration étant proportionnelle au stress ressenti (Hellhammer et al., 2009). Fukada et collaborateurs ont mesuré les concentrations de cortisol salivaire après inhalation de l'HE de *Rosa alba* obtenue par hydrodistillation dont les composés majoritaires sont les suivants : citronellol, géraniol, nérol, 2PE, eugénol et linalol. L'inhalation de l'HE de rose a été faite avant, pendant et après des examens scolaires sur 14 femmes sur lesquelles des patches aromatiques imbibés d'HE diluée à 1% ont été posés. Les auteurs ont observé dans une première expérience que l'inhalation d'HE de rose a permis de maintenir constante la concentration salivaire de cortisol pendant et après les examens contrairement au groupe témoin chez lequel ils ont observé une augmentation significative de la concentration de cortisol. L'inhalation d'HE de rose a eu donc un effet relaxant. Dans une seconde expérience avec comme stimulus contrôle à l'HE de Rose, de l'HE de jasmin, les mêmes auteurs ont observé une diminution significative de la concentration salivaire de cortisol uniquement après inhalation de l'HE de rose mais pas de jasmin (Fukada et al., 2012). Par ailleurs, cette même étude s'est également portée sur l'étude des effets de l'HE de rose sur les

états de stress chez le rat. Ainsi, chez des rats soumis à un stress aigu de contention, l'inhalation d'HE de rose pendant 90 min a permis de diminuer l'augmentation de la corticostérone plasmatique. Ces observations étaient accompagnées d'une réduction de l'activité cellulaire dans le noyau paraventriculaire hypothalamique, dont l'activité module l'activation de l'axe hypothalamo-pituitaire-adrénocortical (HPA) et le système nerveux sympathique lors d'une situation de stress (Herman et al., 2002). L'axe HPA est activé également par le noyau du lit de la strie terminale (BNST) lors de la présentation d'une odeur de prédateur, le TMT, chez le rongeur (Fendt et al., 2003). Le nombre de cellules activées lors de la présentation de TMT couplée à une HE de rose a été montré significativement réduit dans la partie médiane de la BNST (Matsukawa et al., 2011). L'inhalation de l'HE de rose pourrait contrecarrer la réponse au stress induite par le TMT en inhibant l'activité neuronale de la mBNST (Matsukawa et al., 2011).

2) Effet des composés individuels de la rose

L'effet des composés de la rose sur l'humeur a également été étudié. Des composants majoritaires de l'odeur de rose, le citral, le citronellol, le géraniol et le 2PE ont été testés individuellement par Jin et ses collaborateurs. Les auteurs ont utilisé différentes concentrations d'odorants (faibles entre 1 et 2,5 ppm et moyennes entre 4 et 100 ppm) et évalué l'impact sur l'humeur en utilisant le « Mood Signature Questionnaire ». Ils ont observé que le géraniol induisait un état de "calme-relaxé" pour de faibles concentrations à "excité-énergisé" pour une concentration moyenne, l'inhalation du citronellol et du 2PE quant à eux évoquait une humeur "calme-relaxée" pour les deux concentrations. Ainsi, tous les composés de la rose utilisés ont été perçus comme agréables en induisant une humeur positive, particulièrement lorsqu'ils sont sentis à de faibles concentrations. Le 2PE était également associé à une humeur agréable-confiante (Jin et al., 2018).

En conclusion, l'odeur de certains composés individuels comme l'odeur de rose améliore l'humeur en induisant des états calmes et relaxants, et favorise la concentration. Ainsi, il semblerait que les composés et la fleur aient les mêmes bénéfices sur ces paramètres d'humeur enregistrés. L'utilisation de roses fraîches présentant plus de contraintes pratiques dans la mise en place de protocole, l'HE de rose ou ses composés semblerait un bon compromis dans le but d'améliorer l'humeur.

B] Effet de l'odeur de rose sur l'anxiété

L'anxiété est une émotion négative qui correspond à l'attente plus ou moins consciente d'un danger ou d'un problème. Elle peut correspondre chez l'animal non-humain à l'état précédent une attaque prédatrice potentielle (Craske et al., 2011). Elle est mesurée de manière subjective chez l'humain à travers différents types de questionnaire. Elle est mesurée chez l'animal par des tests comportementaux standards reposant principalement sur l'évitement par le rongeur des plus zones exposées, lumineuses, et donc plus anxiogènes.

1) Chez l'humain

Plusieurs études ont testé l'effet des odeurs de l'HE de rose ou de ses composées dans des situations particulièrement anxiogènes comme des interventions chirurgicales mais également avant ou après un accouchement. Par exemple, Dagli et ses collaborateurs ont étudié l'effet de l'HE de rose, obtenue à partir d'une distillation de pétales de roses turques fraîches, sur les états anxieux de patients nécessitant une septorhinoplastie/rhinoplastie (Dagli et al., 2019). Les expérimentateurs ont placé l'HE sur un diffuseur d'arômes à ultrasons avant de se rendre au bloc opératoire et ont utilisé un questionnaire composé de plusieurs items allant de "Je me sens effrayé(e) / perturbé(e)" à "Je me sens calme / détendu(e)". L'inhalation de l'HE de rose s'est révélée efficace pour réduire de manière significative les états anxieux des patients avant la chirurgie (Dagli et al., 2019). De même, certaines études rapportent l'effet anxiolytique de l'HE de rose chez les femmes avant et après l'accouchement. Kheirkhah et collaborateurs ont fait sentir à des femmes, à différentes étapes de dilatation avant l'accouchement, une HE de rose iranienne, tout en évaluant leur anxiété sur une échelle visuelle. Les auteurs ont constaté que le niveau d'anxiété des femmes sur le point d'accoucher était significativement diminué après la séance d'inhalation par rapport à celui des femmes qui avaient subi les soins courants de la salle d'accouchement (c'est-à-dire sans utilisation d'HE de rose) (Kheirkhah et al., 2014). Plus récemment et de manière similaire, Abbasjahromi et ses collaborateurs ont étudié l'effet de l'HE de rose de Damas sur le niveau d'anxiété de femmes sur le point d'accoucher par césarienne. Trois gouttes de cette huile ont été diffusées à des femmes dont l'accouchement par césarienne était programmé le jour même. Les auteurs ont constaté que la diffusion de l'HE induisait une diminution de la sévérité des états anxieux et de la douleur ressentie (Abbasjahromi et al., 2020). L'effet de l'odeur de rose a également été testé sur l'anxiété induite par la peur de la douleur chez les patients brûlés (Daneshpajoo et al., 2019). Cette étude a évalué les effets de la diffusion de l'HE de rose de Damas (5 gouttes d'arôme de rose à 40 %) combinée à une technique de relaxation. Les auteurs ont constaté un effet synergique des deux

méthodes sur le comportement émotionnel des patients, plus efficace qu'avec une seule intervention. L'inhalation d'HE de rose pourrait donc être utilisée comme méthode complémentaire.

Ainsi, les différents types d'HE de rose, relativement similaires en termes de composition, ont mis en évidence des effets anxiolytiques et ce malgré des différences de durée d'exposition ou de concentration. Ces données suggèrent un effet relativement robuste des HE sur le comportement anxieux, les effets de l'inhalation de roses fraîches sur les états d'anxiété n'ayant pas encore été testés.

2) Chez l'animal

L'effet de l'HE de rose sur la diminution des comportements anxieux a également été mis en évidence chez les rongeurs. Des tests standards sont couramment utilisés pour mesurer l'anxiété dont les plus populaires sont les tests de la « Black-White Box », « l'Openfield » et « Elevated-Plus Maze » (Lezak et al., 2017). Ces tests sont basés sur l'exploration des dispositifs expérimentaux par les animaux, avec des temps plus élevés caractérisant un état d'anxiété plus faible.

Almeida et collaborateurs ont montré que la diffusion de l'HE de rose (à l'aide de cotons imprégnés de 2 mL d'HE) avait des propriétés anxiolytiques chez le rat, similaires à celles observées après traitement médicamenteux au diazépam (benzodiazépine anxiolytique), testé par les scores comportementaux au test « Elevated-Plus Maze » (de Almeida et al., 2004). Dans la lignée de cette étude, Bradley et collaborateurs ont montré que 200 μ L seulement (équivalent à 4 gouttes) d'HE de *R. x damascena* Mill., distribuée via un vaporisateur électronique et une pierre à arôme placée dans les salles d'hébergement et d'expérimentation de gerbilles, induisait une réduction des comportements anxieux observés dans les tests de la « Black-White Box » et de l'« Elevated-Plus Maze ». Cette fois encore, les résultats étaient similaires à ceux observés après traitement des gerbilles au diazépam (Bradley et al., 2007). Le 2PE, un des composants majeurs de l'HE de rose, induit également des effets anxiolytiques évalués comportementalement par test du labyrinthe en croix surélevé et physiologiquement, par diminution des niveaux de corticostérone sanguin (Galliot et al., 2012).

Ainsi, chez l'animal également, différents types d'HE de rose montrent des effets anxiolytiques et ce malgré des différences de durée d'exposition ou de concentration confirmant un effet anxiolytique de l'odeur d'HE de rose.

C] Effet de l'odeur de rose sur les états de dépression

La dépression se caractérise par une perte de la motivation, une anhédonie et un sentiment de désespoir. L'HE de rose a également été testée sur les états de dépression et/ou une anhédonie (perte d'intérêt et/ou de plaisir) (Athanassi et al., 2021).

1) Chez l'humain

Des effets bénéfiques d'une inhalation de l'odeur de rose ont été montrés chez l'humain. Par exemple, des patients sous hémodialyse, présentant des symptômes de dépression, ont vu une différence significative positive après seulement une heure d'inhalation d'HE de rose de Damas (Dehkordi et al., 2017).

2) Chez l'animal

Le test de préférence au sucrose est un test largement utilisé chez le rongeur pour mesurer l'anhédonie et sa modulation par un traitement (Liu et al., 2018). En effet, un animal présentant des troubles de type dépressif verra sa consommation de sucrose (très attrayant) diminuée (anhédonie). Ce test a été utilisé sur des rats chez lesquels des symptômes de type dépressif ont été induit par un protocole de stress chronique et qui ont été ensuite soumis à un protocole d'inhalation pendant 28 jours d'HE de *R. x damascena* Mill. Une consommation de sucrose plus élevée a été observée après inhalation d'HE de rose par rapport à un groupe de rats contrôle n'ayant pas inhalé d'odeur, cette observation étant de plus en plus importante au cours du temps (Nazıroğlu et al., 2013).

Les composés isolés d'HE de rose se sont aussi révélés efficaces pour induire des effets positifs sur le comportement de type-dépressif chez l'animal. Avec un test de suspension par la queue (dont les scores sont utilisés également pour évaluer les états de type dépressif chez le rongeur par mesure du comportement dit de désespoir), Ueno et collaborateurs ont mis en évidence un effet anti-dépresseur de l'inhalation de 2PE après 15 min de présentation, sans modulation de l'activité motrice, de la force musculaire, de l'agressivité et des fonctions cognitives de la souris (Ueno et al., 2019).

Ainsi, les symptômes de type dépressifs peuvent être significativement diminués après inhalation d'HE de rose ou de 2PE, dont l'efficacité est encore plus importante après plusieurs semaines d'intervention. Il serait intéressant de décrypter les bases neurales sous-tendant cette diminution des comportements de type dépressifs.

D] Conclusion

L'HE de rose présente des propriétés antidépressives, calmantes et anxiolytiques intéressantes et son utilisation pourrait être complémentaire des traitements médicamenteux ou thérapeutiques aujourd'hui utilisés. Il est maintenant important de décrypter les bases neurales de la modulation des comportements et états présentés ci-dessus après l'inhalation de roses fraîches, de l'HE de rose ou encore de ses composés. Enfin, bien que l'odeur de rose fraîche soit très agréable, celle-ci n'a pas toujours été testée dans les protocoles présentés. Celle-ci pourrait activer des circuits neuronaux recouvrant mais pas complètement avec l'HE ou ses composés. Nous pouvons alors nous poser la question de son impact sur les comportements émotionnels.

Objectifs de la thèse

L'introduction générale de cette thèse a permis d'établir l'état de l'art actuel portant sur la rose et son parfum, complexe et envoûtant, ayant un pouvoir fort attractif. La rose est une plante dont les molécules odorantes émises sont assez bien connues aujourd'hui et dont les voies de biosynthèse tendent à être mieux décryptées au cours du temps. Son parfum est utilisé dans de nombreux contextes et est vanté à travers différents domaines : botanique, thérapeutique, cosmétologique et autres. Son aspect universel lui vaut son statut de « reine des fleurs ». Cependant, le parfum de la rose est complexe et il existe non pas un mais plusieurs centaines voire milliers de parfums de rose différents, selon la composition en molécules odorantes, toutefois reconnaissables. Ce projet de thèse, pluridisciplinaire, incluant les neurosciences, la biologie végétale, la génétique et la biochimie nous a permis d'identifier les molécules clefs du parfum caractéristique et plaisant des roses.

Ainsi, ce travail de thèse s'est concentré sur deux problématiques : 1) quelles sont les molécules odorantes qui dictent l'odeur de rose et son aspect plaisant et 2) quelle est la part de diversité des gènes impliqués dans leur parfum ?

Dans un premier temps, **une revue de bibliographie** a permis de retracer les connaissances scientifiques de l'origine du parfum de la rose. Cette revue s'axe sur un volet historique, biochimique et génétique, se focalisant principalement sur les composés majoritaires du parfum de la rose et leurs voies de biosynthèse.

Dans un second temps, une **étude expérimentale** a recherché les catégories de molécules et molécules issues du parfum de rose à l'origine de son hédonicité. Cette étude a été permise grâce à des analyses des données psychophysiques obtenues sur 19 participants et biochimiques des molécules émises par dix variétés différentes de roses.

Dans un **chapitre** faisant office d'étude expérimentale préliminaire, nous avons étudié la diversité d'allèles de gènes dont le rôle important dans la biosynthèse de composés majeurs du parfum de la rose est connu. Une soixantaine de roses ont été sélectionnées dans ce volet pour l'étude des allèles de *NUDX1-1a* et de *PAAS*. *NUDX1-1a* est impliqué dans la synthèse du géraniol et de ses dérivés uniquement chez la rose. *PAAS* est connu pour participer à la synthèse de 2PE et ses dérivés. La question que nous nous posons dans cette partie est la suivante : existe-t-il une diversité réduite ou large de ces allèles dans un panel de variétés, qui pourrait résulter d'une pression de sélection de la part des obtenteurs ? Les résultats de cette étude étant préliminaires, cette partie a été rédigée de manière hybride entre article expérimental

et chapitre littéraire, soulignant l'importance de poursuivre les travaux afin de répondre à la problématique.

Comme beaucoup de projets scientifiques ces dernières années, le mien a aussi subi de plein fouet les conséquences de la COVID-19 qui a émergée en 2020, soit un an seulement après le début de ma thèse. L'impact fort de la pandémie sur nos vies et sur la recherche scientifique a eu pour conséquence de mettre en pause un moment mes travaux initialement menés sur la rose. Cependant, j'ai saisi l'opportunité de travailler sur un projet annexe : l'étude de l'impact d'un entraînement olfactif sur les comportements anxieux chez la souris ainsi que sur l'activité et de la connectivité cérébrale sous-tendant ces modifications du comportement émotionnel. Certains odorants utilisés pour l'entraînement olfactif sont synthétisés par la rose. Ce projet est présenté en annexe à la fin de ce manuscrit. J'ai également eu l'occasion de travailler sur un chapitre expérimental en olfaction, publié, dont certaines méthodologies ont été utilisées pour l'étude expérimentale principale de ma thèse. Ce chapitre est également présenté en annexes.

Revue de littérature scientifique



Botany Letters

ISSN: (Print) (Online) Journal homepage: <https://www.tandfonline.com/loi/tabg2>

Do we really know the scent of roses?

Jean-Claude Caissard, Inès Adrar, Corentin Conart, Saretta N. Paramita & Sylvie Baudino

To cite this article: Jean-Claude Caissard, Inès Adrar, Corentin Conart, Saretta N. Paramita & Sylvie Baudino (2022): Do we really know the scent of roses?, Botany Letters, DOI: [10.1080/23818107.2022.2160807](https://doi.org/10.1080/23818107.2022.2160807)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/23818107.2022.2160807>



Published online: 28 Dec 2022.



Submit your article to this journal [↗](#)



Article views: 2



View related articles [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)

Full Terms & Conditions of access and use can be found at
<https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=tabg21>

ARTICLE



Do we really know the scent of roses?

Jean-Claude Caissard , Inès Adrar, Corentin Conart, Saretta N. Paramita and Sylvie Baudino 

Université Lyon, Université Saint-Etienne, CNRS, Saint-Etienne, France

ABSTRACT

Roses have been admired ever since antiquity. They have followed all of the human history for reasons other than just medicine and food, mostly because of their beauty and their fragrance. They have always been used in perfumes, in gardens, and yet again in the cut flower market. Humans have listed more than 25,000 cultivars to this day, while there are only a little over a hundred species in the wild. In this review, we will present the domestication history of roses used for perfumes, and the selection of garden roses and cut rose cultivars. We will also compare the scent of modern roses and wild roses and give the chemical analysis of representative volatile compounds that have been characterized in roses. We will then summarize the biochemical pathways that have been studied in roses at the gene level. We will conclude that scent is not a trait in itself but a multitude of traits driven by many genes. Their alleles could perhaps be used as markers for the selection of new cultivars.

ARTICLE HISTORY

Received 30 September 2022

Accepted 22 November 2022

KEYWORDS

Rose; scent; terpenes; essential oil; biosynthetic pathways; volatile compounds; chemical ecology; specialized metabolites

Introduction

Among flowers, roses have had a place of honor ever since antiquity (Krüssmann 1981). In ancient Greece, Aphrodite, the Goddess of Love, is said to have created red roses with her blood, and in ancient Persia and India, the bride of Vishnu was created from rose petals. The rose is mentioned in the oldest cuneiform texts known to mankind (approx. 1800–800 B.C. E. for different versions; Azrié 2015). As far back as 600 B.C.E., Sappho, an Archaic Greek poet, named her the queen of flowers. This craze has never ceased to this day and has spread throughout the world. It is the most striking example of a plant that has followed history of Mediterranean civilizations on a large scale for aesthetic and symbolic reasons, and not strictly for food or medicine. It can be estimated that over 25,000 cultivars have been created by breeders (Cairns 2000; Young and Schorr 2007), most of them since the 18th century in Western countries. Fragrance has always been a criterion of choice for the domestication of spontaneous mutations or crossings, and for the breeding of roses. The Romans and Persians already cultivated roses and used them to perfume objects, fabrics, oils, or water by maceration. This is not very different from what is being done today, with the exception that hydrodistillation and modern techniques are now used for the extraction of scent (Brun and Fernandez 2015). Nowadays, garden roses have a huge diversity of scents such as myrrh, tea, lemon, peach, or parsley for example. This is the result

of a long history of domestication and breeding from wild briars of the genus *Rosa* to modern roses (Figure 1), a process in which the scent was one of the major players. Unfortunately, some cultivars, such as those used for cut roses, are less fragrant. Indeed, during the 20th century and for the cut flower market, growers have paid more attention to the long vase life character rather than to the criteria of scent.

For the past 20 years, researchers have begun to decipher the biochemical pathways of volatile molecules that constitute the rose scent (Smulders et al. 2019). This allowed them to suspect that the scent is not a trait in itself but a multitude of traits driven by many genes (Spiller et al. 2010; Rocchia et al. 2019; Schulz et al. 2021). Furthermore, they discovered that roses sometimes synthesize common volatile compounds with uncommon enzymes. Evolution's driving force may have played a major role in this phenomenon, or the domestication process may have created new biochemical functions (Magnard et al. 2015; Sun et al. 2016; Baudino et al. 2020).

In this review, we will describe the domestication of roses, in particular those which are used for the perfume market. We will also question whether the fragrance of wild roses is different from that of modern roses. This aspect will allow us to discuss the chemical composition of the fragrance of roses, the biosynthesis of their volatile compounds and the corresponding genes that have been studied. We will conclude on the possibility of understanding the inheritance of fragrant molecules to drive crossbreeding more efficiently.

CONTACT Jean-Claude CAISSARD caissard@univ-st-etienne.fr Université Lyon, Université Saint-Etienne, CNRS, UMR 5079, Laboratoire de Biotechnologies Végétales appliquées aux Plantes Aromatiques et Médicinales, Saint-Etienne, France © 2022 Société botanique de France

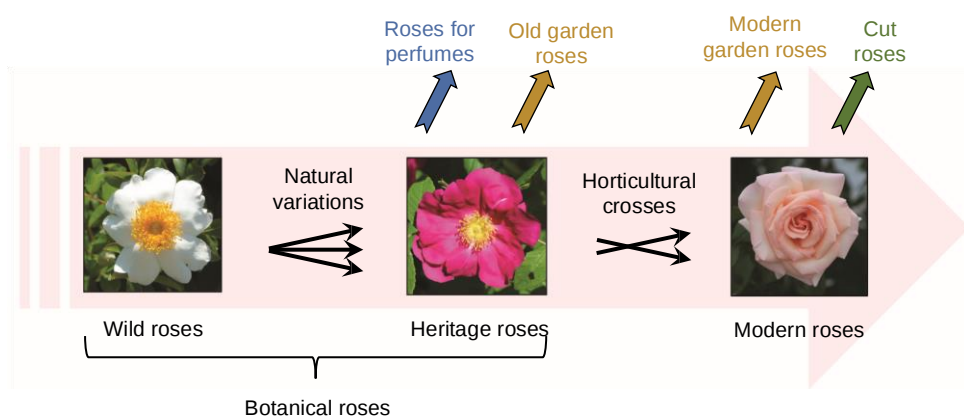


Figure 1. Schematic representation of historical stages of rose domestication.

History of the domestication of roses used for perfumes

The domestication of roses certainly dates back more than 2,000 years in the Mediterranean area, the Middle East, and China (Krüssmann 1981; Touw 1982; Wang 2007). Earliest Western record of a wild rose drawing was found on the murals of Knossos palace (approx. 1700–1500 B.C.E.; Figure 2), but one of the oldest types of evidence (approx. 1200 B.C.E.) for the use of roses was discovered on a tablet in the palace of Nestor in Greece, which reported the composition of an anointment. Furthermore, Homer, the Greek poet, narrated the anointing of the corpse of Hector by Aphrodite with rose oil as a divine oil, before 8th century B.C.E. After that, ancient authors described the importance of the scent of roses in religious ceremonies, in pharmacopoeia, in banquets, in thermal baths, or even for seduction (Brun 1998; Brun and Monteix 2009). Concrete evidence of the domestication of roses were provided by recipe descriptions of rose perfumes, named *rhodion*, by depiction on murals, and by texts describing cultivation of ever-blooming roses with hundreds of petals (Krüssmann

1981; Brun and Monteix 2009; Fernandez and Levasseur 2013). *Rhodion* was obtained by maceration of petals in hot oil. Indeed, semi-double roses are painted on murals of Villa de Livia in Rome (55 to 29 B.C.E), and in Casa del Bracciale d'Oro in Pompei (79 C.E.). Double roses are represented in mosaics (100–200 C.E.) of the Museum of Vatican, and fields of ever-blooming roses were described by Virgil (37 to 30 B.C. E.) and Martial (101 to 102 C.E.). Semi-double, double and ever-blooming characteristics can be interpreted as domestication traits. Numerous authors tried to identify these roses and it is very common to give the name *R. × damascena* 'Bifera' to ever-blooming roses of the Roman Empire, and *R. gallica* 'Officinalis' or *R. × centifolia*, to roses found on antic murals and mosaics. Nevertheless, the exact identification of these species is impossible, as the notion of species and variety did not exist at that time. For example, the mention of the term "biferous rose" in an ancient text could very well correspond to a mixture of roses in the same field, some flowering early and the others later.

In reaction to Romans, early Christians denounced the use of perfumes, assimilated to lust, around the year 100 C.E. (Touw 1982). In the Middle Ages, rose perfumes were only used in the Middle East. In Europe, roses were mainly used for their symbolism and rose cultivation for perfumes was neglected until around the years 700–800 C.E (Krüssmann 1981). In China, roses had also been cultivated ever since at least 200 B.C.E., but traits of domestication such as the ever-blooming character seem to have appeared later on, around 1000 C.E. (Wang 2007). The use of rose water, thus hydrodistillation, is attested by a written debt of 30,000 bottles to the Caliphate of Baghdad circa 810–817 C.E. (Widrechner 1981). The separation of water and oil during the distillation process was described in the Middle East around the year 900 C.E. The essential oil was called "attar of roses" (Touw 1982). Europeans reintroduced the use of roses for medicine and for hygiene by bringing back cultivated roses during the



Figure 2. The blue bird fresco in Knossos (approx. 1700–1500 B.C.E.). The arrow points to the only original drawing of a wild rose. Personal photography.

Crusades and afterwards. From this period, only two main roses were used for the extraction of perfumes: *R. gallica* 'Officinalis' and *R. × damascena* 'Trigintipetala'. According to some authors, the first cultivar had been known since Antiquity; for others it was brought back from the region of Damask in 1238 C.E. by Thibault IV of Champagne, or by "Le Bon Roi René" in the 15th century (Joyaux 1998). *Rosa gallica* 'Officinalis' was largely cultivated in Provins (France), firstly for its medicinal properties but rapidly for its beauty and perfume. It quickly became the rose of apothecaries, called the Rose of Provins. At this period (Champier 1512) wrote a book on plants used for nutrition and health, and named it *R. gallica*. Unfortunately, there are lots of confusions in the literature regarding *R. gallica*, *R. gallica* 'Officinalis', Rose of Provins, Apothecary Rose, Gallic Roses, and their hybrids. It is very difficult to identify synonyms or varieties among these names. The second cultivar, *R. × damascena* 'Trigintipetala', is a Damask rose commonly equated with *R. × damascena* 'Kazanlik'. Indeed, this is probably the same cultivar as the one which had been cultivated in Kazanlak in Bulgaria since the 16th century. In an ordinance, Sultan Murad III (1574– 1574 C.E.) gave the order to cultivate *R. × damascena* in the old palace of Constantinople for its essential oil (Joyaux 2005; Roques 2021). Today, *R. × damascena* 'Kazanlik' is the most widely used rose cultivar for essential oil extraction all around the Mediterranean basin and the Middle East (Rusanov et al. 2009). The oil production is mostly localized in Bulgaria, Turkey, and Morocco thanks to the use of this cultivar. Some local productions are also using this cultivar alongside others, as in Iran or India for example. According to genetic markers, all the Damask roses could be originating from a single natural cross between *R. moschata* and *R. gallica*, itself crossed with *R. fedtschenkoana* (Iwata et al. 2000). In any case, the genetic diversity of these oil producing cultivars is particularly low (Baydar et al. 2004; Rusanov et al. 2005, 2009; Smulders et al. 2011), with the exception of some cultivars from Iran, which could thus be, together with Turkey, the geographical origin of *R. × damascena*'s biodiversity (Widrelechner 1981; Babaei et al. 2007).

At the end of the 19th century, attempts to obtain new cultivars for scent extraction were successful, but unfortunately their usage did not last long. This is for example the case for *R. rugosa* hybrids and for Crimean roses. 'Roseaie de l'Haÿ' and 'Rose à Parfum de l'Haÿ' were two famous cultivars obtained in 1901 C.E. by Jules Gravereaux and Cochet-Cochet to respond to a request from the Ministry of Agriculture for French essential oil production. The first one was a seedling of *R. rugosa* 'Rubra', and the second one a

progeny of (*R. × damascena* 'Bifera' × *R. 'Général Jacqueminot'*) × *R. rugosa* (Young and Schorr 2007). Unfortunately, growers were used to harvesting roses in May during a short blooming period, and then moving on to another plant production. They therefore never got used to working with staggered and extended blooming. Furthermore, these cultivars were not easy to acclimatize for production in Grasse, the major production center in France at that time. Crimean roses have also been selected in the Soviet Union since 1877 C.E. after an order of the Ministry of State Property to cultivate *R. × damascena* in Crimea (Marko et al. 2020). The first cultivar adapted to cold conditions was 'Krymskaya Krasnaya', a seedling of *R. gallica* obtained in 1926 C.E. Numerous cultivars were then obtained for local culture, such as 'Festivalnaya' for example (Widrelechner 1981; Marko et al. 2020). They came from different crossings involving *R. gallica* and *R. × damascena*. Unfortunately, despite the great success for this oil in the U.S.S.R., production was stopped at the end of the 20th century. Other cultivars were sometimes used for oil production at the end of the 19th century, such as 'Ulrich Brüner fil's' in France (Rolet 1918), and *R. alba* in Bulgaria (Rolet 1918; Verma et al. 2020), but *R. × damascena* 'Kazanlik' has never been dethroned. Nevertheless, some countries, such as China for example, are still developing new cultivars and trying to obtain quality certificates for their rose extracts. Nowadays, hydrodistillation is the most common process for obtaining essential oil. Petals are immersed in water heated to 100°C. The vapor condenses after cooling in a coil. Through decantation, a layer of rose water is obtained, surmounted by essential oil, essence, or attar of rose. The production of 1 kg of distilled essential oil requires 3 to 5 tons of roses, the equivalent of about 200 million petals. Consequently, the price of essential oil is quite high, from 5000 to 7000 € kg⁻¹ depending on the sources and the year. A field of *R. × damascena* 'Kazanlik' produces about 1.5 tons ha⁻¹ of flowers from the third year of planting and then up to 5 tons ha⁻¹ in subsequent years. The flowers are collected by hand, one by one, between 5 a.m. and 9 a.m., when the concentration of scent is at its maximum.

At the end of the 19th century, a new technique of extraction was set up for industrial purposes. In this process, petals are washed in hexane until saturation. The solution is then decanted, concentrated and partially distilled to obtain a dough named concrete, which is mixed with alcohol, filtrated, refrigerated at -15°C, then filtrated again to remove plant waxes. The pure extract is named absolute. The Chiris Company developed this process on a large scale in Grasse in 1894 C.E. (Cocoual 2016), and Gilbert Nabonnand, a

French breeder, introduced the famous 'Rose de Mai' in 1895 C.E. (Jean 1937), a new cultivar created specifically for hexane extraction. Nowadays, this cultivar is still cultivated in France and in several other countries. It is sometimes extracted by supercritical CO₂. It is often named *R. × centifolia*, but is in fact a hybrid of *R. × centifolia* with other unknown species or cultivars. It should therefore be designated as *R. × centifolia* 'Nabonnand'. Its absolute is a highly concentrated and very expensive product (1200 to 2000 € kg⁻¹). Approximately 400 kg of roses are extracted to obtain 1 kg of concrete and 0.5 kg of absolute.

Nowadays, the world production of rose essential oil and concrete is estimated at around 15 tons per year, of which about 5 tons are essential oil. Turkey and Bulgaria are the main two producers (80% of total production). Iran, China, Egypt, France, India, and Morocco are also important contributors in this perfume sector. Both products, essential oil and absolute, which have different scent characteristics, are mostly used in perfumery and cosmetic industries.

Roses for gardens and the cut flower market

During the 18th and 19th centuries, gardeners, breeders and rose lovers discovered wild roses and ancient varieties from all over the world and cultivated them in their gardens. At first, they used spontaneous mutations, called sports, and natural random crosses. At the end of the 19th century, they succeeded in making crosses by manually transferring pollen from the stamens of one rose to the pistil of another one (Oghina- Pavie 2016). During this period, many horticultural traits concerning scent, colors, number of petals and blooming characters for example were sought. Some of these traits, such as the yellow color and the recurrent blooming for example, were very rare and difficult to obtain. For crossings, breeders extensively used roses coming from the Middle East and Asia: the yellow roses *R. × odorata* 'Parks' Yellow Tea-scented China', and *R. foetida* 'Persian Yellow', and the ever-blooming roses *R. × damascena* 'Bifera', *R. chinensis* 'Old Blush', *R. × odorata* 'Hume's Blush Tea-scented China', and *R. chinensis* 'Semperflorens' for example (Krüssmann 1981). All these crosses gave rise to numerous horticultural groups, with a huge diversity of scents. Following these multiple crossings, there is some confusion in the nomenclature of groups of horticultural roses. Two classifications are unfortunately mixed: the Rheder's classification, and the horticultural classification of the World Federation of Rose Societies (Rehder 1940; Cairns 2003; Oghina-Pavie 2015). For example, the common name "Gallic rose" can designate different roses: *i*/ the wild species, *R. gallica*, *ii*/ the very old cultivated rose of Provins, *R.*

gallica 'Officinalis', which seems to be a semi-double variety of *R. gallica*, or *iii*/ even sometimes one of the unidentified *R. gallica* hybrids of the "Gallic Group" (Joyaux 2005). In addition to this confusion on rose names, the so-called "hybrids" in rose catalogs may be crosses between species according to the botanical nomenclature, or crosses between horticultural groups, themselves hybrids. As an evidence, rose nomenclature relies more heavily on historical events and famous breeders' names than on identified genetic groups.

Studying genetic diversity of garden roses bred during the 19th and the beginning of the 20th centuries, (Liorzou et al. 2016) has allowed the description of 16 genetic groups. These groups formed a continuous series mostly driven by crosses with roses of four ancestors from China (*R. chinensis* 'Old Blush', *R. chinensis* 'Slater's Crimson China', *R. × odorata* 'Parks' Yellow Tea-scented China', and *R. × odorata* 'Hume's Blush Tea-scented China'). Varieties from the beginning of the 19th century have a European genetic background, close to that of ancient

European roses. Varieties from the middle of the 20th century have a Chinese genetic background. This is completely in line with the history of rose breeding, as growers introgressed these varieties to obtain ever-blooming roses during the 18th and 19th centuries. Horticultural groups such as "Bourbon Group", "Damask Group" and "Noisette Group", for example, were very famous because blooming occurred twice during the year, in spring and in autumn. To obtain continuous blooms from spring to fall, Chinese roses were extensively used during this period. Their hybrids did not have the typical rose scent but a tea scent. They were then crossed with other fragrant roses to obtain ever-blooming roses with a typical scent, giving rise to the "Hybrid Tea Group" at the end of the 19th century. It is commonly accepted that the first rose of the "Hybrid Tea Group" was the cultivar 'La France' obtained in 1867.

Among these garden roses, some breeders had the idea to produce them in winter, forcing the plants to bloom by different processes of culture: arcuate culture, cut at ground level after the first bloom, greenhouses . . . For this purpose, roses of the "Hybrid Tea Group" were perfect, and several centers of production began to select varieties for the cut flower market: the French Mediterranean and Brie areas, as well as the Netherlands (Maumenè 1935; Nicol 1996; Joyaux 2005; Leus et al. 2018). Unfortunately, during the 20th century, the selection of rose cultivars specifically for the cut-flower market has led to the loss of scent in these cultivars. The cause of the absence of typical rose scent in these varieties is not known. Some authors hypothesize a genetic link between lack of

scent and agronomic traits such as resistance to *Botrytis* or to black spot disease, as well as vase life. However, an anise scent is present in some varieties for cut flowers. Moreover, some experiments failed to demonstrate any relationship between the amounts of volatile compounds emitted and vase life, when fragrant and non-fragrant rose cultivars were compared (Borda et al. 2011). Breeders today are redoubling their efforts to obtain cultivars with a long vase life and scent at the same time. Several genes encoding enzymes involved in the biosynthesis of rose scent have been identified in the past few years, which should shed light on the genetic determinism of this major trait.

Is the scent of wild roses different from that of modern roses?

When speaking about rose scent, people often think of the typical rose scent, similar to the one of roses used for the perfume industry, or the one of some garden roses such as *R. 'Papa Meilland'* for example. However, lots of rose species and varieties have very different scents, and sometimes no scent, as some recent bush roses and cut roses.

Wild roses have a wide variety of scents. For example, *R. arvensis* have a sweet smell of myrrh, *R. bracteata*, a fruity smell, *R. foetida*, an unpleasant smell of old attic, *R. moschata*, a smell of musk or clove, and *R. roxburghii*, no scent at all. In modern roses or "Hybrid Tea Group", scents sometimes also deviate from what is considered as the typical rose scent. Breeders are actively working to find original fragrances in cultivars such as 'Paul Ricard' (anise scent), 'Constance Spry' (myrrh scent), 'Gloire de Dijon' ("tea scent"), 'Prestige de Lyon' (raspberry) and 'Souvenir de Marcel Proust' (lemongrass), among others. The scent of roses is extraordinarily complex, with hundreds of different molecules in some species and varieties. For over 30 years, these molecules have been isolated, purified and studied by chemists. From a chemical point of view, it is interesting to focus on some specific compounds which have a typical odor, and which were mixed when roses were hybridized (Table 1). *Rosa chinensis* f. *spontanea* and *R. gigantea* are supposed to be wild ancestors of Chinese roses, and *R. gallica* 'Officinalis', a putative ancestor of roses used for perfumes, *R. × centifolia* 'Nabonnand' and *R. × damascena* 'Trigintipetala'. *R. 'Papa Meilland'* is one of the most famous scented garden roses, and *R. 'Rouge Meilland'*, an unscented parent. Roses with a tea scent have several µg of 3,5-dimethoxytoluene (DMT), and roses with a typical rose scent have huge amounts of 2-phenylethanol, which smells powdery rose (Table 1). The most fragrant cultivars also produce acyclic

monoterpenes (geraniol, nerol, β-citronellol), which smell of essential oil of rose, and their aldehydes (geranial, neral, β-citronellal), which smell like sweet lemon. Some trace compounds are sometimes very appreciated by perfumers, as for example Z-3-hexenol for the green note, or ionones for the violet note. Their biochemical pathways are thus also investigated.

Modern garden roses have therefore inherited their olfactory characteristics from multiple roses involved in the history of breeding during the 19th century, olfactory characteristics which they themselves had inherited from wild roses. As a consequence, breeders should consider fragrance not as a single phenotypic trait but rather as a multitude of traits or molecules. Furthermore, inheritance of scent traits may depend on the genetic background of the cultivars. This is the case for 2-phenylethanol for example, which inheritance was shown to be distinct in two different breeding populations (Spiller et al. 2010; Rocchia et al. 2019).

To facilitate fragrant rose breeding, a possible approach would be to use the genes involved in volatile compound biosynthesis as markers during selection. This strategy supposes an in-depth knowledge of the biochemical pathways and a focus on genes which encode flux-limiting enzymes, and/or alleles which encode the most efficient enzymes.

Biochemical pathways involved in scent compound production

In roses, emitted volatiles may be organized into several main classes associated with their biosynthesis pathways: fatty acid derivatives, phenyl methyl ethers, phenylpropanoids/benzenoids, and terpenoids. Some of them have been particularly studied during the last two decades because they include major compounds of rose fragrance (see Table 1 for the list of these volatiles), but trace compounds have also been studied.

Phenylpropanoids and benzenoids have a benzene

aminotransferase (RyAAAT3) which then undergoes decarboxylation to form phenylacetaldehyde by RyPPDC (phenylpyruvic acid decarboxylase), and then 2-phenylethanol by RyPAR. This alternative pathway identified for the production of 2-phenylethanol seems to be activated in response to seasonal changes in temperature (Hirata et al. 2016).

Other phenylpropanoid compounds are also present in the rose flower, such as eugenol and methyleugenol. These phenylpropenes are important constituents of many plants in which they are supposed to play a role in pathogen defense due to their antibacterial and

Table 1. Main compounds extracted by hexane in rose petals from different varieties ($\mu\text{g g}^{-1}\text{FW}$).

Rose name	Chinensis ¹	Gigantea ²	Provins rose ³	Damask rose ⁴	Provence rose ⁵	Papa Meilland ⁶	Rouge Meilland ⁷
Fragrant Cloud	Unscented	Tea scent	Strong rose scent	Strong rose scent	Strong rose scent	Rose scent	Unscented
PE ⁸	1.41 ± 0.80	-	483.55 ± 44.22	570.53 ± 94.51	436.29 ± 49.92	48.77 ± 8.90	-
Geraniol	-	-	192.08 ± 42.46	112.20 ± 39.51	45.30 ± 17.24	53.49 ± 11.29	0.32 ± 0.04
Nerol	-	-	49.23 ± 19.12	34.50 ± 22.05	24.36 ± 7.75	5.39 ± 1.75	-
β -citronellol	-	-	24.30 ± 13.34	63.38 ± 42.40	39.22 ± 4.33	-	-
Geranial	-	-	8.48 ± 2.36	22.12 ± 19.18	7.72 ± 0.90	10.91 ± 1.01	-
Neral	-	-	2.30 ± 0.94	9.31 ± 7.87	3.65 ± 0.33	2.03 ± 2.04	-
β -citronellal	-	-	-	1.80 ± 2.01	0.27 ± 0.24	-	-
DMT ⁹	0.24 ± 0.27	6.32 ± 0.44	-	-	-	2.25 ± 2.25	1.93 ± 0.47

¹*R. chinensis* 'Spontanea', Asian wild rose, ²*R. gigantea*, Asian wild rose, ³*R. gallica* 'Officinalis', Eastern and European botanical rose, ⁴*R. × damascena* 'Trigintipetala', rose used for essential oil, ⁵*R. × centifolia* 'Nabonnand', rose used for concrete and absolute, ⁶*R.* 'Papa Meilland', famous garden rose, ⁷*R.* 'Rouge Meilland', rose for garden and for cut-flower market, ⁸2-phenylethanol, ⁹3,5-dimethoxytoluene.

¹*R. chinensis* 'Spontanea', Asian wild rose, ²*R. gigantea*, Asian wild rose, ³*R. gallica* 'Officinalis', Eastern and European botanical rose, ⁴*R. × damascena* 'Trigintipetala', rose used for essential oil, ⁵*R. × centifolia* 'Nabonnand', rose used for concrete and absolute, ⁶*R.* 'Papa Meilland', famous garden rose, ⁷*R.* 'Rouge Meilland', rose for garden and for cut-flower market, ⁸2-phenylethanol, ⁹3,5-dimethoxytoluene.

ring in their skeleton and are found in many flower odors (Knudsen et al. 2006; Widhalm and Dudareva 2015). Some of these compounds are major constituents of the scent of roses, such as 2-phenylethanol, with the typical odor of rose water. Other more minor compounds such as eugenol and methyleugenol, with a pronounced odor of clove, add spicy notes to the fragrance of certain varieties. These compounds are mostly derived from L-phenylalanine (Figure 3). The genes and enzymes responsible for the biosynthesis of 2-phenylethanol have been identified in several plant species. Interestingly, plants have developed different pathways to convert

L-phenylalanine to 2-phenylethanol. In roses, two main pathways have been identified: the PAAS pathway and the AAAT pathway. The phenylacetaldehyde synthase gene (*RhPAAS*) was cloned from *R.* 'Fragrant Cloud' (Kaminaga et al. 2006), and from *R.* 'H190' (Roccia et al. 2019). It is a bifunctional enzyme that catalyzes the efficient coupling of L-phenylalanine decarboxylation to oxidation, generating phenylacetaldehyde. The second step is performed by a phenylacetaldehyde reductase (RdPAR) characterized in *R. × damascena* (Chen et al. 2011b). Surprisingly, another pathway also exists in roses, and was discovered in *R.* 'Yves Piaget' (Hirata et al. 2012). In this alternative pathway, L-phenylalanine is first converted into phenylpyruvate by an aromatic amino acid

antifungal effects. Some phenylpropenes are also floral attractants for pollinators (Koeduka 2014). In some rose cultivars, they are present in high quantities in stamens and, to a lesser extent, in petals, giving a clove scent. Methyleugenol has recently drawn much attention because of its carcinogenic activity in rodents (Bouhlef et al. 2012). Eugenol is synthesized from coniferyl acetate, by eugenol synthase (Figure 3). In roses, a eugenol synthase gene, *RdEGS1*, has been isolated, although the functional characterization of the protein in vitro is still missing (Yan et al. 2012, 2018). An *O*-methyl transferase, encoded by *RcOMT1*, a gene highly expressed in flowers of *R. chinensis* f. *spontanea*, was shown to produce the methylated derivative methyl eugenol, which is a potential floral attractant for pollination (Wu et al. 2003).

Despite their benzene skeleton, phenolic methyl ethers are not derived from aromatic amino acids, and can be classified in a specific class of biosynthetic compounds. DMT is responsible for the characteristic “tea scent” of some rose cultivars which, in reality, is not the scent of tea. It is commonly explained that this semantic ambiguity could come from a phonetic deformation of “Fa-Ti roses”, Fa-Ti being a famous Chinese plant nursery near Beijing. Anyway, this compound is biosynthesized in two Chinese species, *R. gigantea* and *R. chinensis* f. *spontanea* (Table 1).

Many modern “Hybrid Tea Group” roses contain only small amounts of DMT, which are generally not strongly perceived by the human nose. DMT is synthesized by two specific enzymes, orcinol-*O*-methyl transferases 1 and 2 (RcOOMT1 and RcOOMT2), that catalyze the methylations of orcinol as substrate (Figure 4) (Lavid et al. 2002; Scalliet et al. 2002, 2006). RcOOMT1 and RcOOMT2 are very similar enzymes. They exhibit different substrate specificities that are consistent with their operating sequentially in DMT biosynthesis. It has been shown that these substrate specificities are mostly due to a single amino acid polymorphism in their phenolic substrate binding site. An analysis of the *OOMT* gene family in 18 species representing the diversity of the genus *Rosa* indicated that if all wild rose species have *OOMT2* genes, only Chinese roses also have *OOMT1* genes. In addition, research provided evidence that

production in Chinese roses (Scalliet et al. 2008). This gene, and thus the “tea scent”, were transmitted during the process of creation of modern roses and are found today in thousands of rose cultivars.

Terpenoids constitute a class of very important fragrant molecules, responsible for the scent of many flowers and aromatic plants (Tholl 2015). In many roses, terpenoids represent the most abundant scent compounds, in particular the monoterpene alcohols such as geraniol, β -citronellol, nerol and their derivatives. These terpenoids are generally responsible for the floral and fruity notes typical of the perfume of roses. In addition to these major terpenoids, trace compounds such as the norisoprenoid ionones also make a great contribution to the scent of these roses because of their low odor threshold in humans (Ohloff 1978). Pathways leading to the biosynthesis of terpenoids are well documented in dozens of plants. Precursors of all terpenes, isopentenyl diphosphate (IPP) and dimethylallyl diphosphate (DMAPP) are supplied by the methylerythritol 4-phosphate pathway for the monoterpene synthesis which generally takes place in plastids (Rodriguez-Concepcion and Boronat 2002). On the contrary, IPP and DMAPP for the biosynthesis of sesquiterpenes are synthesized in the cytosol by the mevalonate pathway (Hemmerlin et al. 2012). These precursors are transformed to allylic diphosphates, geranyl diphosphate (GPP) for the

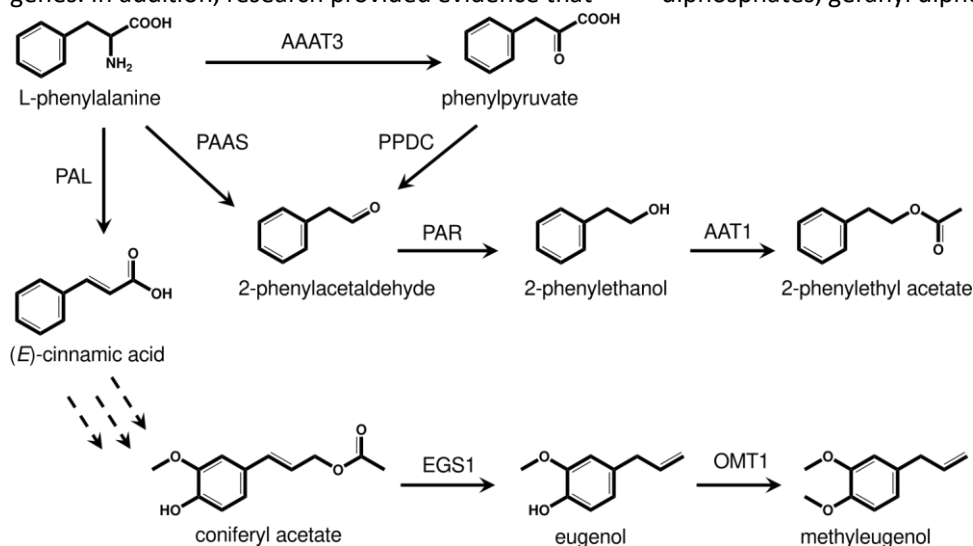


Figure 3. Biosynthesis pathway of phenylpropanoids in roses. Only the enzymatic steps whose genes have been cloned in roses are indicated by a full arrow. Dashed arrows indicate several enzymatic steps not studied in roses. AAAT, aromatic amino acid transferase; AAT, alcohol acyl transferase; EGS, eugenol synthase; OMT, *O*-methyl transferase; PAAS, phenylacetaldehyde synthase; PAL, phenylalanine ammonia lyase; PAR, phenylacetaldehyde reductase; PPDC, phenylpyruvic acid decarboxylase.

the Chinese-rose-specific *OOMT1* genes most probably evolved from an *OOMT2*-like gene that has homologs in the genomes of all extant roses. It was proposed that the emergence of the *OOMT1* gene may have been a critical step in the evolution of scent

monoterpenes and farnesyl diphosphate (FPP) for the sesquiterpene biosynthesis by prenyltransferases. GPP and FPP are then used as substrates by various terpene synthases for monoterpene and sesquiterpene production respectively (Chen et al.

2011a). Finally, several enzymes such as P450 cytochromes or acetyltransferases are able to modify these terpenes and perform oxidation or acetylation reactions on the terpene skeletons (Shalit et al. 2003; Boachon et al. 2015). In roses, only few genes have been isolated so far (Figure 5). A sesquiterpene synthase, *RhGDS*, responsible for the biosynthesis of germacrene D has been characterized in *R. 'Fragrant Cloud'* (Guterman et al. 2002). Data mining of ESTs databases in the same cultivar also led to the characterization of an alcohol acetyltransferase, *RhAAT1*, involved in the formation of geranyl acetate (Shalit et al. 2003; Guterman et al. 2006). RcLINS is the first monoterpene synthase that was functionally characterized in *R. chinensis* 'Old Blush'. It was showed that it is responsible for the production of the minor compound, (-)-3*R*-linalool (Magnard et al. 2018).

Concerning major terpenes involved in the typical rose scent, a key gene was discovered, the expression of which is strongly correlated with the presence of

terpenoids in different rose cultivars (Magnard et al. 2015). For this work, the transcriptomes of two rose cultivars that have very different scents were compared: highly fragrant *R. 'Papa Meillard'* and unscented rose *R. 'Rouge Meillard'* (see Table 1). The gene with the highest differential expression was found to encode a nudix hydrolase, specifically expressed in petals. In modern rose cultivars, its expression was correlated with the presence of the monoterpene geraniol. It was demonstrated by complementary approaches that rose flowers use an alternative route to produce geraniol by employing a completely unexpected diphosphohydrolase enzyme of the Nudix family. RhNUDX1 is responsible for the dephosphorylation of GPP, a precursor of monoterpenes, into geranyl phosphate (Figure 5). It is localized in the cytosol, although in other plants, monoterpenes are synthesized principally into plastids, thus raising the question of the origin of the cytosolic GPP in roses. Nudix hydrolases belong to a superfamily of

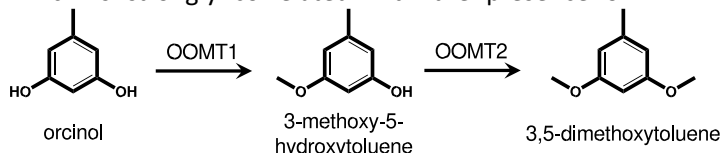


Figure 4. Biosynthesis pathway of phenolic methyl ethers in roses. Only the enzymatic steps whose genes have been cloned in roses are indicated by a full arrow. OOMT, orcinol *O*-methyl transferases.

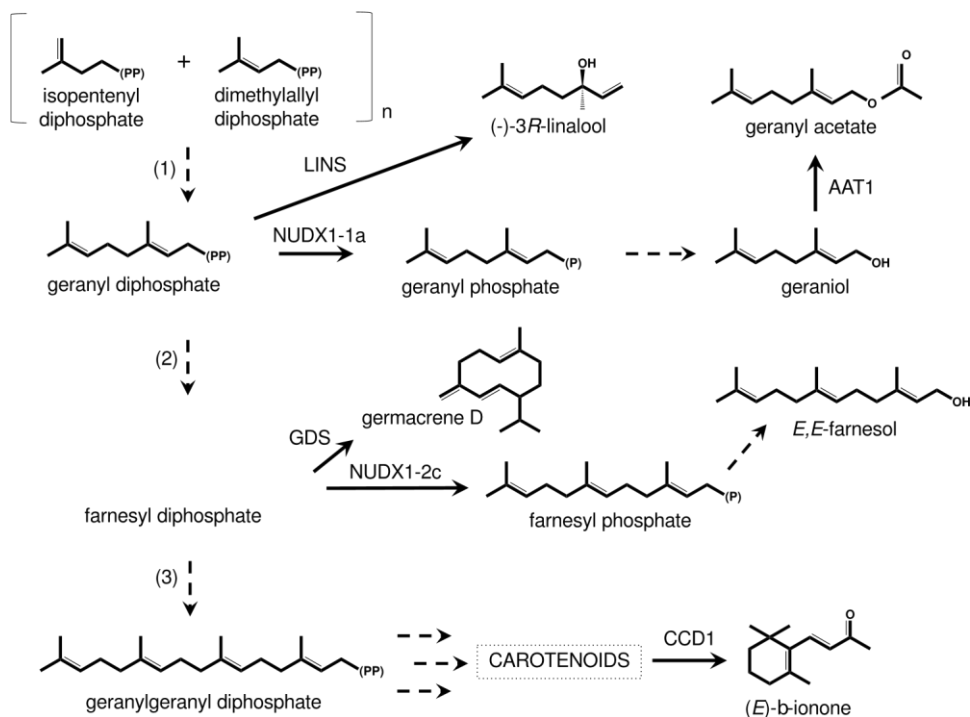


Figure 5. Biosynthesis pathway of terpenes in roses. Only the enzymatic steps whose genes have been cloned in roses are indicated by a full arrow. Dashed arrows indicate several enzymatic steps not studied in roses. Single dashed arrows indicate putative single enzymatic steps. (1), in this step there is a polymerization of one unit of isopentenyl diphosphate and one unit of dimethylallyl diphosphate; (2), in this step there is a polymerization of two units of isopentenyl diphosphate and one unit of dimethylallyl diphosphate; (3), in this step there is a polymerization of three units of isopentenyl diphosphate and one unit of dimethylallyl diphosphate; AAT, alcohol acyl transferase; CCD, carotenoid cleavage dioxygenase; GDS, germacrene D synthase; LINS, (-)-3*R*-linalool synthase; NUDX, nucleoside diphosphate linked to some moiety X.

pyrophosphatases found in animals, plants and bacteria (Srouji et al. 2017). They generally catalyze the hydrolysis of nucleoside diphosphates linked to other moieties (X) and contain the Nudix domain defined by (Bessman et al. 1996) as G(X5)E(X7)REUXEEXX. In plants, Nudix hydrolases are poorly characterized, although up to 29 genes have been identified in the *Arabidopsis* genome (Kraszewska 2008). Based on sequence similarities, several functional groups have been defined. These enzymes can act as diphosphoinositol polyphosphate phosphohydrolases, coenzyme A pyrophosphatases, ADP-ribose pyrophosphatases, ApnA hydrolases and mRNA decapping enzymes. In *Arabidopsis*, few Nudix hydrolases have been linked to a specific function *in vivo*. RhNUDX1 shows the closest similarity to AtNUDX1 from *Arabidopsis*. This protein was proposed to have a similar function to *Escherichia coli* mutator protein MutT, which acts to eliminate harmful compounds such as 8-oxo-dGTP which may be misincorporated into DNA during replication (Maki and Sekiguchi 1992; Yoshimura et al. 2007). Nevertheless, in *A. thaliana*, it has been recently shown that it can be involved in the regulation of IPP concentration in leaves (Henry et al. 2015, 2018). The discovery that a nudix hydrolase is involved in scent production adds to an increasing line of evidence that shows that although many plants produce similar, or even exactly the same scent compounds, they independently evolved the enzymes needed to do this (Sun et al. 2016). It has recently been shown that *NUDX1* genes were highly duplicated in *Rosa* species. From one to more than 10 copies were found in the rose genome and four clades numbered Nudx1–1 to Nudx1–4 could be defined. It was showed that the *RwNUDX1-2c* gene was involved in *E*, *E*-farnesol production in a hybrid of *R. wichurana* (Sun et al. 2020), and that a Nudx1-1a subclade contained the genes involved in geraniol biosynthesis in the more recent wild species of roses (Conart et al. 2022). Since this discovery, *NUDX1* genes have been found to be involved in terpene biosynthesis in other plants. For example, in *Tanacetum cinerariifolium*, a plastidial Nudix hydrolase catalyzes the formation of chrysanthemol which is the precursor of pyrethrins (Li et al. 2020). In *Pelargonium* species, both terpene synthases and nudix hydrolases could be involved in the production of geraniol (Blerot et al. 2018; Bergman et al. 2021). This could be similar to a situation in *R. × damascena*, where (Önder et al. 2021) have cloned a putative geraniol synthase. The Nudix family is thus more implicated in terpene production than it was previously thought (Bessman 2019).

Other key terpenoid compounds in rose essential oil are norisoprenoids, such as β -damascenone, β -damascone, and β -ionone, which are derived from carotenoid degradation. Ionones have a low concentration in petals but it is enough to give a violet note to the scent. Their odor thresholds are very low, which explains their importance in the olfactory characteristics of rose essential oil. However, β -damascenone and β -damascone are not produced by roses but come from the degradation of norisoprenoid precursors during the distillation of essential oil (Suzuki et al. 2002). Nevertheless, some genes responsible for the cleavage of carotenoids, the carotenoid cleavage (di-) oxygenase (CCD), were isolated from rose tissues and functionally characterized (Figure 5). One particular protein, RdCCD1, which efficiently forms C13-norisoprenoids *in vivo* and is expressed in *R. × damascena* flowers, is probably involved in formation of ionones (Huang et al. 2009).

Conclusions

All these researches on the biosynthesis of rose fragrance will no doubt lead to a better knowledge of rose scent. These investigations will hopefully help rose breeders in their difficult task of breeding, to provide a beautiful, fragrant rose with a long vase life. Understanding the molecular mechanisms that control scent traits may allow the identification of molecular and genetic markers to assist selection. This technique has not been applied to the rose, although it is widely used in animals and crops. Towards this aim, correlating scent volatiles and molecular markers is a powerful tool that has already been used to find QTLs influencing the amounts of rose volatiles compounds (Spiller et al. 2010; Rocchia et al. 2019). These genome-wide association studies will certainly help to study the inheritance of scent in roses, as was already done for other traits (Schulz et al. 2016; Cheng et al. 2021).

Moreover, these studies could also be used to establish a link between fragrance and other parameters of flower quality, such as color and vase life (Smulders et al. 2019). For example, precursors of red to violets pigments (anthocyanins) are also precursors of phenylpropanoids/benzenoid compounds and some yellow to orange pigments (carotenoids) are terpenoids, the degradation of which produces scent compounds (norisoprenoids). This pigment/scent relationship has already been demonstrated in another fragrant flower: the carnation (Zuker et al. 2002). Besides, in roses, the overexpression of the *Arabidopsis* gene *PAP1* that encodes a transcription factor activating the phenylpropanoid pathway led to an enhancement of the production of both phenylpropanoid (color and

scent) and terpenoid (scent) compounds (Ben Zvi et al. 2012). Moreover, a few recent studies have tried to correlate scent and color in rose petals, although no direct link was demonstrated (Feng et al. 2021). The role of phytohormones such as gibberellins in the activation of the different branches of the biosynthesis pathways has also recently been demonstrated (Ravid et al. 2017). In the model plant *Arabidopsis thaliana* L. (Heynh. 1842), key regulators of flower maturation have been recently isolated and have been shown to synchronize petal expansion and volatile terpenoid emission (Liu et al. 2015). Identifying such regulators in roses is an important goal of future research. The breeding of rose cultivars would certainly benefit from a better understanding of the complex relationships between scent and other flower traits, even the vase life trait. Finally, a major challenge for rose research is to understand the subcellular trafficking and secretion of scent. Indeed, the subcellular localization, storage in the cellular compartments, and transport out of the cell of the volatile compounds remain largely unknown (Widhalm et al. 2015).

Acknowledgments

Authors wish to thank Guillaume Beauguey, and Sonja Meilland for discussion on rose cultivars, Valéry Malécot for his advices on rose names, GDR MediatEC (CNRS #3658) for discussion on chemical ecology, and Frédéric Hache (English Department, Saint-Etienne University) for English corrections.

Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the author(s).

Funding

Work on NUDX is granted by French ANR program “Rosascent” [grant number ANR-16-CE20-0024-01 to S.B.]

ORCID

Jean-Claude Caissard  <http://orcid.org/0000-0001-7938-3101>

Sylvie Baudino  <http://orcid.org/0000-0002-3367-172X>

Author contributions

J.C.C and S.B. wrote the paper. I.A., C.C. and S.N.P. made the sampling and GC analyses of Table 1.

References

Azrié, A. 2015. L'épopée de Gilgamesh. Paris: Albin Michel. Spiritualités vivantes.

- Babaei, A, SR Tabaei-Aghdai, M Khosh-Khui, R Omidbaigi, MR Naghavi, GD Esselink, JMS Smulders. 2007. Microsatellite analysis of Damask rose (*Rosa damascena* Mill.) accessions from various regions in Iran reveals multiple genotypes. BMC Plant Biol. 7(1):12. doi:10.1186/1471-2229-7-12.
- Baudino, S, P Hugueney, JC Caissard. 2020. Chapter 12, Evolution of scent genes. In E Pichersky N Dudareva, editors. Biology of plant volatiles. Boca Raton (USA): CRC Presse; pp. 217–234.
- Baydar, NG, H Baydar, T Debener. 2004. Analysis of genetic relationships among *Rosa damascena* plants grown in Turkey by using AFLP and microsatellite markers. J Biotechnol. 111(3):263–267. doi:10.1016/j.jbiotec.2004.04.014.
- Ben Zvi, MM, E Shklarman, T Masci, H Kalev, T Debener, S Shafir, M Ovadis, A Vainstein. 2012. PAP1 transcription factor enhances production of phenylpropanoid and terpenoid scent compounds in rose flowers. New Phytol. 195(2):335–345. doi:10.1111/j.1469-8137.2012.04161.x.
- Bergman, ME, M Bhardwaj, MA Phillips. 2021. Cytosolic geraniol and citronellol biosynthesis require a Nudix hydrolase in rose-scented geranium (*Pelargonium graveolens*). Plant J. 107(2):493–510. doi:10.1111/tj.15304.
- Bessman, MJ. 2019. A cryptic activity in the Nudix hydrolase superfamily. Protein Sci. 28(8):1494–1500. doi:10.1002/pro.3666.
- Bessman, MJ, DN Frick, SF O'Handley. 1996. The MutT Proteins or “Nudix” hydrolases, a family of versatile, widely distributed, “housecleaning” enzymes. J Biol Chem. 271(41):25059–25062. doi:10.1074/jbc.271.41.25059.
- Blerot, B, L Martinelli, C Prunier, D Saint-Marcoux, S Legrand, A Bony, L Sarabère, F Gros, N Boyer, J-C Caissard, et al. 2018. Functional analysis of four terpene synthases in rose-scented pelargonium cultivars (*Pelargonium × hybridum*) and evolution of scent in the *Pelargonium* genus. Front Plant Sci. 9. doi:10.3389/fpls.2018.01435.
- Boachon, B, RR Junker, L Miesch, JE Bassard, R Hofer, R Caillieudeaux, DE Seidel, A Lesot, C Heinrich, JF Ginglinger, et al. 2015. CYP76C1 (Cytochrome P450)-mediated linalool metabolism and the formation of volatile and soluble linalool oxides in Arabidopsis flowers: a strategy for defense against floral antagonists. Plant Cell. 27:2972–2990. doi:10.1105/tpc.15.00399.
- Borda, AM, DG Clark, DJ Huber, BA Welt, TA Nell. 2011. Effects of ethylene on volatile emission and fragrance in cut roses: the relationship between fragrance and vase life. Postharvest Biol Technol. 59(3):245–252. doi:10.1016/j.postharvbio.2010.09.008.
- Bouhlef, C, G Dolhem, X Fernandez, S Antonioti. 2012. Model study of the enzymatic modification of natural extracts: peroxidase-based removal of eugenol from rose essential oil. J Agric Food Chem. 60(4):1052–1058. doi:10.1021/jf205194v.
- Brun, J-P. 1998. Une parfumerie romaine sur le forum de Paestum. Mélanges de l'École française de Rome Antiquité. 110(1):419–472. doi:10.3406/mefr.1998.2032.
- Brun, J-P, X Fernandez. 2015. Parfums antiques. De l'archéologie au chimiste. Milan (Italy): Silvana Editoriale.
- Brun, J-P, N Monteix. 2009. Les parfumeries en Campanie antique. In J-P Brun, editor. Artisanats antiques d'Italie et de Gaule : mélanges offerts à Maria Francesca Buonaiuto. Naples (Italy): Centre Jean Bérard; pp. 115–133.
- Cairns, T. 2000. Modern roses XI, the world encyclopedia of roses. San Diego(USA): Academic press.

- Cairns, T. 2003. Classification. In A Roberts, T Debener S Gudin, editors. Encyclopedia of Rose Science. Amsterdam (The Netherlands): Elsevier; pp. 117–123.
- Champier, S 1512. *Rosa gallica*. <https://catalogue.bnf.fr/ark:/12148/cb372303186>.
- Cheng, B, H Wan, Y Han, C Yu, L Luo, H Pan, Q Zhang. 2021. Identification and QTL analysis of flavonoids and carotenoids in tetraploid roses based on an ultra-high-density genetic map. *Front Plant Sci* 12. 12. doi:10.3389/fpls.2021.682305.
- Chen, X-M, H Kobayashi, M Sakai, H Hirata, T Asai, T Ohnishi, S Baldermann, N Watanabe. 2011b. Functional characterization of rose phenylacetaldehyde reductase (PAR), an enzyme involved in the biosynthesis of the scent compound 2-phenylethanol. *J Plant Physiol*. 168(2):88–95. doi:10.1016/j.jplph.2010.06.011.
- Chen, F, D Tholl, J Bohlmann, E Pichersky. 2011a. The family of terpene synthases in plants: a mid-size family of genes for specialized metabolism that is highly diversified throughout the kingdom. *Plant J*. 66(1):212–229. doi:10.1111/j.1365-3113.2011.04520.x.
- Cocoual, M. 2016. La famille Chiris : des industriels en politique, une politique d'industriels? *Cahiers de la Méditerranée*. 92(92):177–191. doi:10.4000/cdlm.8359.
- Conart, C, N Saclier, F Foucher, C Goubert, A Rius-Bony, SN Paramita, S Moja, T Houroude, C Douady, P Sun, et al. 2022. Duplication and specialization of *NUDX1* in *Rosaceae* led to geraniol production in rose petals. *Mol Biol Evol*. 39(2):msac002. doi:10.1093/molbev/msac002.
- Feng, D, H Zhang, X Qiu, H Jian, Q Wang, N Zhou, Y Ye, J Lu, H Yan, K Tang. 2021. Comparative transcriptomic and metabolomic analysis revealed the relationships between biosynthesis of volatiles and flavonoid metabolites in *Rosa rugosa*. *Ornamental Plant Res*. 1(1):1–10. doi:10.48130/OPR-2021-0005.
- Fernandez, X, C Lévassieur. 2013. Reconstitution de parfums antiques. *Techniques de l'Ingénieur RE 221*. doi:10.51257/a-v1-re221.
- Guterman, I, T Masci, X Chen, F Negre, E Pichersky, N Dudareva, D Weiss, A Vainstein. 2006. Generation of phenylpropanoid pathway-derived volatiles in transgenic plants: rose alcohol acetyltransferase produces phenylethyl acetate and benzyl acetate in petunia flowers. *Plant Mol Biol*. 60(4):555–563. doi:10.1007/s11103-005-4924-x.
- Guterman, I, M Shalit, N Menda, D Piestun, M Dafny-Yelin, G Shalev, E Bar, O Davydov, M Ovadis, M Emanuel, et al. 2002. Rose scent: genomics approach to discovering novel floral fragrance-related genes. *Plant Cell*. 14 (10):2325–2338. doi:10.1105/tpc.005207.
- Hemmerlin, A, JL Harwood, TJ Bach. 2012. A raison d'être for two distinct pathways in the early steps of plant isoprenoid biosynthesis? *Prog Lipid Res*. 51(2):95–148. doi:10.1016/j.plipres.2011.12.001.
- Henry, LK, M Gutensohn, ST Thomas, JP Noel, N Dudareva. 2015. Orthologs of the archaeal isopentenyl phosphate kinase regulate terpenoid production in plants. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 112(32):10050–10055. doi:10.1073/pnas.1504798112.
- Henry, LK, ST Thomas, JR Widhalm, JH Lynch, TC Davis, SA Kessler, J Bohlmann, JP Noel, N Dudareva. 2018. Contribution of isopentenyl phosphate to plant terpenoid metabolism. *Nat Plants*. 4(9):721–729. doi:10.1038/s41477-018-0220-z.
- Hirata, H, T Ohnishi, H Ishida, K Tomida, M Sakai, M Hara, N Watanabe. 2012. Functional characterization of aromatic amino acid aminotransferase involved in 2-phenylethanol biosynthesis in isolated rose petal protoplasts. *J Plant Physiol*. 169(5):444–451. doi:10.1016/j.jplph.2011.12.005.
- Hirata, H, T Ohnishi, K Tomida, H Ishida, M Kanda, M Sakai, J Yoshimura, H Suzuki, T Ishikawa, H Dohra, et al. 2016. Seasonal induction of alternative principal pathway for rose flower scent. *Sci Rep*. 6(1):20234. doi:10.1038/srep20234.
- Huang, F-C, G Horvath, P Molnár, E Turcsi, J Deli, J Schrader, G Sandmann, H Schmidt, W Schwab. 2009. Substrate promiscuity of RdCCD1, a carotenoid cleavage oxygenase from *Rosa damascena*. *Phytochemistry*. 70 (4):457–464. doi:10.1016/j.phytochem.2009.01.020.
- Iwata, H, T Kato, S Ohno. 2000. Triparental origin of Damask roses. *Gene*. 259(1–2):53–59. doi:10.1016/S0378-1119(00)00487-X.
- Jean, C. 1937. Statistiques Agricoles de la France, Annexe à l'Enquête de 1929. Monographie Agricole du Département des Alpes-Maritimes.
- Joyaux, F. 1998. La rose de France. Paris (France): Imprimerie nationale.
- Joyaux, F. 2005. Nouvelle encyclopédie des roses anciennes. Rozzano, Italie: Eugen Ulmer.
- Kaminaga, Y, J Schnepp, G Peel, CM Kish, G Ben-Nissan, D Weiss, I Orlova, O Lavie, D Rhodes, K Wood, et al. 2006. Plant phenylacetaldehyde synthase is a bifunctional homotetrameric enzyme that catalyzes phenylalanine decarboxylation and oxidation. *J Biol Chem*. 281 (33):23357–23366. doi:10.1074/jbc.M602708200.
- Knudsen, JT, R Eriksson, J Gershenzon, B Ståhl. 2006. Diversity and distribution of floral scent. *Bot Rev*. 72 (1):1–120. doi:10.1663/0006-8101(2006)72[1:DADOF5]2.0.CO;2.
- Koeduka, T. 2014. The phenylpropane synthase pathway and its applications in the engineering of volatile phenylpropanoids in plants. *Plant Biotechnol*. 31(5):401–407. doi:10.5511/plantbiotechnology.14.0801a.
- Kraszewska, E. 2008. The plant Nudix hydrolase family. *Acta Biochim Pol*. 55(4):663–671. doi:10.18388/abp.2008_3025.
- Krüssmann, G. 1981. The complete book of roses. Portland (USA): Timber press.
- Lavid, N, J Wang, M Shalit, I Guterman, E Bar, T Beuerle, N Menda, S Shafir, D Zamir, Z Adam, et al. 2002. O-methyltransferases involved in the biosynthesis of volatile phenolic derivatives in rose petals. *Plant Physiol*. 129(4):1899–1907. doi:10.1104/pp.005330.
- Leus, L, K Van Laere, J De Riek, J Van Huylenbroeck. 2018. Rose. In J Van Huylenbroeck, editor. Ornamental crops. Berlin (Germany): Springer; pp. 719–767.
- Li, W, DB Lybrand, H Xu, F Zhou, RL Last, E Pichersky. 2020. A trichome-specific, plastid-localized *Tanacetum cinerariifolium* Nudix protein hydrolyzes the natural pyrethrin pesticide biosynthetic intermediate *trans*-Chrysanthemyl Diphosphate. *Front Plant Sci*. 11:482. doi:10.3389/fpls.2020.00482.
- Liorzou, M, A Pernet, S Li, A Chastellier, T Houroude, G Michel, V Malécot, S Gaillard, C Briée, F Foucher, et al. 2016. Nineteenth century French rose (*Rosa* sp.) germplasm shows a shift over time from a European to an Asian genetic background. *J Exp Bot*. 67(15):4711–4725. doi:10.1093/jxb/erw269.
- Liu, Z, B Boachon, R Lugan, R Tavares, M Erhardt, J Mutterer, V Demais, S Pateyron, V Brunaud, T Ohnishi, et al. 2015. A conserved cytochrome P450 evolved in seed plants regulates flower maturation. *Mol Plant*. 8(12):1751–1765. doi:10.1016/j.molp.2015.09.002.

- Magnard, J-L, AR Bony, F Bettini, A Campanaro, B Blerot, S Baudino, F Jullien. 2018. Linalool and linalool nerolidol syntheses in roses, several genes for little scent. *Plant Physiol Biochem.* 127:74–87. doi:10.1016/j.plaphy.2018.03.009.
- Magnard, J-L, A Rocchia, J-C Caissard, P Vergne, P Sun, R Hecquet, A Dubois, L Hibrand-Saint Oyant, F Jullien, F Nicolè, et al. 2015. Biosynthesis of monoterpene scent compounds in roses. *Science.* 349(6243):81–83. doi:10.1126/science.aab0696.
- Maki, H, M Sekiguchi. 1992. MutT protein specifically hydrolyses a potent mutagenic substrate for DNA synthesis. *Nature.* 355(6357):273–275. doi:10.1038/355273a0.
- Marko, NV, LA Khlypenko, YV Plugatar. 2020. Aromatic rose cultivars in the collection of the Nikitsky Botanical Gardens. *Acta Hort.* 1287(1287):6. doi:10.17660/ActaHortic.2020.1287.6.
- Maumenè, A. 1935. Voici des roses rosiers roseaies. *Vie à la campagne.* 91:58.
- Nicol, J-P. 1996. Le train des roses (1872-1953). *Courrier de l'Environnement de l'INRA.* 28:35–42.
- Oghina-Pavie, C. 2015. Rose and pear breeding in nineteenth-century France: the practice and science of diversity. In D Phillips E Kingsland, editors. *New Perspectives on the History of Life Sciences and Agriculture.* Berlin (Germany): Springer; pp. 57–77.
- Oghina-Pavie, C. 2016. Représentations de la diversité des rosiers au XIXe siècle. *Bulletin d'histoire et d'épistémologie des sciences de la vie.* 23(2):153–171. doi:10.3917/bhesv.232.0153.
- Ohloff, G. 1978. Importance of minor components in flavors and fragrance. *Perfum Flavor.* 3:11–22.
- Önder, DG, S Önder, Y Karakurt. 2021. Identification and molecular characterization of geraniol and linalool synthase genes related to monoterpene biosynthesis in Damask rose (*Rosa damascena* Mill.), several genes for little scent. *J Essent Oil-Bear Plants.* 24(4):910–924. doi:10.1080/0972060X.2021.1977721.
- Ravid, J, B Spitzer-Rimon, Y Takebayashi, M Seo, A Cna'Ani, J Aravena-Calvo, T Masci, M Farhi, A Vainstein. 2017. GA as a regulatory link between the showy floral traits color and scent. *New Phytol.* 215 (1):411–422. doi:10.1111/nph.14504.
- Rehder, A. 1940. *Manual of cultivated trees and shrubs hardy in north America.* 2nd ed. New-York (USA): Macmillan.
- Rocchia, A, L Hibrand-Saint Oyant, E Cavel, J-C Caissard, J Machenaud, T Thouroude, J Jeauffre, A Bony, A Dubois, P Vergne, et al. 2019. Biosynthesis of 2-phenylethanol in rose petals is linked to the expression of one allele of RhPAAS. *Plant Physiol.* 179 (3):1064–1079. doi:10.1104/pp.18.01468.
- Rodriguez-Concepcion, M, A Boronat. 2002. Elucidation of the Methylerythritol Phosphate pathway for isoprenoid biosynthesis in bacteria and plastids. A metabolic milestone achieved through genomics. *Plant Physiol.* 130 (3):1079–1089. doi:10.1104/pp.007138.
- Rolet, A 1918. *Plantes à parfums et plantes aromatiques.* In: G., W., editor. *Encyclopédie Agricole.* Paris (France): Baillièrre et Fils; pp. 134–170.
- Roques, D 2021. *Cueilleur d'essences : aux sources des parfums du monde.* Paris (France): Grasset.
- Rusanov, K, N Kovacheva, K Stefanova, A Atanassov, I Atanassov. 2009. *Rosa Damascena* —genetic Resources and Capacity Building for Molecular Breeding. *Biotechnol Biotechnol Eq.* 23(4):1436–1439. doi:10.2478/V10133-009-0009-3.
- Rusanov, K, N Kovacheva, VBL Zhang, S Rajapakse, A Atanassov, I Atanassov. 2005. Microsatellite analysis of *Rosa damascena* Mill. Accessions reveals genetic similarity between genotypes used for rose oil production and old Damask rose varieties. *Theor Appl Genet.* 111 (4):804–809. doi:10.1007/s00122-005-2066-9.
- Scalliet, G, N Journot, F Jullien, S Baudino, J-L Magnard, S Channelière, P Vergne, C Dumas, M Bendahmane, JM Cock, et al. 2002. Biosynthesis of the major scent components 3,5-dimethoxytoluene and 1,3,5-trimethoxybenzene by novel rose *O*-methyltransferases. *FEBS Lett.* 523(1–3):113–118. doi:10.1016/S0014-5793(02)02956-3.
- Scalliet, G, C Lionnet, M Le Behec, L Dutron, J-L Magnard, S Baudino, V Bergougnoux, F Jullien, P Chambrier, P Vergne, et al. 2006. Role of petal-specific orcinol *O*-methyltransferases in the evolution of rose scent. *Plant Physiol.* 140(1):18–29. doi:10.1104/pp.105.070961.
- Scalliet, G, F Piola, CJ Douady, S Rety, O Raymond, S Baudino, K Bordji, M Bendahmane, C Dumas, JM Cock, et al. 2008. From the Cover: scent evolution in Chinese roses. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 105 (15):5927–5932. doi:10.1073/pnas.0711551105.
- Schulz, D, M Linde, T Debener. 2021. Detection of reproducible major effect QTL for petal traits in garden roses. *Plants.* 10(5):897. doi:10.3390/plants10050897.
- Schulz, DF, RT Schott, RE Voorrips, MJM Smulders, M Linde, T Debener. 2016. Genome-Wide Association analysis of the anthocyanin and carotenoid contents of rose petals. *Front Plant Sci.* 7:1798. doi:10.3389/fpls.2016.01798.
- Shalit, M, I Guterman, H Volpin, E Bar, T Tamari, N Menda, Z Adam, D Zamir, A Vainstein, D Weiss, et al. 2003. Volatile ester formation in roses. Identification of an acetyl-coenzyme A. Geraniol/ Citronellol acetyltransferase in developing rose petals. *Plant Physiol.* 131(4):1868–1876. doi:10.1104/pp.102.018572.
- Smulders, MJM, P Arens, PM Bourke, T Debener, M Linde, J Riek, L Leus, T Ruttink, S Baudino, L Hibrand Saint- Oyant, et al. 2019. In the name of the rose: a roadmap for rose research in the genome era. *Hortic Res.* 6(1):65. doi:10.1038/s41438-019-0156-0.
- Smulders, MJM, P Arens, CFS Koning-Boucoiran, VW Gitonga, FA Krens, A Atanassov, I Atanassov, KE Rusanov, M Bendahmane, A Dubois, et al. 2011. Chapter 12, *Rosa*. In C Kole, editor. *Wild Crop Relatives: genomic and Breeding Resources.* Berlin (Germany): Springer; pp. 243–275.
- Spiller, M, RG Berger, T Debener. 2010. Genetic dissection of scent metabolic profiles in diploid rose populations. *Theor Appl Genet.* 120(7):1461–1471. doi:10.1007/s00122-010-1268-y.
- Srouji, JR, A Xu, A Park, JF Kirsch, SE Brenner. 2017. The evolution of function within the Nudix homology clan. *Proteins.* 85(5):775–811. doi:10.1002/prot.25223.
- Sun, P, C Dégut, S Réty, J-C Caissard, L Hibrand-Saint Oyant, A Bony, SN Paramita, C Conart, J-L Magnard, J Jeauffre, et al. 2020. Functional diversification in the Nudix hydrolase gene family drives sesquiterpene biosynthesis in *Rosa* × *wichurana*. *Plant J.* 104(1):185–199. doi:10.1111/tjp.14916.
- Sun, P, RC Schuurink, J-C Caissard, P Huguene, S Baudino. 2016. My Way: noncanonical biosynthesis pathways for plant volatiles. *Trends Plant Sci.* 21 (10):884–894. doi:10.1016/j.tplants.2016.07.007.
- Suzuki, M, S Matsumoto, M Mizoguchi, S Hirata, K Takagi, I Hashimoto, Y Yamano, M Ito, P Fleischmann, P Winterhalter, et al. 2002. Identification of (3 S 9 R)- and (3 S 9 S)-Megastigma-6,7-dien-3,5,9-triol 9- O -β- D -

- glucopyranosides as Damascenone Progenitors in the. *Biosci Biotechnol Biochem.* 66(12):2692–2697. doi:[10.1271/bbb.66.2692](https://doi.org/10.1271/bbb.66.2692).
- Tholl, D. 2015. Biosynthesis and biological functions of terpenoids in plants. In J Schrader J Bohlmann, editors. *Biotechnology of isoprenoids*. Berlin (Germany): Springer; pp. 63–106.
- Touw, M. 1982. Roses in the Middle Ages. *Econ Bot.* 36 (1):71–83. doi:[10.1007/BF02858701](https://doi.org/10.1007/BF02858701).
- Verma, A, R Srivastava, PK Sonar, R Yadav. 2020. Traditional, phytochemical, and biological aspects of *Rosa alba* L.: a systematic review. *Future J Pharm Sci.* 6 (1):114. doi:[10.1186/s43094-020-00132-z](https://doi.org/10.1186/s43094-020-00132-z).
- Wang, G. 2007. A study on the history of Chinese roses from ancient works and images. *Acta Hort.* 751 (751):347–356. doi:[10.17660/ActaHortic.2007.751.44](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2007.751.44).
- Widhalm, JR, N Dudareva. 2015. A familiar ring to it: biosynthesis of plant benzoic acids. *Mol Plant.* 8 (1):83–97. doi:[10.1016/j.molp.2014.12.001](https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.12.001).
- Widhalm, JR, R Jaini, JA Morgan, N Dudareva. 2015. Rethinking how volatiles are released from plant cells. *Trends Plant Sci.* 20(9):545–550. doi:[10.1016/j.tplants.2015.06.009](https://doi.org/10.1016/j.tplants.2015.06.009).
- Widrechner, MP. 1981. History and utilization of *Rosa damascena*. *Econ Bot.* 35(1):42–58. doi:[10.1007/BF02859214](https://doi.org/10.1007/BF02859214).
- Wu, S, N Watanabe, S Mita, Y Ueda, M Shibuya, Y Ebizuka. 2003. Two *O*-methyltransferases isolated from flower petals of *Rosa chinensis* var. *spontanea* involved in scent biosynthesis. *J Biosci Bioeng.* 96(2):119–128. doi:[10.1016/S1389-1723\(03\)90113-7](https://doi.org/10.1016/S1389-1723(03)90113-7).
- Yan, H, S Baudino, J-C Caissard, F Nicolè, H Zhang, K Tang, S Li, S Lu. 2018. Functional characterization of the eugenol synthase gene (*RcEGS1*) in rose. *Plant Physiol Biochem.* 129:21–26. doi:[10.1016/j.plaphy.2018.05.015](https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.05.015).
- Yan, H, S Baudino, JC Caissard, H Zhang, H Jian, Q Wang, X Qiu, T Zhang, K Tang. 2012. Cloning and expression analysis of eugenol synthase gene (*RhEGS1*) in cut rose (*Rosa hybrida*). *Scientia Agricultura sinica.* 45:590–597.
- Yoshimura, K, T Ogawa, Y Ueda, S Shigeoka. 2007. *AtNUDX1*, an 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine 5'-triphosphate pyrophosphohydrolase, is responsible for eliminating oxidized nucleotides in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol.* 48(10):1438–1449. doi:[10.1093/pcp/pcm112](https://doi.org/10.1093/pcp/pcm112).
- Young, MA, P Schorr. 2007. Modern rose 12: the comprehensive list of roses in cultivation or of historical or botanical importance. M Young editor. Shreveport (USA): American Rose Society.
- Zuker, A, T Tzfira, H Ben-Meir, M Ovadis, E Shklarman, H Itzhaki, G Forkmann, S Martens, I Neta-Sharir, D Weiss, et al. 2002. Modification of flower color and fragrance by antisense suppression of the flavanone 3-hydroxylase gene. *Mol Breed.* 9(1):33–41. doi:[10.1023/A:1019204531262](https://doi.org/10.1023/A:1019204531262).

Résultats

Etude 1: Why do we like so much the smell of roses: relationship between odorant compounds and olfactory hedonics

Why do we like so much the smell of roses: relationship between odorant compounds and olfactory hedonics

Inès Adrar^{1,2}, Marylou Mantel³, Aurélie Bony², Marc Thévenet¹, Benoît Boachon², Jules Dejou¹, Jean-Claude Caissard², Moustafa Bensafi¹, Sylvie Baudino^{2#}, Nathalie Mandairon^{1#}

¹Lyon Neuroscience Research Center, Neurobiology and Plasticity of Olfactory Perception Team, University Lyon1, Inserm U1028 - CNRS UMR5292, Lyon, France

²Université Jean Monnet Saint-Etienne, CNRS, LBVpam UMR 5079, F-42023, SAINT-ETIENNE, FRANCE

³Laboratory for the Study of Cognitive Mechanisms, Institute of Psychology, University Lyon 2, Bron, France

equally contributed

Abstract

The rose fragrance is known to be very pleasant and attractive to humans, it may be one reason why the rose is the most widely cultivated ornamental plants in the world and this since millenniums. This raises the question of which volatile organic compounds (VOCs) emitted by the flowers are involved in rose odor-induced pleasantness. To answer this question, we invited human participants to smell and rate perceptual characteristics of ten freshly picked modern roses. In parallel, the VOCs emitted by the roses were captured by headspace and quantified by gas chromatography coupled with mass spectrometry. First, we found that the ten roses had different levels of pleasantness and of typical rose perception as well as different emitted VOCs. Then, we investigated the relationship between VOCs and perceptual rating of roses and found that two categories of VOCs were positively correlated with the perception of rose, the ionones and the oxylipins. Interestingly, only the oxylipins were specific to the rose scent (and not to flower scent in general) and positively correlated to the pleasantness. Oxylipins are part of the large family of green odors whose impact on stress and anxiety has been highlighted. We further explored within the oxylipin category, which molecules could be responsible for the perception of both rosy quality and pleasantness, and found that hexanal, (*E*)-2-hexenol, 1-hexanol and hexyl acetate were correlated to these two perceptual properties. These results propose, in a surprising way, a role of the oxylipins in the hedonic aspect of rose scents. Thus, the attraction of humans to roses could be explained by the non-conscious perception of this unique mixture of compounds with both a positive hedonic value and beneficial effect on the well-being.

Introduction

Roses are widely known for their very pleasant smell, color and shape, so much that they are praised in poems, books, music and art. Roses have been present in human history for thousands of years, with the first representation of rose in 1800-800 BCE (Caissard & Baudino, 2018). Their scent is so appreciated that it is used to odorize our outdoor environment (gardens), indoor environment (house), our beauty products in cosmetics and ourselves with perfumes. In other words, the rose has been cultivated for thousands of years because it is highly appreciated by humans.

Rosa is a genus belonging to the *Rosaceae* family, comprising about 150 wild species and nearly 30,000 modern varieties. Among these varieties, there is a lot of diversity, in terms of color and shape but also scent. Some varieties have little to no smell, and some have a strong fragrance. What accounts for the difference in smell between roses is the diversity of volatile odorant compounds (VOCs) emitted (Guterman et al., 2002; Ibrahim et al., 2017). Hundreds of VOCs are emitted by rose (Ren et al., 2016; Rusanov et al., 2011; Zhou, Yu, Cheng, Han, et al., 2020). Although the varieties of roses differ depending on their fragrance and thus their composition of VOCs, the most recurrent ones are monoterpenes, sesquiterpenes, 2-phenylethanol and derivatives (phenylpropanoids-related compounds) and fatty acid derivatives or oxylipins (Muhlemann et al., 2014; Ren et al., 2016). Other compounds with a very low olfactory detection threshold, apocarotenoids (ionones), are very popular among perfumers. Some of these compounds, such as damascenone, are not emitted by the rose but are produced during distillation of the essential oil. Among VOCs described as contributing to the typical rose scent, 2-phenylethanol, geraniol, β -citronellol and nerol are the most frequently cited (Feng et al., 2010; Héthelyi et al., 2010; Mannschreck & von Angerer, 2011; Ren et al., 2016, 2016; Sood et al., 1992; Zhao et al., 2016). They are also used to re-create the rose smell (Weiss et al., 2012). These monomolecular odorants are often rated as pleasant (Chalençon et al., 2022; Ferdenzi et al., 2019; Joussain et al., 2013; Ma et al., 2021; Rolls et al., 2003; Sezille et al., 2014), which is also true for the rose smell (David et al., 2019; Dmitrenko et al., 2020; Jirovetz et al., 2005). In addition of being attractive, rose smell has an effect on emotional state. Indeed, many studies using mainly rose essential oil reported positive effects on mood with increased happiness, decreased stress, anxiolytic or anti-conflict effects as well as improvement of the symptoms of depression (Abbasijahromi et al., 2020; Bradley et al., 2007; David et al., 2019; de Almeida et al., 2004; Dehkordi et al., 2017; Farnia et al., 2015; Sakinoğlu Oruç et al., 2017; Umezu et al., 2002). These effects are associated with a decrease of salivary cortisol and changes in neural activity in brain areas involved in emotional and motivational behaviors (David et al., 2019; Farnia et al., 2015). Interestingly, none of these studies used fresh roses and investigated the link between the molecules emitted by the rose and the behavioral effect.

In this context, we set up a study to examine the relationship between the olfactory hedonic perception and the compounds emitted by fresh roses. To do so, we selected ten modern roses that

were picked in their blooming stage and in the morning when their smell is the strongest (Altenburger & Matile, 1990; Guterman et al., 2002; Picone et al., 2004). Participants were asked to evaluate blindly odorants using psychophysical tools. Visual analogue scales were used to rate olfactory perception (Attia & Hamdan, 2021; Ayabe-Kanamura et al., 1998; Ferdenzi et al., 2013; Hamakawa & Okamoto, 2018; Ruser et al., 2021; Zarzo, 2008) and more particularly odor pleasantness (liking), attractivity (wanting), familiarity and intensity. In addition, the fruity, lemony, floral and rosy notes were questioned. As a complementary approach, we also used a non-verbal and non-invasive method introduced by Chalençon et al, 2022, which consists in the evaluation of olfactory hedonics in humans based on the assessment of odor-motivated behavior (FitzGerald et al., 2014; Midroit et al., 2021; Wesson & Wilson, 2011). Then, we analyzed the VOCs emitted by roses with headspace method coupled to GC-MS and investigated with correlation analyses the relationship between the olfactory perception of roses and their emitted VOCs.

Materials and Methods

Odor evaluation by humans

Participants

Experiments were done following procedures in accordance with the ethical guidelines of the Declaration of Helsinki and the French National Ethics Committee (CPP). Twenty participants from Lyon area in France were tested at the Lyon Neuroscience Research Center. Their olfactory performances were checked using the identification part of the European Test of Olfactory Capabilities (ETOC) (Joussain et al., 2016). Ten men and ten women between the ages of 18 and 35 years (mean age: 24 +/- 4 years old) who did not present any asthma, odor allergies or olfactory impairment were included. Only one participant was excluded because he assessed only two flowers out of ten (n=19). Participants received financial compensation for the experiment and provided written informed consent prior to participation.

Plant material

Ten rose cultivars, Belle de Clermont (BC), Botéro (BO), Brocéliande (BR), Christophe Colomb (CC), Felicia (FE), Jean-Paul Guerlain (JP), Orientalia (OR), Roberto Alagna (RA), Violette Parfumée (VP) and Westerland (WE), were used in olfactory experiment and for GC-MS analyses (**Table 1**). Roses were cultivated and harvested in the international rose garden of the *Parc de la Tête d'Or* in Lyon. All roses were picked on the morning of the experiment except once for one rose, Violette Parfumée that was kept one time overnight in a cold room due to the lack of fresh flower available the morning of the experiment. Roses were chosen for their diversity of scent, as judged by the olfactory descriptions found in catalogues and sites of breeders (**Table 1**).

Résultats Etude 1

Odorants

Participants were asked to smell and rate ten opaque flasks, which contained the ten freshly picked roses (**Table 1**). All roses were dipped in a water-soaked floral foam directly placed in the opaque flasks. All flasks were covered by a piece of polypropylene held by a rubber band (deprived of its odor using a 70% alcohol bath) so that participants had no visual access to the content of the flask.

Table 1 – List of variety, breeder, scent description, nationality and year of breed of roses used for the experiment (from the Help me find website: <https://www.helpmefind.com/gardening/roses.php>).

Variety	Breeder	Scent description (Help me find)	Nationality	Year of breed
Belle de Clermont (BC)	André Eve	Strong fragrance	France	2009
Botero (BO)	Meilland	Strong, damask, old rose, raspberry fragrance	France	1999
Brocéliande (BR)	Adam	Strong fragrance	France	1997
Christophe Colomb (CC)	Meilland	Mild to strong fragrance	France	1992
Felicia (FE)	Pemberton	Strong, sweet fragrance	UK	1926
Jean-Paul Guerlain (JP)	Gaujard	Strong fragrance	France	2005
Orientalia (OR)	Carruth	Strong, fruity, spice fragrance	USA	2005
Roberto Alagna (RA)	Adam/NIRP	Strong apricot or peach, citrus, rose fragrance	France	1994
Violette Parfumée (VP)	Dorieux	Strong, clove, damask, lemon, old rose fragrance	France	1992
Westerland (WE)	Kordes	Strong, clove, rose, spice fragrance	Allemagne	1969

In addition, in order to increase the variety in terms of olfactory stimuli, participants were also asked to smell nine monomolecular odorants of various qualities. The monomolecular odorants were presented in similar opaque flasks, and randomly presented among the flasks containing the roses : four monomolecular odorants that are present into the composition of the typical rose smell: Geraniol (GER), 2-phenylethanol (PEA), nerol (NER), (+/-)- β -citronellol (CITRO) (Jirovets et al., 2005; Weiss et al., 2012) and five monomolecular odorants known to be pleasant: citral (CITRAL), benzaldehyde (BEN), L-carvone (CAR), isoamyl acetate (ISO) and (Z)-3-hexenol (CIS) (Sezille et al., 2014; Fournel et al., 2016; Chalençon et al., 2022) (**Table 2**). These monomolecular odorants (Sigma Aldrich) were diluted in mineral oil at different concentrations to achieve 1 Pa to obtain similar perceived intensity. Samples were deposited on pieces of polypropylene (1 mL; 3 cm x 8 cm) inserted on the opaque flask (250 mL).

Table 2 – List of monomolecular odorant names (and abbreviation), scent description (from The Good Scent Company website: <http://www.thegoodscentscompany.com/>), purities, CAS numbers and concentrations used for the experiment.

Odorant	Scent description (The Good Scent Company)	Purity	CAS Number	Concentration
2-phenylethanol (PEA)	Floral rose dried rose flower rose water	>99%	60-12-8	2.66%
Geraniol (GER)	Sweet floral fruity rose waxy citrus	98%	106-24-1	11.29%
Nerol (NER)	Sweet natural neroli citrus magnolia	>97%	106-25-2	1.93%
(+/-)- β -citronellol (CITRO)	Floral leather waxy rose bud citrus	95%	106-22-9	17.85%
Citral (CITRAL)	Sharp lemon sweet	95%	5392-40-5	3.62%
Benzaldehyde (BEN)	Strong sharp sweet bitter almond cherry	99.5%	100-52-7	1.54%
L-carvone (CAR)	Sweet spearmint herbal minty	96%	6485-40-1	1.93%
Isoamyl acetate (ISO)	Sweet fruity banana solvent	95%	132-92-2	0.03%
(Z)-3-hexenol (CIS)	Fresh green cut grass foliage vegetable herbal oily	98%	928-96-1	0.24%

Perceptual rating and odor-motivated behavior assessment

Participants were asked to sit about 30 cm away from a computer screen and to maintain their position (**Fig. 1**). The 19 flasks containing the ten roses and the nine monomolecular odorants were placed in front of them. Then, 5-second of instructions scrolled on the screen: "Please smell the scented flask in front of you - Be sure to respect the order of presentation" and then, the following instructions indicated to participants when to smell the next flask. These instructions were presented before each new trial. Participants were allowed to freely smell each odorant for 1 min and had to evaluate it using a visual analogue scale (VAS) from 0 to 10 with a neutral point at 5. Graduation was not visible and participant had to place a cursor on the scale. Participants had to rate pleasantness ("Rate the pleasantness/unpleasantness of the smell: from very unpleasant to very pleasant"), intensity ("Rate the intensity of the smell: from not at all to very"), familiarity ("Rate the familiarity of the smell: from not at all to very"), attractivity ("How much do you want to experience the smell again: to not at all to very"), fruity smell ("How much do you smell fruit?: from not at all to a lot"), smell of lemon ("How much do you smell lemon?: from not at all to a lot"), smell of flower ("How much do you smell flower?: from not at all to a lot") and smell of rose ("How much do you smell rose?: from not at all to a lot") (**Fig. 1**). At the end of the experiment, an additional questionnaire was completed by the participants with the following question: "What does the smell of roses make you think of?". Answers were then categorized into several descriptors according to those used by Mantel and collaborators (Mantel et al., 2022): impact (i.e. emotional effect on the participant), memory (i.e. specific recollection reported by the participant) and source (i.e. if the participant refers to cosmetic products, flowers, food, location or people).

Participants were informed that they were filmed with a webcam (Logitech C920) from the side during odor exploration and rating. Videos were recorded in AVI file format with jpeg codec using Volcan software developed under LabVIEW (National Instruments) (Chalençon et al., 2022; Richard et al., 2017). The order of presentation of the flasks was indicated by a list given to each participant and random between participants. Video tracking analysis and calibration were performed using Volcan (A2Vmodule) software (Chalençon et.al, 2022). Trajectories between the flasks and the participant's nose were calculated for each participant and trial and the following parameters were assessed: the smell duration of the first sniff, the minimal distance between the tip of the participant's nose and the flask, the distance of withdrawal of the flask, the speed of approach and speed of withdraw between the tip of the participant's nose and the flask for each odorant. The above-mentioned parameters were measured only on the first sampling to avoid expectation or memory influences. In addition, we measured the number of sniffs for the entire duration of the trial for each odorant and participant. We

considered an approach behavior when the participant brought the flask within 5 cm of its nose (Chalençon et al., 2022).



Fig. 1 – Olfactory evaluation task. A. Material, example of the flower and opaque flask. B. Rating task and video recording view.

Biochemical analysis of roses

Volatile organic compounds

Between three and six biological replicas of each variety were cut by keeping 3 cm of flower stalk, dipped into a beaker with a capacity of 50 mL of water and then deposited in 1 L glass vacuum jars with an inlet and outlet for 1 hour (**Fig. 2**). During this hour, 30 mg Porapak Q cartridges (80–100 mesh, Grace scientific) trapped the VOCs emitted by the flowers with a vacuum pump ($\sim 100 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$) (Boachon et al., 2019). The cartridges were eluted with 200 mL of a solution of Hexane-Camphor (50 mM) solvent into GC-MS compatible glass vials. Camphor was used as internal standard.



Fig. 2 – Headspace system used for the extraction of rose

GC-MS analysis

Samples were analyzed at the Plant Biotechnology applied to Aromatic and Medicinal Plants Laboratory, Saint Etienne, France, on an Agilent 6850 Network GC system coupled with a 7683B series injector and 5973 Network mass selective detector (all components from Agilent Technologies, Santa Clara, USA) as already described (Boachon et al., 2019; Conart et al., 2022). Briefly, separation was done by using a DB-5 capillary column (30 m, 0.25 mm nominal diameter, 0.25 μm film thickness) with

the following program: an initial temperature of 40 °C for 3 min, a final temperature of 245 °C with a gradient of 3°C.min⁻¹. Then, 2 µL were injected in the column with a 2:1 split ratio for 2 min at 250 °C, a pressure of 6.90 psi, and a split flow of 2.0 mL.min⁻¹. Regarding the parameters for the mass spectrometer detector, the acquisition was from 35 m/z to 450 m/z, at a 70 eV ionisation energy. MassHunter Unknown Analysis Software (Agilent Technologies) or DataAnalysis Software (Agilent Technologies) were used for the data processing. The retention times of VOCs and their electron ionization mass spectra were used for their identification, and were compared to available databases (Wiley 275, NIST08, the laboratory's own database) for their final identification. We analysed the quantity of compounds emitted by the whole flower (µg/H/flower), corresponding to what the participants sampled during the olfactory rating.

Compounds were then divided into 9 categories of VOCs, according to their biosynthesis pathways (monoterpenes, PEA and derivatives, oxylipins, ionones, sesquiterpenes, benzenoids, phenyl methyl ethers, rose oxides, aliphatics) (Dudareva et al., 2013; Schwab et al., 2008). The remaining compounds were grouped into the category “others”. The list of compounds and categories is given in **Table S1**.

Statistical and data analysis

For perceptual rating and behavioral analyses, as data were non-parametric, we conducted Friedman test for multiple analysis and Wilcoxon tests for pairwise comparisons. For the correlations between rating parameters, we conducted Spearman correlations because of the non-validity of all the parametric tests' criteria. Pearson correlations were performed between rating parameters and the total amount of VOCs. For the correlations between categories of VOCs and isolated ones with rating parameters, we conducted Spearman correlations in a concern of homogeneity of the analysis.

To analyze the answers for the additional questionnaire “What does the smell of roses make you think of?”, we categorized the participant answers according to 3 different references: positive emotional impact of the rose odor (i.e. “It makes me think of sweetness”, “of a pleasant, soft and calming smell”), the source of the rose odor (i.e. “it makes me think of a garden”) and the memory recall it induces (i.e. “it make me think of my grand-mother”). All the statistical analyses were performed with R software (R Core Team 2015, version 3.5.0). The level of significance was set to $\alpha = 0.05$.

Results

The perception of monomolecular odorants

We first analysed monomolecular odorants' rating. Using Friedman tests, we found that odorants were perceived significantly different in term of rose ($F_{19,8} = 21.808$, $p = 0.005$), pleasantness ($F_{19,8} = 31.705$, $p = 0.0001$), flower ($F_{19,8} = 23.108$, $p = 0.003$), attractivity ($F_{19,8} = 25.15$, $p = 0.001$), intensity ($F_{19,8} =$

54.954, $p = 4.508e-09$), familiarity ($F_{19,8} = 21.195$, $p = 0.006$), fruit ($F_{19,8} = 48.536$, $p = 7.803e-08$), and lemon ($F_{19,8} = 59.856$, $p = 4.974e-10$) (**Fig. 3**).

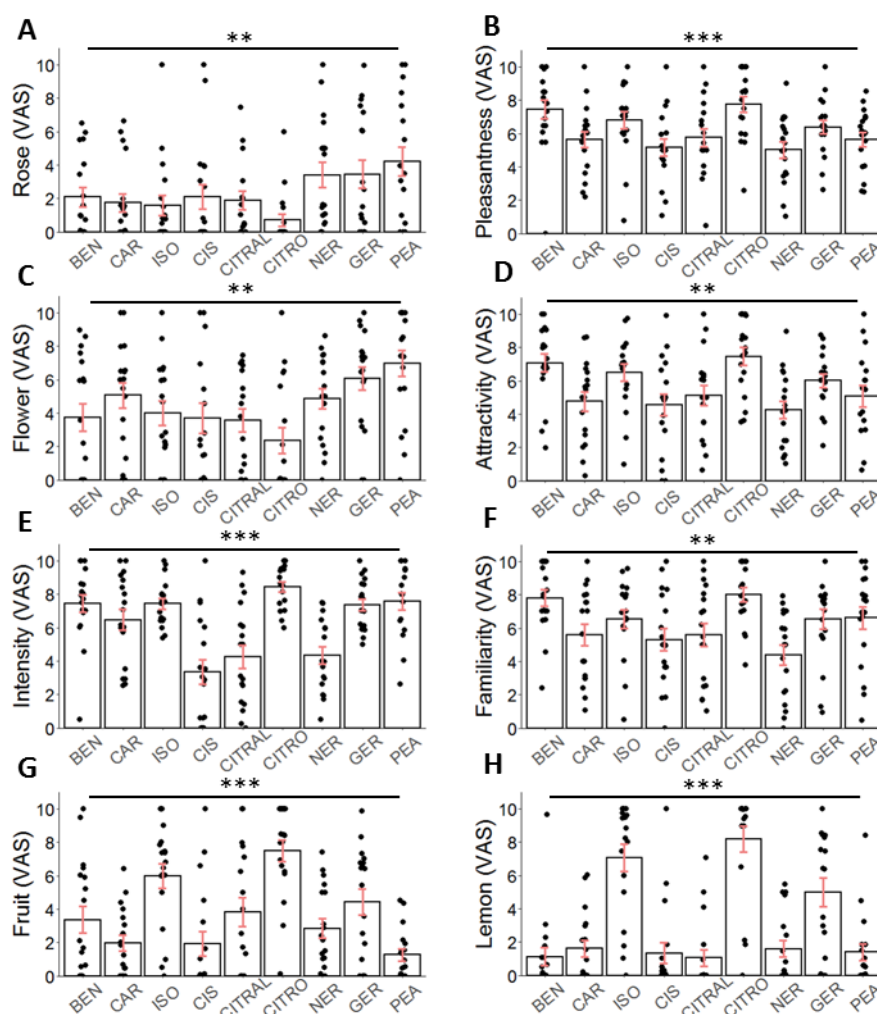


Fig. 3 – The nine monomolecular odorants are perceived differently in term of **A**. Rose perception. **B**. Pleasantness. **C**. Flower perception. **D**. Attractivity **E**. Intensity. **F**. Familiarity. **G**. Fruit perception and **H**. Lemon perception. VAS: Visual Analogue Scale. BEN: Benzaldehyde. CAR: L-carvone. ISO: Isoamyl acetate. CIS: (Z)-3-hexenol. CITRAL: Citral. CITRO: (+/-)- β -citronellol. NER: Nerol. GER: Geraniol. PEA: 2-phenylethanol. Bars represent means of individual data points $\pm$ SEM. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

Using cluster analysis, we found that the molecule that is the most characteristic of the rose perception is the PEA, and, in another cluster, GER and NER (**Fig. 4A**). The molecules that are the most characteristic of the flower perception are PEA, and, in another cluster, NER, GER and ISO (**Fig. 4B**). Interestingly, these clusters are not the same for the pleasantness and attractivity (**Fig. 4C and D**).

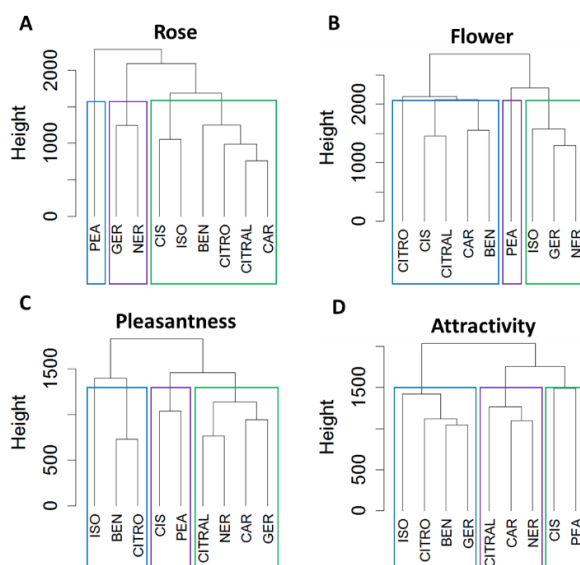


Fig. 4 – Recognition of monomolecular odorants' odors. A. Dendrogram representing cluster analysis of the perception of rose (A), floral (B) pleasantness (C) and attractivity (D) of odor of monomolecular odorants.

The different roses present different sensory perception and emotional responses

We then analysed participants' ratings to rose varieties. Using Friedman tests, we found that the different varieties of selected roses were perceived significantly different in term of pleasantness ($F_{19,9} = 25.65$, $p = 0.002$) and rose ($F_{19,9} = 20.699$, $p = 0.014$). It was true also for familiarity ($F_{19,9} = 19.791$, $p = 0.019$), intensity ($F_{19,9} = 41.491$, $p = 4.071e-06$), attractivity ($F_{19,9} = 20.408$, $p = 0.015$), flower ($F_{19,9} = 23.838$, $p = 0.004$) but not for fruit ($F_{19,9} = 13.727$, $p = 0.132$) and lemon ($F_{19,9} = 13.656$, $p = 0.135$) (**Fig. 5**).

Interestingly, the rosier the flower is perceived, the more pleasant it is rated (**Table 3**). This is also true for familiarity and flower perceptions (**Table 3**). Other correlations are presented in **Table S2**.

Table 3 – Correlations of rose perception and other ratings. r: Spearman's correlation coefficient. p: p-values. Significant correlations are marked in bold.

Rating parameters	r	p
Pleasantness	0.71	0.028
Intensity	0.50	0.143
Familiarity	0.69	0.035
Attractivity	0.47	0.178
Fruit	0.03	0.946
Lemon	0.55	0.104
Flower	0.74	0.021

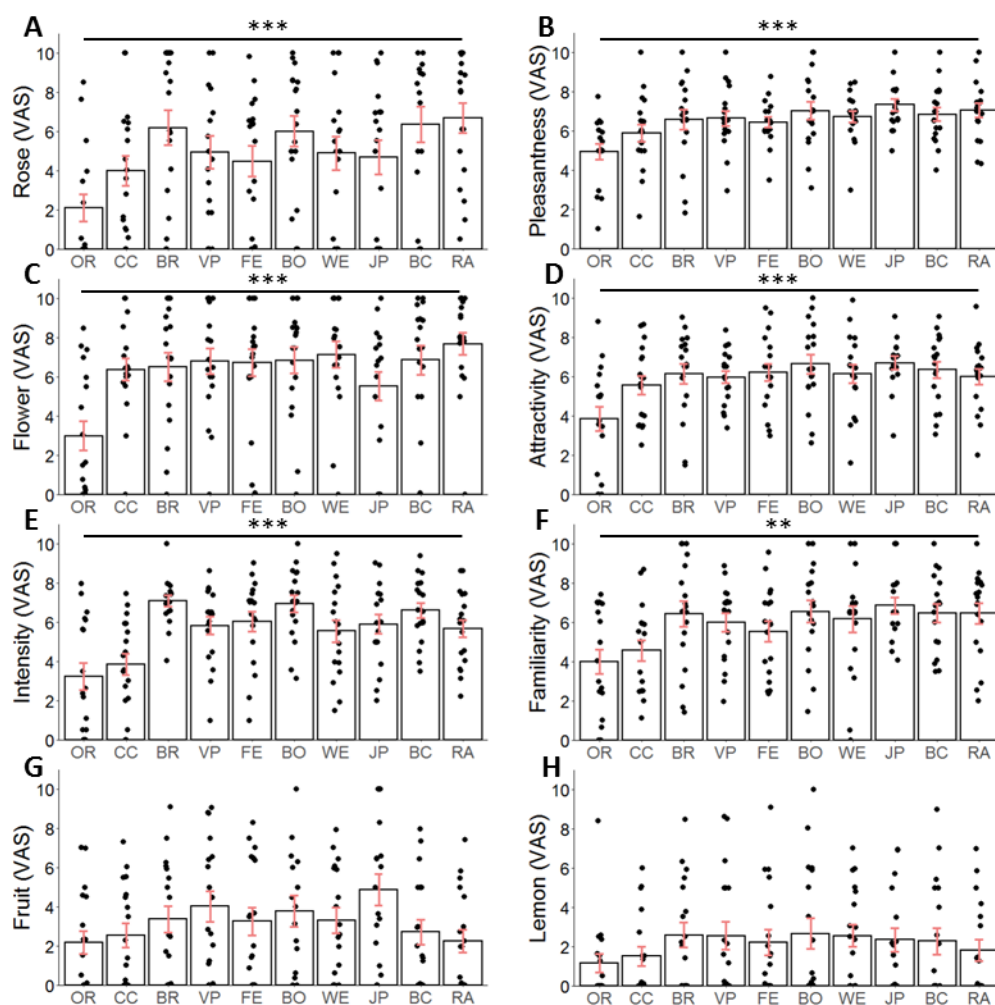


Fig. 5 – The 10 roses are perceived differently in term of **A.** Rose perception, **B.** Pleasantness, **C.** Flower perception, **D.** Attractivity, **E.** Intensity and **F.** Familiarity but not in **G.** Fruit and **H.** Lemon perceptions. VAS: Visual Analogue Scale. OR: Orientalia. CC: Christophe Colomb. BR: Brocéliande. VP: Violette Parfumée. FE: Felicia. BO: Botero. WE: Westerland. JP: Jean-Paul Guerlain. BC: Belle de Clermont. RA: Roberto Alagna. Bars represent means of individual data points $\pm$ SEM. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

Furthermore, comparison between rose varieties and monomolecular odorants typical of rose scent (PEA, GER, NER, CITRO) revealed that the rating of rose (Wilcoxon $W_{18} = 157$, $p = 0.0008$) and flower perception (Wilcoxon $W_{18} = 131$, $p = 0.0483$) is lower for the monomolecular odorants but not different in term of pleasantness (Wilcoxon $W_{18} = 117$, $p = 0.181$) nor attractivity (Wilcoxon $W_{18} = 99$, $p = 0.58$), indicating that the smell of fresh roses are recognized by the participants as different and more typical (**Fig. 6**, see Fig. S1 for other comparisons).

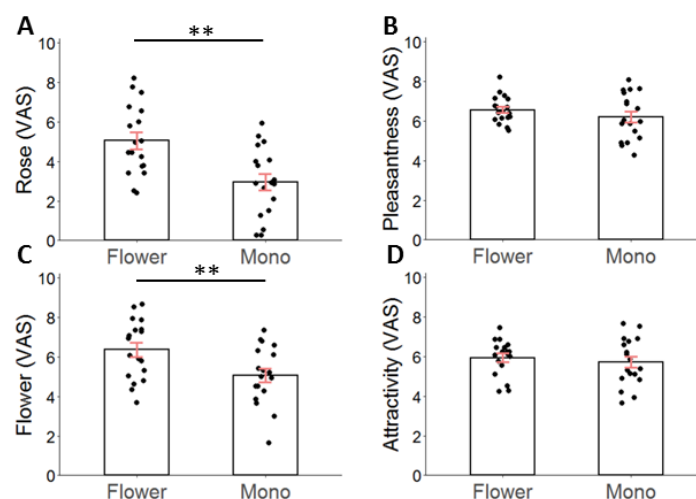


Fig. 6 – Differences between the rating of roses scent (Flower) and monomolecular odorants' (Mono) odors. **A.** Differences in Rose, **B** Pleasantness, **C.** Flower, **D.** Attractivity. VAS: Visual Analogue Scale. Monomolecular odorants used here were PEA, GER, NER and CITRO. Bars represent means of individual data points $\pm$ SEM. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

Rose smell induces odor-motivated behavior

To investigate the impact of the different rose scents on non-conscious odor-driven motor behavior, we video-recorded and tracked the movements of the participants' nose and hand holding the flask during monomolecular and rose odor sampling (**Fig. 1**). In accordance with previous study (Chalençon et al., 2022), significant differences for the minimal distance ($F_{19,9} = 15.76$, $p = 0.046$) and the number of sampling ($F_{19,9} = 17.24$, $p = 0.027$) were revealed in response to the nine monomolecular odorants. This confirms their different level of odor hedonics (**Fig. S2**).

Regarding rose flowers, we found that the minimal distances between the flask and the nose of the participant were negatively correlated to the pleasantness ($r = -0.78$, $p = 0.012$) and the attractivity ($r = -0.68$, $p = 0.035$). Interestingly, we did not observe difference between roses for any of the motor parameters recorded (speed average of approach, $F_{19,9} = 2.85$, $p = 0.97$; speed average of withdrawal, $F_{19,9} = 2.84$, $p = 0.97$; distance of withdrawal, $F_{19,9} = 2.79$, $p = 0.972$; minimal distance, $F_{19,9} = 3.28$, $p = 0.952$; duration of the first sniff, $F_{19,9} = 2.63$, $p = 0.977$; and number of sampling $F_{19,9} = 4.57$, $p = 0.87$; **Fig. S3**) suggesting that the different rose smells induce similar motivated-behavior.

Rose varieties have contrasting VOC compositions

To ensure the validity of the results, between three and six biological replicates per variety were used. Following headspace experiment of the ten rose varieties, 97 VOCs were detected (**Table S1 and S3**). It is worth noting that the total quantity of VOCs emitted by the roses do not correlate with the weight of the rose ($r = 0.49$, $p = 0.15$). Eighty-two major VOCs emitted were pooled into nine categories of molecules, according to their biosynthesis pathways (Dudareva et al., 2013; Hirata et al., 2016;

Magnard et al., 2015; Schwab et al., 2008; Sun et al., 2020) (**Table S1**). We found that the ten varieties of roses presented a significantly different pattern of emitted VOCs categories (Friedman chi-squared = 19.606, df = 9, p-value = 0.0205; **Fig. 7**). For example, FE and WE emitted a majority of monoterpenes (42.6 % and 55,7 % respectively) whereas JP, RA and BO emitted large amounts of oxylipins (50.9 %; 51.0 % and 70.4 % respectively). Ionones and aliphatics were emitted in lesser amounts by the flowers (**Table S4**).

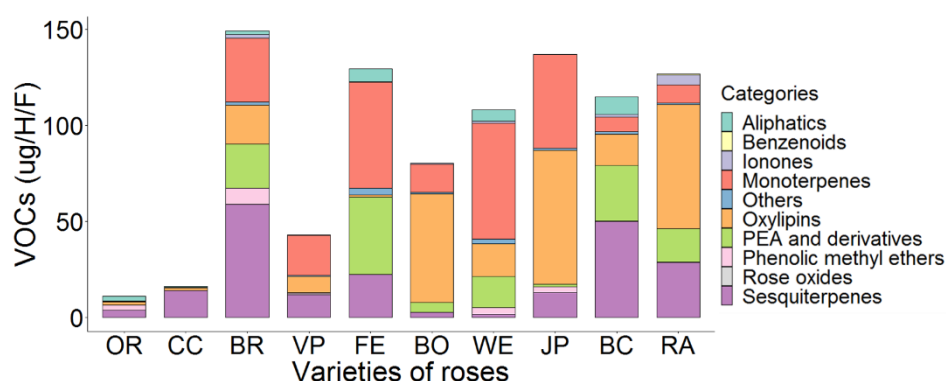


Fig. 7 – Composition of the categories of VOC of the ten selected varieties in µg per hour per flower.

Interestingly, the total amount of VOCs was positively correlated to the pleasantness and to the perceived intensity of flowers. It was also marginally correlated to the rosy perception (**Fig. 8**).

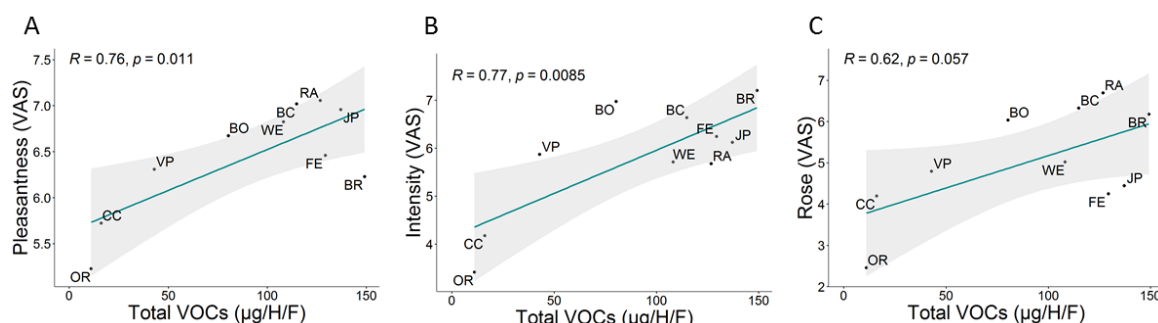


Fig. 8 – Correlations between the perceptual rating and the total amount of VOCs (97 VOCs). **A.** Correlation between the total of VOCs and the pleasantness. **B.** Correlation between the total of VOCs and the intensity. **C.** Correlation between the total of VOCs and the rosy perception. VAS: Visual Analogue Scale. R: Pearson's correlation coefficients.

The oxylipins are correlated to the pleasantness and to the typical perception of rose scent

Pairwise correlations were then conducted to investigate the relationship between categories of VOCs and perceptual rating of roses. Interestingly, we found that among the nine categories of VOCs, the ionones were positively correlated with the perception of rose and flower but not with the pleasantness. The oxylipins were correlated to the pleasantness and marginally to the rose smell. The category of PEA and derivatives was also marginally correlated with the perception of the rose smell.

(Fig. 9, Table S5). Confirming the correlation results, we found using logarithmic regression analysis that the quantity of oxylipins followed a logarithmic law for the pleasantness (adjusted R-square = 0.41, $p = 0.028$) and the rose perception (adjusted R-square = 0.38, $p = 0.034$). Using both analysis types, we also found that oxylipins are the only category of VOCs being correlated to the familiarity (Correlation: $r = 0.83$, $p = 0.0056$; logarithmic regression: adjusted R-square = 0.61, $p = 0.004$).

Identification of individual VOCs drive perceptual rating of rose flowers

Then, to further investigate within the categories, the molecules responsible for the perception of rose and pleasantness, we performed paired wise correlations. We found that among the ionones, only the dihydro- β -ionone was correlated to the rosy perception. It is worth noting that we confirmed that phenylethylacetate was correlated to the rosy perception (Table 4). Others minor compounds were also correlated to the rosy perception (pentenyl acetate, (*E*)- β -ocimene, epi-bicyclosquiphellandrene and an unknown sesquiterpene). Interestingly, we found that hexanal, (*E*)-2-hexenol, hexan-1-ol and hexyl acetate were correlated to both pleasantness and the rosy perception (Table 4). We also found that 1-hexanol, hexyl acetate, geranial and α -pinene were correlated to the attractivity, (*E*)-2-hexenyl acetate with the odor of rose, (*Z*)-3-hexenol and benzaldehyde with the pleasantness (Table 4, Table S6). It is worth noting that fruity notes are also valued in the rose scent. In line with this, we found that geraniol, geranial, neral and (*E*)- β -ocimene were correlated to the fruity perception (Table S6).

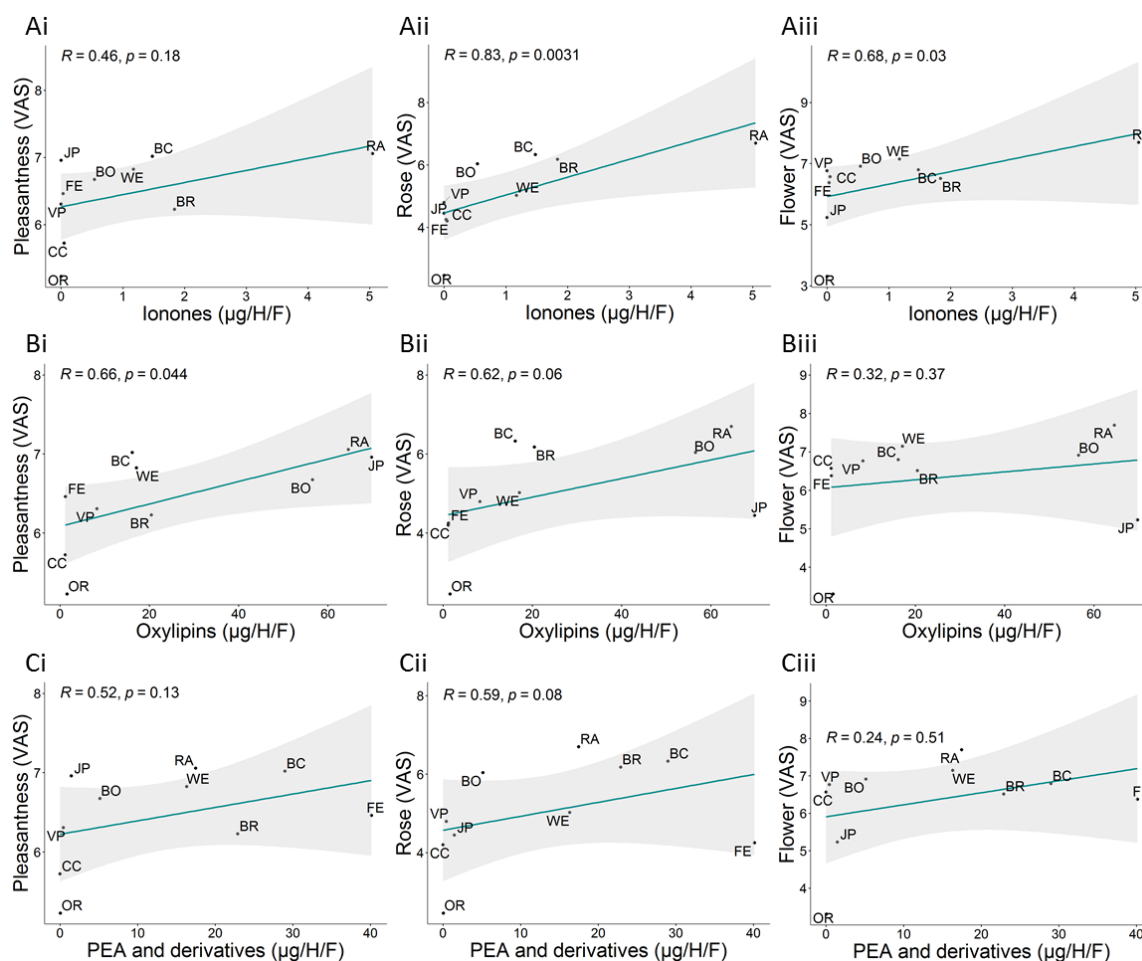


Fig. 9 – Correlations between the perceptual rating and VOCs categories. **A.** Correlation between the quantity of ionones and the pleasantness (**Ai**), the rose (**Aii**) and the flower (**Aiii**) perception. **B.** Correlation between the quantity of oxylipins and the pleasantness (**Bi**), the rose (**Bii**) and the flower (**Biii**) perception. **C.** Correlation between the quantity of PEA and derivatives and the pleasantness (**Ci**), the rose (**Cii**) and the flower (**Ciii**) perception VAS: Visual Analogue Scale. R: Spearman's correlation coefficients. p: p-values.

Table 4 – Spearman significant correlations between VOCs and the pleasantness, the attractivity and the rose and fruity perceptions. r: Spearman's correlation coefficients. p: p-values. *, marginally significant correlations.

VOC	VOC category	Rating parameter	r	p
phenylethylacetate	PEA and derivatives	rose	0.71	0.029
dihydro-β-ionone	ionones	rose	0.89	0.001
(E)- β-ocimene	monoterpene	rose	0.70	0.003
hexanal	oxylipins	rose/pleasantness	0.68/0.65	0.036/0.047
(E)-2-hexenal	oxylipins	rose	0.78	0.012
(E)-2-hexenol	oxylipins	rose/pleasantness	0.76/0.68	0.016/0.036
1-hexanol	oxylipins	rose/pleasantness/attractivity	0.85/0.92/0.75	0.004/0.0001/0.017
Hexyl acetate	oxylipins	rose/pleasantness/attractivity	0.75/0.88/0.67	0.018/0.002/0.039
(E)-2-hexenyl acetate	oxylipins	rose	0.67	0.039
(Z)-3-hexenol	oxylipins	pleasantness	0.80	0.009
3-hexanol	oxylipins	fruit	0.71	0.028
(Z)-β-ocimene	monoterpene	fruit	0.67	0.039
geraniol	monoterpene	fruit	0.69	0.035
geranial	monoterpene	fruit/attractivity	0.65/0.66	0.049/0.044
neral	monoterpene	fruit	0.69	0.032
α-pinene	monoterpene	attractivity	0.78	0.013
benzaldehyde	benzenoid	pleasantness	0.87	0.002

Positive emotional impact of the rose smell

At the end of the experiment, participants were asked to respond openly to the question “What does the smell of roses make you think of?”. This question involves a memory recall and the answer may reflect participants relationship’ to the odor of roses. Participants answers were classified into three main categories: answers that refers to (i) the source of the rose odor (i.e. “it makes me think of a garden”), (ii) the positive emotional impact of the rose smell on the participants (i.e. “it is a calming smell”) (iii) a memory recall (i.e. “It reminds me my grandmother's garden”) (Mantel et al, 2022). Using Friedman tests, we found that the occurrences for “source”, “Impact on emotional behavior” and “Memory” were significantly different ($F_{19,2} = 17.186$, $p = 1,8e-4$). The most used semantic reference in participants' responses was the “source” (20 occurrences on 28 responses). Among the “sources”, participants mostly referred to “cosmetics” (8 occurrences), “flower” (4 occurrences) and “location” (4 occurrences) (e.g., “It remembered me a rose garden”) (**Fig. 10**). Then comes equally the two other semantic references, the “memory recall” (4 occurrences) and the “beneficial impact” (4 occurrences) (e.g., “It make me happy”) (**Fig. 10**).

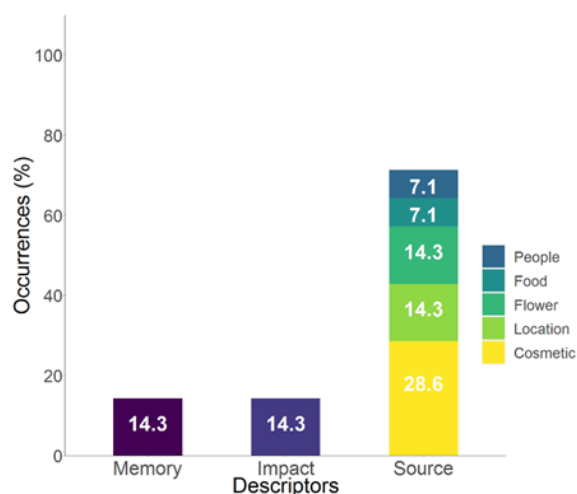


Fig. 10 – Percentage of descriptor occurrences of rose scent souvenir.

Interestingly, participants who reported a “positive emotional impact” of roses, rated them as more attractive than the other participants (t -test $t_{18} = 2.24$, $p = 0.0392$) (Fig. 11).

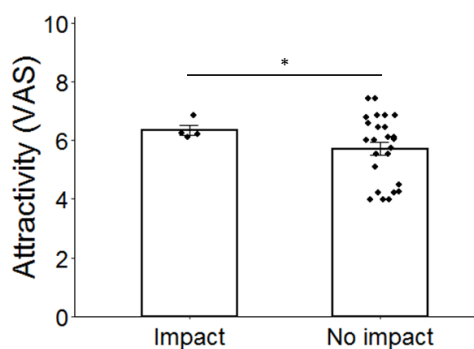


Fig. 11 – Participants who associate rose odor to a positive emotional impact were more likely to rate roses as more attractive. Bars represent means of individual data points $\pm$ SEM. * $p < 0.05$.

Discussion

The aim of this study was to investigate the compounds emitted by fresh roses that are involved in their pleasant olfactory perception. We used garden roses for their complex scent to analyze human response to odors in a more ecological context, compared to monomolecular odorants. In our panel of varieties, we showed that there is not one and unique rose scent but different perceptual representations depending on the variety of the rose. Indeed, we found that roses did not present the same perceived pleasantness, intensity, familiarity, attractivity, floral and rosy scent. Overall, all roses were considered as pleasant by the participants, as shown by their ratings and by the video analysis where all roses induced similar odor-motivated behavior. The roses we chose were not perceived differently for the fruity and lemony parameters.

We then analyzed the quantity of VOCs emitted by the different roses of our panel. In line with previous studies (Sirotin et al., 2015), the total amount of VOCs was positively correlated with the intensity of the roses' scent. In addition, we observed that it was also correlated with the pleasantness and the rosy perception. The more VOCs were emitted, the stronger the roses smell and the more they were appreciated (Anderson et al., 2003; Zhou, Yu, Cheng, Han, et al., 2020).

We wanted to know if the emblematic individual compounds of the rose were sufficient to describe in its complexity the rose scent. We thus analyzed the perceptual quality of VOCs emitted by the different roses. When authors want to recreate artificial rose perfume, they usually use four compounds (geraniol, nerol, 2-phenylethanol and β -citronellol) (Weiss et al., 2012). As expected, we found that phenylethylacetate, which is a 2-phenylethanol derivative, is representative of rose smell since it was correlated with the rosy perception. Geraniol, a major compound emitted by rose flowers, was associated with the fruity perception, another dimension of the rose perception which is also expected (Elsharif & Buettner, 2018; Zhou, Yu, Cheng, Wan, et al., 2020). Contrary to our expectations, the monoterpene category was not correlated to the floral or rosy fragrance and the 2-phenylethanol and derivatives category was only marginally correlated to the rosy perception. However, when presented as molecular odorants, PEA and geraniol gave the perception of rose. These results suggest that the perception of a rose smell in its natural context, differs from the one of its individual compounds. Indeed, when included in a mixture, the perception of the compounds can change (Coureaud et al., 2022; Marasco et al., 2016). As a consequence, the pleasantness of the mixture can also be different from what is expected from its constituents (Grabenhorst et al., 2007; Laing et al., 1994; Ma et al., 2021). This phenomena is of course occurring for flower smells (Z. Xiao et al., 2019). Flower scent are complex mixtures, composed of hundreds of compounds and rose is no exception. In modern cultivars, rose scent often deviate from the typical rose scent, with also fruity notes. Since most studies used monomolecular compounds (Anderson et al., 2003; Jin et al., 2018; Joussain et al., 2013; Sezille et al., 2014; W. Xiao et al., 2020), simplified models of rose odor (Weiss et al., 2012; Z. Xiao et al., 2019) or essential oils (Mohebitabar et al., 2017; Setzer, 2009; Venkatesha et al., 2022), description of olfactory perception can be incomplete or even false (Shalit et al., 2004).

Furthermore, our study highlights the role of few unexpected categories of molecules in the rose perception and pleasantness. Among these categories, we found that the quantity of ionones was positively correlated to the perception of a rose and a floral scent. This result is an accordance with the olfactory description of these compounds (The Good Scent Company Website: <http://www.thegoodscentcompany.com/>), which are highly appreciated by perfumers, and often have a very low odor threshold (Ohloff & Demole, 1987). Surprisingly, we found that only oxylipins were correlated to both the rose scent and pleasantness. We then analyzed in detail within this

category, which VOCs were significantly correlated to pleasantness or to the rose scent or to both, and found the following compounds: (*E*)-2-hexenol, (*E*)-2-hexenyl acetate, (*Z*)-3-hexenyl acetate, 2-hexanol, 3-hexanol, (*E*)-3-Hexenol, hexanal, hexyl acetate, 1-hexanol, (*E*)-2-hexenal and (*Z*)-3-hexenol. The last two compounds, described in the literature as green odors (Fukada et al., 2012; Ito et al., 2009; Watanabe et al., 2011), are studied for their effect on the emotional state and well-being (Akutsu et al., 2002; Tokumo et al., 2006). Indeed, green odors, and particularly (*E*)-2-hexenal and (*Z*)-3-hexenol are known to have an anxiolytic, anti-depressive, anti-fatigue and anti-stress effects in rodents (Ito et al., 2009; Nakatomi et al., 2008; Tokumo et al., 2006; Ueno et al., 2020; Watanabe et al., 2011) and also in human (Saito et al., 2018; Sano, 2002). More broadly, green odors are described as pleasant in the literature (Jacob et al., 2003; Lötsch et al., 2021; Mantel et al., 2022). Regarding their contribution to the rose smell, green odors reinforce the vegetal character. This is a reason why these compounds are used by perfumers, they bring freshness and greenness to a floral bouquet and thus improve the naturalness of the rose scent (Dantec et al., 2022; Zarzo, 2013). In line with this, we also observed in the open verbal description that participants who judged roses as more attractive are the ones that recalled a positive impact of the rose scent on health. While participants considered more the source of the smell than the positive effects of flowers on their well-being when asked, the behavioral impact was however real.

In summary, in addition to the well-known rose-scented monoterpenes and phenylpropanoic derivatives, our study identified unexpected compounds present in natural roses that are involved in the pleasantness of the rose flower, the oxylipins. These compounds with their interesting properties on emotional behavior contribute to the broad impact of rose scent. Our study also highlights the importance of the total amount of VOCs on both the pleasantness and the rose perception. Indeed, rose varieties with the highest amounts of molecules were considered the most attractive and pleasant. Together, these results open new possibilities for the modelization of rose odor, both in fundamental research and for industry purposes. In the horticultural sector, rose breeders find it difficult to obtain fragrant roses. They could benefit from our studies, which brings a more comprehensive knowledge of what compounds should be considered in the selection process.

References

- Abbasijahromi, A., Hojati, H., Nikooei, S., Jahromi, H. K., Dowlatkah, H. R., Zarean, V., Farzaneh, M., & Kalavani, A. (2020). Compare the effect of aromatherapy using lavender and Damask rose essential oils on the level of anxiety and severity of pain following C-section : A double-blinded randomized clinical trial. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 17(3), 20190141. <https://doi.org/10.1515/jcim-2019-0141>
- Akutsu, H., Kikusui, T., Takeuchi, Y., Sano, K., Hatanaka, A., & Mori, Y. (2002). Alleviating effects of plant-derived fragrances on stress-induced hyperthermia in rats. *Physiology & Behavior*, 75(3), 355-360. [https://doi.org/10.1016/S0031-9384\(01\)00670-9](https://doi.org/10.1016/S0031-9384(01)00670-9)
- Altenburger, R., & Matile, P. (1990). Further observations on rhythmic emission of fragrance in flowers. *Planta*, 180(2), 194-197. <https://doi.org/10.1007/BF00193995>
- Anderson, A. K., Christoff, K., Stappen, I., Panitz, D., Ghahremani, D. G., Glover, G., Gabrieli, J. D. E., & Sobel, N. (2003). Dissociated neural representations of intensity and valence in human olfaction. *Nature Neuroscience*, 6(2), 196-202. <https://doi.org/10.1038/nn1001>
- Attia, T. M., & Hamdan, A. M. (2021). Assessment of the difference in detection of pleasant and unpleasant odors in different grades of hyposmia. *The Egyptian Journal of Otolaryngology*, 37(1), 18. <https://doi.org/10.1186/s43163-021-00070-4>
- Ayabe-Kanamura, S., Schicker, I., Laska, M., Hudson, R., Distel, H., Kobayakawa, T., & Saito, S. (1998). Differences in Perception of Everyday Odors : A Japanese-German Cross-cultural Study. *Chemical Senses*, 23(1), 31-38. <https://doi.org/10.1093/chemse/23.1.31>
- Bergougnot, V., Caissard, J.-C., Jullien, F., Magnard, J.-L., Scalliet, G., Cock, J. M., Hugueney, P., & Baudino, S. (2007). Both the adaxial and abaxial epidermal layers of the rose petal emit volatile scent compounds. *Planta*, 226(4), 853-866. <https://doi.org/10.1007/s00425-007-0531-1>
- Boachon, B., Burdloff, Y., Ruan, J.-X., Rojo, R., Junker, R. R., Vincent, B., Nicolè, F., Bringel, F., Lesot, A., Henry, L., Bassard, J.-E., Mathieu, S., Allouche, L., Kaplan, I., Dudareva, N., Vuilleumier, S., Miesch, L., André, F., Navrot, N., ... Werck-Reichhart, D. (2019). A Promiscuous CYP706A3 Reduces Terpene Volatile Emission from Arabidopsis Flowers, Affecting Florivores and the Floral Microbiome. *The Plant Cell*, 31(12), 2947-2972. <https://doi.org/10.1105/tpc.19.00320>
- Bradley, B. F., Starkey, N. J., Brown, S. L., & Lea, R. W. (2007). The effects of prolonged rose odor inhalation in two animal models of anxiety. *Physiology & Behavior*, 92(5), 931-938. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2007.06.023>
- Caissard, J.-C., & Baudino, S. (2018). *Le parfum des roses*. Publications de l'Université de Saint-Étienne.
- Chalençon, L., Thevenet, M., Noury, N., Bensafi, M., & Mandairon, N. (2022). Identification of new behavioral parameters to assess odorant hedonic value in humans : A naturalistic approach. *Journal of Neuroscience Methods*, 366, 109422. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2021.109422>
- Conart, C., Saclier, N., Foucher, F., Goubert, C., Rius-Bony, A., Paramita, S. N., Moja, S., Thouroude, T., Douady, C., Sun, P., Nairaud, B., Saint-Marcoux, D., Bahut, M., Jeauffre, J., Hibrand Saint-Oyant, L., Schuurink, R. C., Magnard, J.-L., Boachon, B., Dudareva, N., ... Caissard, J.-C. (2022). Duplication and Specialization of NUDX1 in Rosaceae Led to Geraniol Production in Rose Petals. *Molecular Biology and Evolution*, 39(2), msac002. <https://doi.org/10.1093/molbev/msac002>
- Coureaud, G., Thomas-Danguin, T., Sandoz, J.-C., & Wilson, D. A. (2022). Biological constraints on configural odour mixture perception. *Journal of Experimental Biology*, 225(6), jeb242274. <https://doi.org/10.1242/jeb.242274>
- Dantec, M., Allain, H., Yvert, N., Sigrist, J., Bensafi, M., & Lafraire, J. (2022). Olfactory attributes and colors associated with naturalness. *Food Quality and Preference*, 98, 104495. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2021.104495>
- David, O. A., David, D. O., Mogoase, C., Popescu, L. C., Giosan, C., & Pellegrino, A. (2019). Psychological effects and brain correlates of a rose-based scented cosmetic cream. *Journal of Sensory Studies*, 34(6). <https://doi.org/10.1111/joss.12536>
- de Almeida, R. N., Motta, S. C., de Brito Faturi, C., Catallani, B., & Leite, J. R. (2004). Anxiolytic-like effects of rose oil inhalation on the elevated plus-maze test in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 77(2), 361-364. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2003.11.004>
- Dehkordi, A. K., Tayebi, A., Ebadi, A., Sahraei, H., & Einollahi, B. (2017). Effects of Aromatherapy Using the Damask Rose Essential Oil on Depression, Anxiety, and Stress in Hemodialysis Patients : A Clinical Trial. *Nephro-Urology Monthly*, 9(6). <https://doi.org/10.5812/numonthly.60280>

Résultats Etude 1

- Dmitrenko, D., Maggioni, E., Brianza, G., Holthausen, B. E., Walker, B. N., & Obrist, M. (2020). CARoma Therapy : Pleasant Scents Promote Safer Driving, Better Mood, and Improved Well-Being in Angry Drivers. *Proceedings of the 2020 CHI Conference on Human Factors in Computing Systems*, 1-13. <https://doi.org/10.1145/3313831.3376176>
- Dudareva, N., Klempien, A., Muhlemann, J. K., & Kaplan, I. (2013). Biosynthesis, function and metabolic engineering of plant volatile organic compounds. *New Phytologist*, 198(1), 16-32. <https://doi.org/10.1111/nph.12145>
- Dudareva, N., & Pichersky, E. (2000). Biochemical and Molecular Genetic Aspects of Floral Scents1. *Plant Physiology*, 122(3), 627-634. <https://doi.org/10.1104/pp.122.3.627>
- Elsharif, S. A., & Buettner, A. (2018). Structure-Odor Relationship Study on Geraniol, Nerol, and Their Synthesized Oxygenated Derivatives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(10), 2324-2333. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b04534>
- Farnia, V., Shirzadifar, M., Shakeri, J., Rezaei, M., Bajoghli, H., Holsboer-Trachsler, E., & Brand, S. (2015). *Rosa damascena* oil improves SSRI-induced sexual dysfunction in male patients suffering from major depressive disorders : Results from a double-blind, randomized, and placebo-controlled clinical trial. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 11, 625-635. <https://doi.org/10.2147/NDT.S78696>
- Feng, L.-G., Chen, C., Sheng, L.-X., Liu, P., Tao, J., Su, J.-L., & Zhao, L.-Y. (2010). Comparative Analysis of Headspace Volatiles of Chinese *Rosa rugosa*. *Molecules*, 15(11), 8390-8399. <https://doi.org/10.3390/molecules15118390>
- Ferdenzi, C., Razafindrazaka, H., Baldovini, N., Poupon, D., Pierron, D., & Bensafi, M. (2019). Influence of gender and culture on the perception of acidic compounds of human body odor. *Physiology & Behavior*, 210, 112561. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2019.112561>
- Ferdenzi, C., Roberts, S. C., Schirmer, A., Delplanque, S., Cekic, S., Porcherot, C., Cayeux, I., Sander, D., & Grandjean, D. (2013). Variability of Affective Responses to Odors : Culture, Gender, and Olfactory Knowledge. *Chemical Senses*, 38(2), 175-186. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjs083>
- FitzGerald, B. J., Richardson, K., & Wesson, D. W. (2014). Olfactory tubercle stimulation alters odor preference behavior and recruits forebrain reward and motivational centers. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 8. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2014.00081>
- Fournel, A., Ferdenzi, C., Sezille, C., Rouby, C., & Bensafi, M. (2016). Multidimensional representation of odors in the human olfactory cortex : Odor Neural Spaces. *Human Brain Mapping*, 37(6), 2161-2172. <https://doi.org/10.1002/hbm.23164>
- Fukada, M., Kano, E., Miyoshi, M., Komaki, R., & Watanabe, T. (2012). Effect of « Rose Essential Oil » Inhalation on Stress-Induced Skin-Barrier Disruption in Rats and Humans. *Chemical Senses*, 37(4), 347-356. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjr108>
- Grabenhorst, F., Rolls, E. T., Margot, C., da Silva, M. A. A. P., & Velazco, M. I. (2007). How Pleasant and Unpleasant Stimuli Combine in Different Brain Regions : Odor Mixtures. *Journal of Neuroscience*, 27(49), 13532-13540. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3337-07.2007>
- Guterman, I., Shalit, M., Menda, N., Piestun, D., Dafny-Yelin, M., Shalev, G., Bar, E., Davydov, O., Ovadis, M., Emanuel, M., Wang, J., Adam, Z., Pichersky, E., Lewinsohn, E., Zamir, D., Vainstein, A., & Weiss, D. (2002). Rose Scent : Genomics Approach to Discovering Novel Floral Fragrance-Related Genes[W]. *The Plant Cell*, 14(10), 2325-2338. <https://doi.org/10.1105/tpc.005207>
- Hamakawa, M., & Okamoto, T. (2018). The effect of different emotional states on olfactory perception : A preliminary study. *Flavour and Fragrance Journal*, 33(6), 420-427. <https://doi.org/10.1002/ffj.3469>
- Héthelyi, É., Szarka, S., Lemberkovics, É., & Szőke, É. (2010). SPME-GC/MS identification of aroma compounds in rose flowers. *Acta Agronomica Hungarica*, 58(3), 283-287. <https://doi.org/10.1556/AAgr.58.2010.3.11>
- Hirata, H., Ohnishi, T., & Watanabe, N. (2016). Biosynthesis of floral scent 2-phenylethanol in rose flowers. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 80(10), 1865-1873. <https://doi.org/10.1080/09168451.2016.1191333>
- Ibrahim, M., Agarwal, M., Hardy, G., & Ren, Y. (2017). Optimized Method to Analyze Rose Plant Volatile Organic Compounds by HS-SPME-GC-FID/MSD. *Journal of Biosciences and Medicines*, 5(3), 3. <https://doi.org/10.4236/jbm.2017.53003>
- Ito, A., Miyoshi, M., Ueki, S., Fukada, M., Komaki, R., & Watanabe, T. (2009). "Green odor" inhalation by rats down-regulates stress-induced increases in Fos expression in stress-related forebrain regions. *Neuroscience Research*, 65(2), 166-174. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2009.06.012>

- Jacob, T. J. C., Fraser, C., Wang, L., Walker, V., & O'Connor, S. (2003). Psychophysical evaluation of responses to pleasant and mal-odour stimulation in human subjects; adaptation, dose response and gender differences. *International Journal of Psychophysiology*, 48(1), 67-80. [https://doi.org/10.1016/S0167-8760\(03\)00020-5](https://doi.org/10.1016/S0167-8760(03)00020-5)
- Jin, L., Haviland-Jones, J., Simon, J. E., & Tepper, B. J. (2018). Influence of aroma intensity and nasal pungency on the 'mood signature' of common aroma compounds in a mixed ethnic population. *Food Quality and Preference*, 65, 164-174. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2017.10.017>
- Jirovetz, L., Buchbauer, G., Stoyanova, A., Balinova, A., Guangjiun, Z., & Xihan, M. (2005). Solid phase microextraction/gas chromatographic and olfactory analysis of the scent and fixative properties of the essential oil of *Rosa damascena* L. from China. *Flavour and Fragrance Journal*, 20(1), 7-12. <https://doi.org/10.1002/ffj.1375>
- Joussain, P., Bessy, M., Faure, F., Bellil, D., Landis, B. N., Hugentobler, M., Tuorila, H., Mustonen, S., Vento, S. I., Delphin-Combe, F., Krolak-Salmon, P., Rouby, C., & Bensafi, M. (2016). Application of the European Test of Olfactory Capabilities in patients with olfactory impairment. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology: Official Journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (EUFOS): Affiliated with the German Society for Oto-Rhino-Laryngology - Head and Neck Surgery*, 273(2), 381-390. <https://doi.org/10.1007/s00405-015-3536-6>
- Joussain, P., Thevenet, M., Rouby, C., & Bensafi, M. (2013). Effect of Aging on Hedonic Appreciation of Pleasant and Unpleasant Odors. *PLoS ONE*, 8(4), e61376. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061376>
- Laing, D. G., Eddy, A., & John Best, D. (1994). Perceptual characteristics of binary, trinary, and quaternary odor mixtures consisting of unpleasant constituents. *Physiology & Behavior*, 56(1), 81-93. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(94\)90264-X](https://doi.org/10.1016/0031-9384(94)90264-X)
- Lötsch, J., Ultsch, A., Hähner, A., Willgeroth, V., Bensafi, M., Zaliani, A., & Hummel, T. (2021). Data-science based analysis of perceptual spaces of odors in olfactory loss. *Scientific Reports*, 11(1), 10595. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-89969-9>
- Ma, Y., Tang, K., Xu, Y., & Thomas-Danguin, T. (2021). A dataset on odor intensity and odor pleasantness of 222 binary mixtures of 72 key food odorants rated by a sensory panel of 30 trained assessors. *Data in Brief*, 36, 107143. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2021.107143>
- Magnard, J.-L., Rocchia, A., Caissard, J.-C., Vergne, P., Sun, P., Hecquet, R., Dubois, A., Hibrand-Saint Oyant, L., Jullien, F., Nicolè, F., Raymond, O., Huguet, S., Baltenweck, R., Meyer, S., Claudel, P., Jeauffre, J., Rohmer, M., Foucher, F., Huguene, P., ... Baudino, S. (2015). Biosynthesis of monoterpene scent compounds in roses. *Science*, 349(6243), 81-83. <https://doi.org/10.1126/science.aab0696>
- Mannschreck, A., & von Angerer, E. (2011). The Scent of Roses and Beyond : Molecular Structures, Analysis, and Practical Applications of Odorants. *Journal of Chemical Education*, 88(11), 1501-1506. <https://doi.org/10.1021/ed100629v>
- Mantel, M., Fournel, A., Staedlé, I., Oelschlägel, A., Carro, J., Dubreuil, R., Herrier, C., Livache, T., Haehner, A., Hummel, T., Roy, J.-M., & Bensafi, M. (2022). Using a bio-inspired surface resonance plasmon electronic nose for fundamental research on human olfaction. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 350, 130846. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2021.130846>
- Marasco, A., De Paris, A., & Migliore, M. (2016). Predicting the response of olfactory sensory neurons to odor mixtures from single odor response. *Scientific Reports*, 6(1), 1. <https://doi.org/10.1038/srep24091>
- Midroit, M., Chalençon, L., Renier, N., Milton, A., Thevenet, M., Sacquet, J., Breton, M., Forest, J., Noury, N., Richard, M., Raineteau, O., Ferdenzi, C., Fournel, A., Wesson, D. W., Bensafi, M., Didier, A., & Mandairon, N. (2021). Neural processing of the reward value of pleasant odorants. *Current Biology*, 31(8), 1592-1605.e9. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2021.01.066>
- Mohebtbar, S., Shirazi, M., Bioos, S., Rahimi, R., & Nejatbakhsh, F. (2017). *Therapeutic efficacy of rose oil : A comprehensive review of clinical evidence*. 7(3), 8.
- Muhlemann, J. K., Klempien, A., & Dudareva, N. (2014). Floral volatiles : From biosynthesis to function. *Plant, Cell & Environment*, 37(8), 1936-1949. <https://doi.org/10.1111/pce.12314>
- Nakatomi, Y., Yokoyama, C., Kinoshita, S., Masaki, D., Tsuchida, H., Onoe, H., Yoshimoto, K., & Fukui, K. (2008). Serotonergic mediation of the antidepressant-like effect of the green leaves odor in mice. *Neuroscience Letters*, 436(2), 167-170. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2008.03.013>
- Ohloff, G., & Demole, E. (1987). Importance of the odoriferous principle of Bulgarian rose oil in flavour and fragrance chemistry. *Journal of Chromatography A*, 406, 181-183. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)94029-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)94029-9)

Résultats Etude 1

- Picone, Joanne M., Clery, Robin A., Watanabe, N., MacTavish, Hazel S., & Turnbull, Colin G. N. (2004). Rhythmic emission of floral volatiles from *Rosa damascena* semperflorens cv. ?Quatre Saisons? *Planta*, 219(3). <https://doi.org/10.1007/s00425-004-1250-5>
- Ren, J., Yang, L., Wang, Y., & Yao, H. (2016). Chemical Profile of Floral Scent at Different Flower Developmental Stages of rose de rescht (*Rosa damascena* Mill.) Cultivated in Beijing. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 19(2), 433-443. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2014.890081>
- Richard, S., Aguilera, N., Thévenet, M., Dkhissi-Benyahya, O., & Flamant, F. (2017). Neuronal expression of a thyroid hormone receptor α mutation alters mouse behaviour. *Behavioural Brain Research*, 321, 18-27. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.12.025>
- Rolls, E. T., Kringelbach, M. L., & de Araujo, I. E. T. (2003). Different representations of pleasant and unpleasant odours in the human brain. *European Journal of Neuroscience*, 18(3), 695-703. <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2003.02779.x>
- Rusanov, K. E., Kovacheva, N. M., & Atanassov, I. I. (2011). Comparative GC/MS Analysis of Rose Flower and Distilled Oil Volatiles of The Oil Bearing Rose *Rosa Damascena*. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 25(1), 2210-2216. <https://doi.org/10.5504/BBEQ.2011.0015>
- Ruser, P., Koepfel, C. J., Kitzler, H. H., Hummel, T., & Croy, I. (2021). Individual odor hedonic perception is coded in temporal joint network activity. *NeuroImage*, 229, 117782. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2021.117782>
- Saito, N., Yamano, E., Ishii, A., Tanaka, M., Nakamura, J., & Watanabe, Y. (2018). Involvement of the olfactory system in the induction of anti-fatigue effects by odorants. *PLOS ONE*, 13(3), e0195263. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195263>
- Sakinoğlu Oruç, F. Ç., Dursun, S., & Demirli, A. (2017). Subjective Effects of Lemon Seed, Rose and Lavender Essential Oils on Humans : A Case Study from Two Different Age Groups. *International Journal of Secondary Metabolite*, 306-311. <https://doi.org/10.21448/ijsm.373289>
- Sano, K. (2002). Concentration Effects of Green Odor on Event-related Potential (P300) and Pleasantness. *Chemical Senses*, 27(3), 225-230. <https://doi.org/10.1093/chemse/27.3.225>
- Schwab, W., Davidovich-Rikanati, R., & Lewinsohn, E. (2008). Biosynthesis of plant-derived flavor compounds. *The Plant Journal*, 54(4), 712-732. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3113X.2008.03446.x>
- Setzer, W. N. (2009). Essential Oils and Anxiolytic Aromatherapy. *Natural Product Communications*, 4(9), 1934578X0900400. <https://doi.org/10.1177/1934578X0900400928>
- Sezille, C., Fournel, A., Rouby, C., Rinck, F., & Bensafi, M. (2014). Hedonic appreciation and verbal description of pleasant and unpleasant odors in untrained, trainee cooks, flavorists, and perfumers. *Frontiers in Psychology*, 5. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2014.00012>
- Shalit, M., Shafir, S., Larkov, O., Bar, E., Kaslassi, D., Adam, Z., Zamir, D., Vainstein, A., Weiss, D., Ravid, U., & Lewinsohn, E. (2004). Volatile compounds emitted by rose cultivars : Fragrance perception by man and honeybees. *Israel Journal of Plant Sciences*, 52(3), 245-255. <https://doi.org/10.1560/P7G3-FT41-XJCP-1XFM>
- Sirotin, Y. B., Shusterman, R., & Rinberg, D. (2015). Neural Coding of Perceived Odor Intensity,,. *eNeuro*, 2(6), ENEURO.0083-15.2015. <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0083-15.2015>
- Sood, R. P., Singh, B., & Singh, V. (1992). Constituents of Rose Oil from Kangra Valley, H. P. (India). *Journal of Essential Oil Research*, 4(4), 425-426. <https://doi.org/10.1080/10412905.1992.9698098>
- Sun, P., Dégut, C., Réty, S., Caissard, J., Hibrand-Saint Oyant, L., Bony, A., Paramita, S. N., Conart, C., Magnard, J., Jeauffre, J., Abd-El-Hallem, A. M., Marie-Magdelaine, J., Thouroude, T., Baltenweck, R., Tisné, C., Foucher, F., Haring, M., Hugueney, P., Schuurink, R. C., & Baudino, S. (2020). Functional diversification in the *Nudix hydrolase* gene family drives sesquiterpene biosynthesis in *Rosa × wichurana*. *The Plant Journal*, 104(1), 185-199. <https://doi.org/10.1111/tpj.14916>
- Tokumo, K., Tamura, N., Hirai, T., & Nishio, H. (2006). Effects of (Z)-3-hexenol, a major component of green odor, on anxiety-related behavior of the mouse in an elevated plus-maze test and biogenic amines and their metabolites in the brain. *Behavioural Brain Research*, 166(2), 247-252. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2005.08.008>
- Ueno, H., Shimada, A., Suemitsu, S., Murakami, S., Kitamura, N., Wani, K., Takahashi, Y., Matsumoto, Y., Okamoto, M., & Ishihara, T. (2020). Hexanal inhalation affects cognition and anxiety-like behavior in mice. *Zeitschrift Für Naturforschung C*, 75(11-12), 409-415. <https://doi.org/10.1515/znc-2019-0215>
- Umezū, T., Ito, H., Nagano, K., Yamakoshi, M., Oouchi, H., Sakaniwa, M., & Morita, M. (2002). Anticonflict effects of rose oil and identification of its active constituents. *Life Sciences*, 72(1), 91-102. [https://doi.org/10.1016/S0024-3205\(02\)02197-5](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(02)02197-5)

- Vainstein, A., Lewinsohn, E., Pichersky, E., & Weiss, D. (2001). Floral Fragrance. New Inroads into an Old Commodity : Fig. 1. *Plant Physiology*, 127(4), 1383-1389. <https://doi.org/10.1104/pp.010706>
- Venkatesha, K. T., Gupta, A., Rai, A. N., Jambhulkar, Sanjay. J., Bisht, R., & Padalia, R. C. (2022). Recent developments, challenges, and opportunities in genetic improvement of essential oil-bearing rose (*Rosa damascena*) : A review. *Industrial Crops and Products*, 184, 114984. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.114984>
- Watanabe, T., Fujihara, M., Murakami, E., Miyoshi, M., Tanaka, Y., Koba, S., & Tachibana, H. (2011). Green odor and depressive-like state in rats : Toward an evidence-based alternative medicine? *Behavioural Brain Research*, 224(2), 290-296. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.06.001>
- Weiss, T., Snitz, K., Yablonka, A., Khan, R. M., Gafsou, D., Schneidman, E., & Sobel, N. (2012). Perceptual convergence of multi-component mixtures in olfaction implies an olfactory white. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(49), 19959-19964. <https://doi.org/10.1073/pnas.1208110109>
- Wesson, D. W., & Wilson, D. A. (2011). Sniffing out the contributions of the olfactory tubercle to the sense of smell : Hedonics, sensory integration, and more? *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 35(3), 655-668. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2010.08.004>
- Xiao, W., Lv, Q., Gao, X., Sun, Z., Yan, X., & Wei, Y. (2020). Different Brain Activation in Response to Repeated Odors of Pleasantness and Unpleasantness. *Chemosensory Perception*, 13(1), 84-91. <https://doi.org/10.1007/s12078-019-09270-y>
- Xiao, Z., Luo, J., Niu, Y., Wang, P., Wang, R., & Sun, X. (2019). Olfactory impact of esters on rose essential oil floral alcohol aroma expression in model solution. *Food Research International*, 116, 211-222. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.08.015>
- Zarzo, M. (2008). Psychologic Dimensions in the Perception of Everyday Odors : Pleasantness and Edibility. *Journal of Sensory Studies*, 23(3), 354-376. <https://doi.org/10.1111/j.1745-459X.2008.00160.x>
- Zarzo, M. (2013). What is a Fresh Scent in Perfumery? Perceptual Freshness is Correlated with Substantivity. *Sensors*, 13(1), 1. <https://doi.org/10.3390/s130100463>
- Zhao, C.-Y., Xue, J., Cai, X.-D., Guo, J., Li, B., & Wu, S. (2016). Assessment of the key aroma compounds in rose-based products. *Journal of Food and Drug Analysis*, 24(3), 471-476. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.02.013>
- Zhou, L., Yu, C., Cheng, B., Han, Y., Luo, L., Pan, H., & Zhang, Q. (2020). Studies on the volatile compounds in flower extracts of *Rosa odorata* and *R. chinensis*. *Industrial Crops and Products*, 146, 112143. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112143>
- Zhou, L., Yu, C., Cheng, B., Wan, H., Luo, L., Pan, H., & Zhang, Q. (2020). Volatile compound analysis and aroma evaluation of tea-scented roses in China. *Industrial Crops and Products*, 155, 112735. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112735>

Supplementary Figures

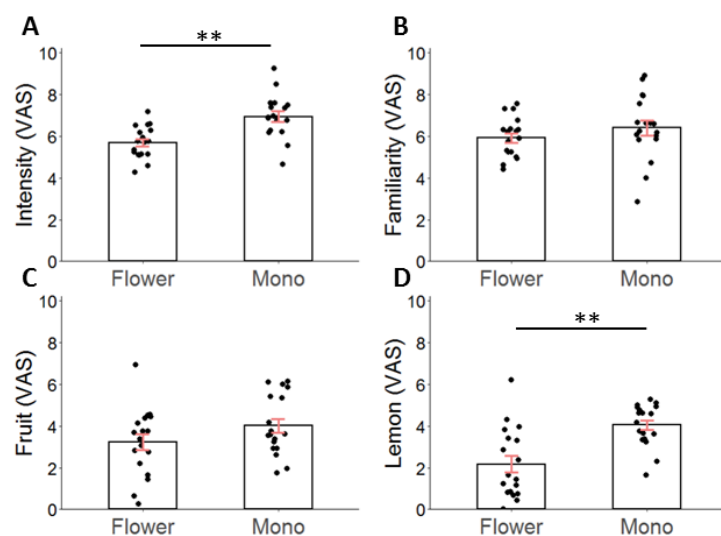


Fig. S1 – Differences between the rating of roses scent (Flower) and monomolecular odorants' (Mono) odors. **A.** Differences in Intensity, **B** Familiarity, **C.** Fruit, **D.** Lemon. VAS: Visual Analogue Scale. Monomolecular odorants used here were 2-phenylethanol, Geraniol, Nerol and (+/-)- β -citronellol. Bars represent means of individual data points $\pm$ SEM. **p < 0.01.

Résultats Etude 1

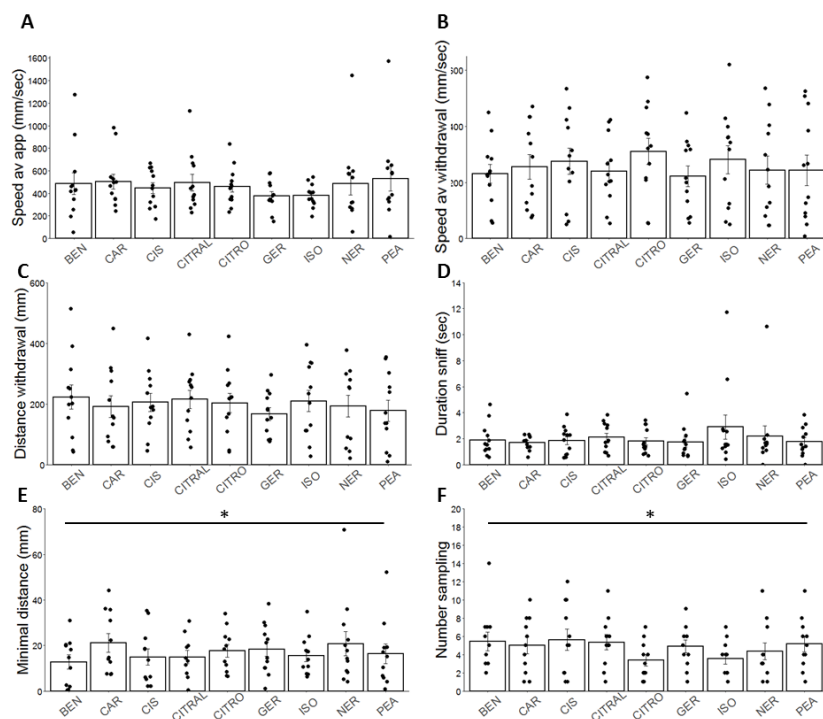


Fig. S2 – Odor-motivated behavior assessment of monomolecular odorants. **A.** Average speed of approach, **B.** Average speed of withdrawal, **C.** Flask-to-nose distance taken at the end of the first sampling, **D.** Smallest flask-to-nose distance calculated during the first sampling. **E.** Duration of the first sampling. **F.** Number of samplings during 1 min. BEN: Benzaldehyde. CAR: L-carvone. ISO: Isoamyl acetate. CIS: (Z)-3-hexenol. CITRAL: Citral. CITRO: (+/-)- β -citronellol. NER: Nerol. GER: Geraniol. PEA: 2-phenylethanol. Bars represent means of individual data points $\pm$ SEM.

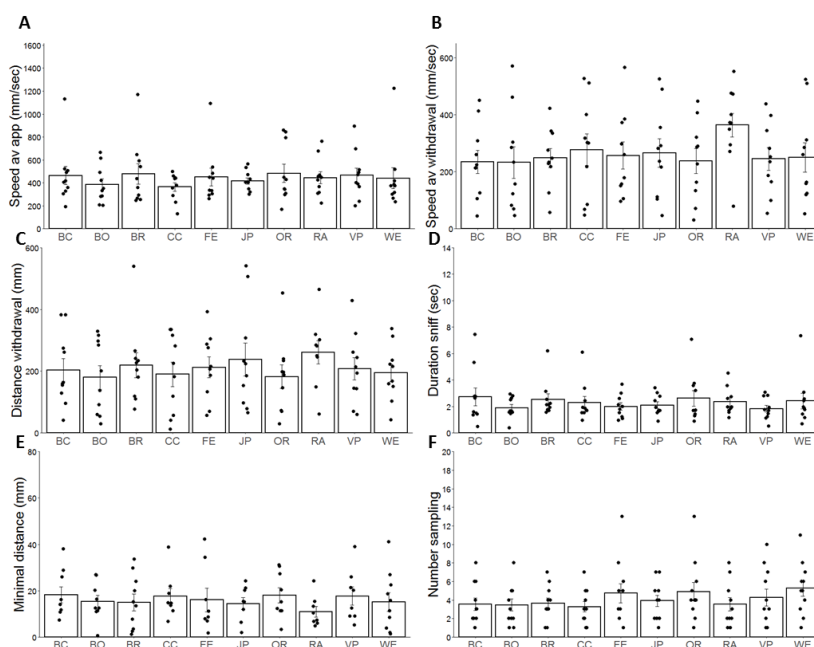


Fig. S3 – Odor-motivated behavior assessment of varieties of roses. **A.** Average speed of approach, **B.** Average speed of withdrawal, **C.** Flask-to-nose distance taken at the end of the first sampling, **D.** Smallest flask-to-nose distance calculated during the first sampling. **E.** Duration of the first sampling. **F.** Number of samplings during 1min. OR: Orientalia. CC: Christophe Colomb. BR: Brocéliande. VP: Violette Parfumée. FE: Felicia. BO: Botero. WE: Westerland. JP: Jean-Paul Guerlain. BC: Belle de Clermont. RA: Roberto Alagna Bars represent means of individual data points $\pm$ SEM.

Etude 2: Study of the allelic diversity of rose fragrance genes

Study of the allelic diversity of rose fragrance genes

Inès Adrar^{1,2}, Aurélie Bony², Sylvie Baudino^{2#}, Nathalie Mandairon^{1#}

¹Lyon Neuroscience Research Center, Neurobiology and Plasticity of Olfactory Perception Team, University Lyon1, Inserm U1028 - CNRS UMR5292, Lyon, France

²Université Jean Monnet Saint-Etienne, CNRS, LBVpam UMR 5079, F-42023, SAINT-ETIENNE, FRANCE

³Laboratory for the Study of Cognitive Mechanisms, Institute of Psychology, University Lyon 2, Bron, France

#equally contributed

Introduction

Roses are highly cultivated for several reasons, mainly for their aesthetic and their scent that is a particularly researched trait for breeders. Some roses smell and others do not. Volatile organic compounds (VOCs) emitted by roses are largely known and studied with different techniques. Using Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) analysis, one of the principal techniques that allows to assess VOCs, the acyclic monoterpenes and 2-phenylethanol (2PE) and derivatives were found to be the major VOCs of rose scent (Feng et al., 2010; Héthelyi et al., 2010; Mannschreck & von Angerer, 2011; Ren et al., 2016, 2016; Sood et al., 1992; Zhao et al., 2016). In addition, among acyclic monoterpenes, the geraniol, the citronellol, the nerol and their derivatives represent a large part of the scent.

In the last decades, the biosynthetic pathway of monoterpenes was intensively studied. Interestingly, in roses, particular genes play a key role in this pathway, the *NUDX1* genes. Indeed, they are present in various organisms, generally function as housecleaning enzymes involved in cell sanitation (McLennan, 2013; Srouji et al., 2017; Yoshimura & Shigeoka, 2015) or in the regulation and signal transduction in plant stress (Bessman et al., 1996). Nonetheless, this gene has a very different role in roses, as it is a major intermediate in the biosynthesis of monoterpenes. In this context, *NUDX1-1* protein is involved in the dephosphorylation of geranyl diphosphate to produce geranyl monophosphate which leads to a second dephosphorylation to produce geraniol. Conart et al, 2022 demonstrated that the *NUDX1-1* gene is highly expressed in petals of roses thanks to a transposon which moved the *NUDX1-1* gene from the chromosome 4 to the chromosome 2 (Conart et al., 2022). Furthermore, the expression of *NUDX1-1* and the quantity of geraniol are correlated with the number of copies of the *NUDX1-1* gene on the chromosome 2.

Regarding biosynthetic pathway of 2PE and its derivatives, the role of *PAAS* gene has been demonstrated (Hirata et al., 2016; Kaminaga et al., 2006; Rocchia et al., 2019). The *PAAS* enzyme catalyzes the decarboxylation and the oxidation of L-phenylalanine, to produce phenylacetaldehyde. Then, a phenylacetaldehyde reductase is involved in the biosynthesis of 2PE (Chen et al., 2016).

There are some examples of selection of particular alleles, beneficial for plant quality, that have been selected by humans during the domestication process. For instance, domestication of fragrant rice led to the presence of a predominant allele of the gene that is involved in the biosynthesis of the fragrant compound (Kovach et al., 2009; Molina et al., 2011). In this chapter, we ask if the same process occurred during the domestication and breeding of roses. In other

words, we investigate whether particular alleles involved in the rose smell were selected by humans. Indeed, during rose selection, breeders have made crosses considering different characters such as aesthetics, resistance to diseases and possibly fragrance. To what extent the selection considered the scent character and how this influenced the diversity of alleles of genes involved in biosynthetic pathways of scent compounds is unclear. In addition, we asked whether different alleles of these genes been selected in different countries. To answers these questions, we investigated the allelic diversity of both *NUDX1-1* and *PAAS* genes in sixty highly scented rose cultivars.

Materiel and methods

Plant material

Plants were harvested in the morning, on sunny days between spring and late summer, in several localizations in the AURA regions in France: roseraie de Saint-Galmier, roseraie internationale du parc de la tête d'or de Lyon, LBVpam (université Jean Monnet de Saint-Etienne), jardin botanique de Lyon, Meilland-Richardier fields (Diemoz).

Sixty varieties of scented modern roses were selected (**Table 1**). Three just open flower buds (stage 1) and three blooming flowers (stage 2) were used, where the bud is already formed but the petals are starting to be visible (**Figure 1**). One gram of rose petals was collected and put into a 20 mL glass tube and immersed in 2 mL of hexane with camphor (5mM) for 24 hours at 4°C. The solvent was then transferred to GC-MS glass vials. The roses' remaining petals and buds were frozen immediately after the cut at -196°C in liquid nitrogen to stop all degradation. Descriptions of scent were found on the “help me find” website (<https://www.helpmefind.com/gardening/roses.php>) and according to the breeder catalogs.

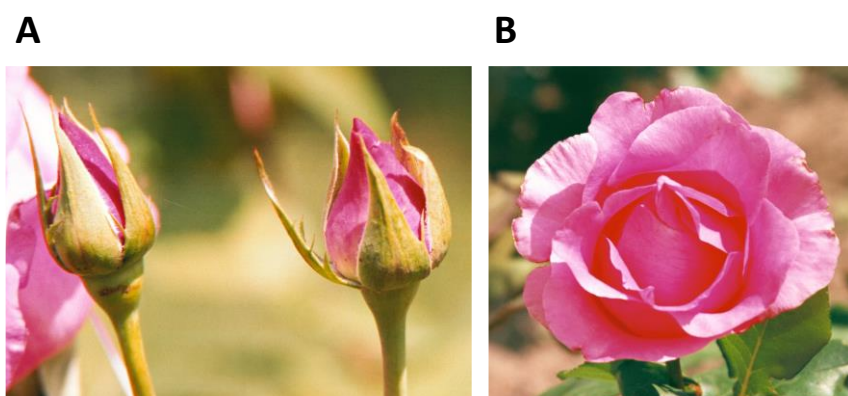


Figure 1: Example of the flowering stages chosen during the collection of the samples, from the variety 'The Mac Cartney rose'. **A.** Just open flower bud stage 1. **B.** Blooming flower stage 2.

GC-MS analysis

Samples were analyzed at the LBVpam. An Agilent 6850 Network GC system coupled with a 7683B series injector and 5973 Network mass selective detector was used (all components from Agilent Technologies, Santa Clara, USA). GC-MS parameters are briefly described. The separation was done by using a DB-5 capillary column (30 m, 0.25 mm nominal diameter, 0.25 μ m film thickness) with the following program: an initial temperature of 40 °C for 3 min, a final temperature of 245 °C with a gradient of 3°C.min⁻¹. Two μ L were injected in the column with a 2:1 split ratio for 2 min at 250 °C, a pressure of 6.90 psi, and a split flow of 2.0 mL.min⁻¹. For the mass spectrometer detector parameters, the acquisition was from 35 m/z to 450 m/z, at a 70 eV ionisation energy. For data processing, we used the MassHunter Unknown Analysis Software (Agilent Technologies) or DataAnalysis Software (Agilent Technologies). Then, we used the retention times of VOCs and their electron ionization mass spectra for their identification, and we compared them to available databases (Wiley 275, NIST08, the laboratory's own database) for their final identification.

Total RNA extraction

We used petals at stage 2 for studying the *NUDX1-1* alleles and petals of buds at stage 1 for the *PAAS* alleles, because it is during those stages that these genes are most expressed. Frozen petals and buds were first very coarsely ground in a falcon tube with a steel ball previously dipped in liquid nitrogen. In a second step, approximately 80 mg of powder were ground into a very finely powder with an automatic vibro-ball-grinder during 30 s at a frequency of 30 Hz. For the extraction of total RNA, the NucleoSpin RNA kit (Macherey-Nagel) was used following the manufacturer's instructions. The quality of the samples extracted was assessed by absorbance measurements using a NanoDrop 2000c (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) and according to several criteria of absorbance: the 260/280 nm and the 230/260 nm absorbance ratios had to be between 1.8 and 2. RNA samples were stored in a freezer at -80°C before further experiments.

Primary cDNA synthesis

Before the primary cDNA synthesis, RNA samples' purity (1 μ g of RNA in 10 mL of RNase free water) was verified with PCR amplification of the *NUDX1-1* gene and Tubulin gene as positive control gene, to check for possible contamination of genomic DNA during the RNA extraction. If no visible amplification of genomic DNA from RNA samples was detected, those samples were retro-transcribed. One μ L of RNA samples in 40 μ L of RNase free water was used. For the cDNA primary synthesis from RNA samples, the reverse transcriptase

SuperScript™ III kit (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) was used following the manufacturer's instructions in a reaction volume of 20 µL. Tubulin was used as a reference gene, expressed in all samples. The PCR reaction mixture consisted of 4 µl of 5x Phusion HF Buffer (Bio-Rad), 2 µl of a pair of primers (1 µl for each primer), 2 µl of diluted cDNA mixture, and DNase-free water to reach a total volume of 20 µl and amplified for 35 cycles. If an amplicon was obtained, the quality of cDNA sample was assumed good enough for further analysis. Samples were then diluted to 1:5. Primary cDNA samples were stored in a freezer at -20°C.

Résultats Etude 2

Table 1: Description of roses samples with the name of the variety, the code used in this chapter, the breeders' names, the countries of breeders, the continent associated, the year of breed and the fragrance. na: data not available.

Variety	Code	Breeder	Country	Continent	Year of breed	Fragrance
Amour de Molène	AM	ADAM/NIRP	France	Europe	2014	Strong
Arthur Rimbaud	AR	MEILLAND	France	Europe	2009	Intense
Belle de Clermont	BC	ANDRE GUY	France	Europe	2009	Very perfumed
Belle de Londres	BL	HARKNESS	England	Europe	1972	Very perfumed
Botero	BO	MEILLAND	France	Europe	1999	Strong, old rose fragrance
Brocéliande	BR	ADAM	France	Europe	1997	Very perfumed
Caprice de Meilland	CA	MEILLAND	France	Europe	1999	Strong
Chantal Mérieux	CM	GUILLLOT/MASSAD	France	Europe	1999	Very perfumed
Charles de Gaulle	CG	MEILLAND	France	Europe	1975	Intense
Christophe Colomb	CC	MEILLAND	France	Europe	1992	Mild to strong fragrance
Constance Spry	CS	AUSTIN	England	Europe	1961	Very perfumed
Crazy Pink Voluptia	CPV	NOACK	Germany	Europe	2010	Moderate fragrance
<i>Rosa damascena</i> 'bifera'	DB	na	Other	Other	na	Very perfumed
Félicia	FE	PEMBERTON	UK	Europe	1926	Strong, sweet fragrance
Fontaine aux perles	FP	ADAM/NIRP	France	Europe	2014	Strong
Fragrant Cloud	FC	TANTAU	Germany	Europe	1963	Strong
Gertrude Jekyll	GJ	AUSTIN	England	Europe	1986	Very perfumed
Graham Thomas	GT	AUSTIN	England	Europe	1983	Strong, tea
Indian Silk	IS	LENS	Belgium	Europe	1987	Strong fragrance
Jean-Paul Guerlain	JPG	GAUJARD	France	Europe	2005	Strong fragrance
Just Joey	JJ	CANT AND SONS	England	Europe	1972	Lightly perfumed
La Belle Alsacienne	BA	ANDRE EVE	France	Europe	2000	Very perfumed
La France	FR	GUILLLOT FILS	France	Europe	1867	Very perfumed
La France climbing	FRc	PETER HENDERSON	USA	America	1893	Very perfumed
Lady Hillingdon	LH	LOWE & SHAWYER	England	Europe	1910	Perfumed, the
Leander	LE	AUSTIN	England	Europe	1982	Very perfumed
Line Renaud	LR	MEILLAND	France	Europe	2007	Exceptionnal
Lorie Pester	LP	REUTER	France	Europe	2014	Very perfumed
Madame Anisette	MA	KORDES	Germany	Europe	2004	Strong anis myrrh spice
Madame de Staël	MdS	GUILLLOT/MASSAD	France	Europe	2009	Very perfumed
Mamy blue	MB	DELBARD	France	Europe	1984	Strong
Marius Ducher	MD	UCHER	France	Europe	2020	Strong and fruity
Moonwalk	MO	INTERPLANT BV	Netherlands	Europe	2012	na
Mr Bluebird	MrB	MOORE	USA	America	1960	Mild fragrance
Old Blush	OB	INCONNU	China	Asia	na	Mild fragrance
Olij Jaune	OJ	na	Other	Other	na	na
Orientalia	OR	CARRUTH	USA	America	2005	Very perfumed, spicy
Papa Meilland	PM	MEILLAND	France	Europe	1963	Exceptionnal
Pariser Charme	PC	TANTAU	Germany	Europe	1965	Strong
Patchouli	PT	na	Other	Other	na	na
Princess Kishi	PK	MARCHEN ROSE ?	Japan	Asia	na	na
Purple Voluptia	PV	NOACK	Germany	Europe	2008	Strong
RADprov	RD	RADLER	USA	America	2019	Intense
Roberto Alagna	RA	ADAM/NIRP	France	Europe	2014	Very perfumed
<i>Rosa wichurana</i>	RW	na	France	Europe	na	Weak
Rose Blush	RB	ANDRE EVE/RATEAU	France	Europe	2015	Very perfumed
Rosière de France	RF	ADAM	France	Europe	2014	Intense
Ruban Rouge	RR	MEILLAND	France	Europe	2012	Intense
Scepter d'Isle	SI	AUSTIN	England	Europe	1996	Very perfumed
Soleil d'or	SO	PERNET-DUCHER	France	Europe	1900	Lightly perfumed
Sweet Dream	SD	GARETH FRYER	UK	Europe	1987	Mild to strong fragrance
Tea Clipper	TC	AUSTIN	England	Europe	2006	Strong fragrance
Tess of the d'Urbervilles	TU	AUSTIN	England	Europe	1998	Perfumed
The Mac Cartney rose	MC	MEILLAND	France	Europe	1992	Exceptionnal
Université Saint Etienne	UJ	CROIX/RANCHON	France	Europe	2019	Intense
Violette Parfumée	VP	DORIEUX	France	Europe	1992	Strong
Wabara Kaolizakazi	WK	KEIJI KUNIEDA	Japan	Asia	na	na
Westerland	WE	KORDES	Germany	Europe	1969	Perfumed
Wollerton Old Hall	WO	AUSTIN	England	Europe	2011	Perfumed, anis
Yves Piaget	YP	MEILLAND	France	Europe	1984	Exceptionnal

Primary cDNA amplification and cloning for sequencing

NUDX1-1 and *PAAS* diluted cDNA were amplified by PCR for cloning. We used the following primers for amplifying *NUDX1-1* cDNA: 5'-ATGGGAAACGAGACAGTAGTAGT for the forward primer and 5'-TCATGTTGGAAAAGGGTTAAATCC for the reverse one. The PCR reaction mixture consisted of 0.2 µl of Phusion High Fidelity polymerase (Thermo Fisher Scientific, REF F530S), 5x Phusion HF Buffer (Thermo Fisher Scientific), 2 µl of a pair of primers (1 µl for each primer), 0.4 µl of dNTP, 2 µl of diluted cDNA mixture, and DNase-free

water to reach a total volume of 20 µl. The PCR parameters with *NUDX1-1* primers were as followed: 98 °C for 1 min, 28 cycles of (98 °C for 10 s, 58 °C for 30 s, and 72 °C for 20 s), and 72 °C for 5 min.

We used the following primers for amplifying *PAAS* cDNA: 5'-ATGGGTAGCTTCCCATTCCAC for the forward primer and 5'-TCAATACGTGCTGAGGATGG for the reverse one. PCR parameters with *PAAS* primers were quite similar, except for the elongation time and temperature of 60 °C for 20 s. PCR samples were purified with the NucleoSpin Gel and PCR clean up kit (Macherey-Nagel), submitted to ligation into the non-directional vector pCRBlunt (Invitrogen), following the manufacturer's instructions), and transformed into *Escherichia coli* TOP10 (Invitrogen). The samples were incubated overnight at 37°C and subcultured the next day. Five bacterial colony per biological sample were checked after incubation by PCR amplification to verify that the plasmids contained the correct cDNA. The colonies were pricked one by one in a PCR reaction mixture consisting of 0.16 µl of Dream Taq DNA polymerase (Thermo Fisher Scientific), 2 µl of 10X Dream Taq Buffer (Thermo Fisher Scientific), 1.6 µl of a pair of primers (0.8 µl for each primer), 0.4 µl of dNTP and DNase-free water to reach a total volume of 20 µl. The mixture has been well emulsified for PCR amplification. The PCR parameters with *NUDX1-1* primers were as followed: 95 °C for 5 min, 25 cycles of (95 °C for 30 s, 58 °C for 30 s, and 72 °C for 20 s), and 72 °C for 5 min. Again, PCR parameters with *PAAS* primers were quite similar, except for the elongation time and temperature of 60 °C for 20 s. Three valid bacterial colony per samples were cultured in 5mL of LB Broth over the night at 37°C. Plasmid were then purified with the NucleoSpin Plasmid Kit (Macherey-Nagel). *NUDX1-1* and *PAAS* cDNA purity inserted into plasmids were checked on NanoDrop 2000c, then diluted to reach 100 ng/µL and sent to MWG Eurofins genomic (Eurofins Genomics, Ebersberg, Germany) for sequencing using universal M13uni-21 primer. The *NUDX1-1* gene being short, 451 base pairs, the sequencing could be done in one time on one sample. However, the *PAAS* gene being longer, 1500 base pairs, required two sequencing runs in forward and reverse to be sure to sequence the entire gene.

cDNA Sequencing

For the analysis of the sequenced genes, the fasta files were retrieved by downloading them in Geneious Prime software (Biomatters Limited) for alignment. Three clones per biological sample (2 biological samples per rose variety) were sequenced. If all clones in each biological sample were strictly identical, then only one sequence corresponding to a sample was kept. If a

biological sample had several different alleles, then the different sequences were strictly differentiated. We obtained matrices with the common or different alleles according to the variety, for each gene (Supplementary Tables S1 and S2).

Data and statistical analysis

Alleles were numbered according to those that were already known and then according to the order of appearance as the genes were sequenced. We also set a threshold for consideration of different allelic sequences. At least two rose varieties must have exactly the same allelic sequence. Indeed, if a variety presents an allele strictly different from the others, we cannot be sure that it is not due to an initial PCR error or to a sequencing error. It may also be a new allele; however, we took the risk to threshold the observed differences.

Results

First, we analyzed the roses' nationality and its representation in our samples. Although harvested in the Lyon and Saint-Etienne regions, we have been able to pick up roses bred from all over the world. Most of the varieties came from Europe (84%). Four varieties came from America, 3 from Asia and 2 for which we don't have any information about their origin (**Figure 2A**). Among the European varieties, most of the roses we chose were created by French breeders (about 60%) (**Figure 2B**).

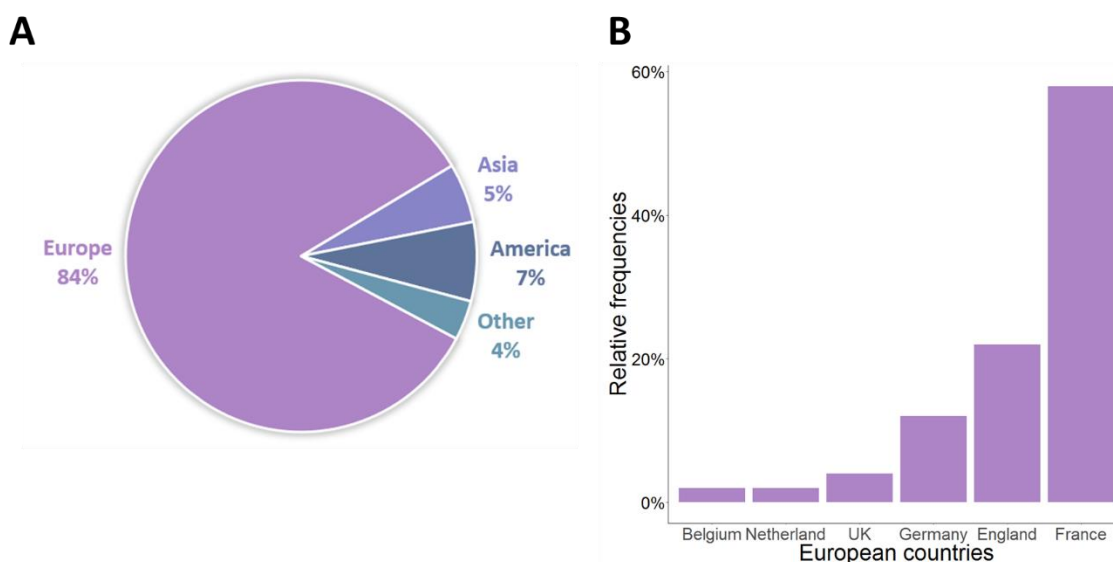


Figure 2: Origins of the selected rose varieties. A. Origins of varieties by continent. B. Percentages of European varieties by country.

The diversity of NUDX1-1 alleles is very low

We used 55 different varieties of roses to sequence the *NUDX1-1* gene. Seven different alleles of *NUDX1-1* were found (Supplementary Table1). These alleles were quite similar, only a few bases were different, resulting in the translation of 7 different amino acid sequences, so 7 different proteins.

The nucleotide and protein sequence alignments of the different *NUDX1-1* alleles are presented in **Figure 3** and the similarity matrices between those different allelic sequences in **Table 2** and **Table 3**. We numbered the alleles of *NUDX1-1* according to the one we already knew from the genome of ‘Old Blush’ cultivar, allele 1. From allele 2 onwards, the alleles were numbered according to the frequency of occurrence among the largest number of varieties.

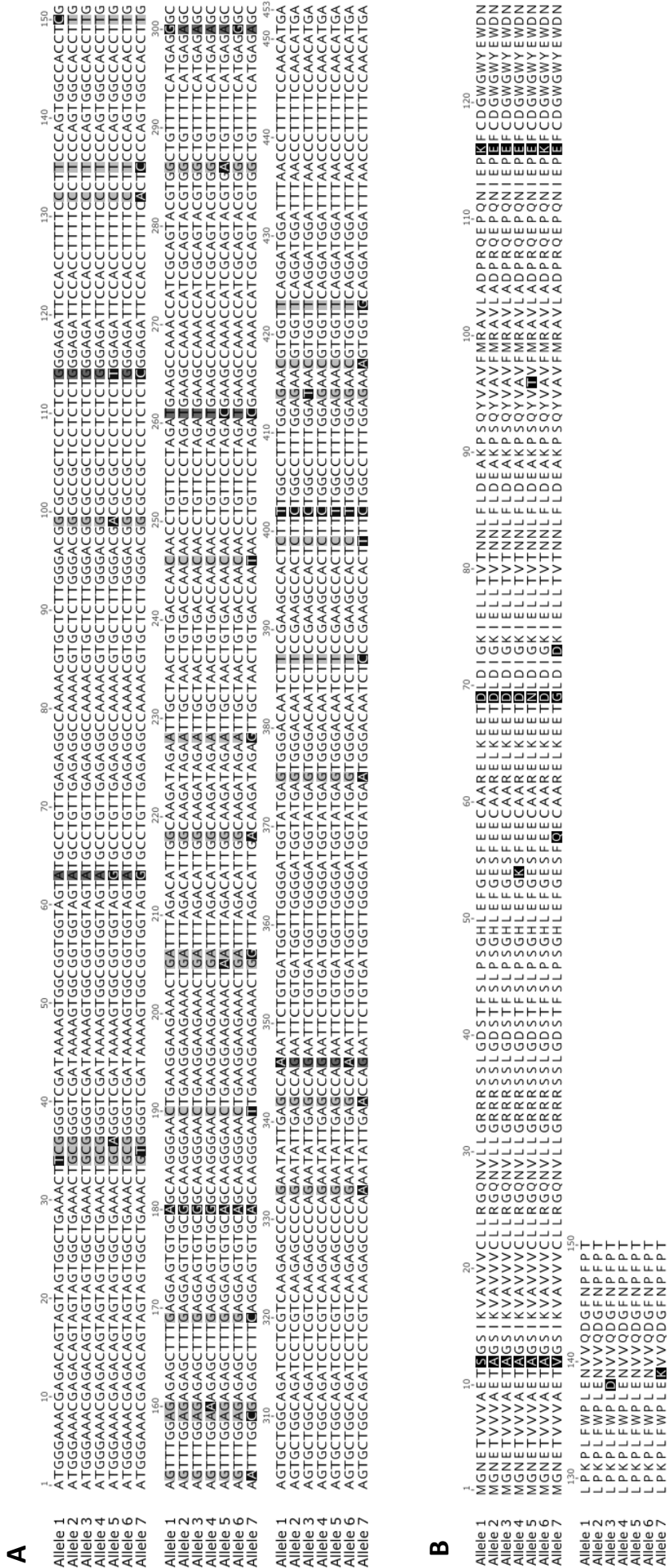


Figure 3: Sequence alignment of NUDX1-1. A. Alignment of nucleotide sequences of the alleles. B. Alignment of the protein sequences of the alleles.

Table 2: Similarity matrix between the different nucleotide sequences of the alleles of *NUDX1-1*.

	Allele 1	Allele 2	Allele 3	Allele 4	Allele 5	Allele 6	Allele 7
Allele 1		98.7	98.5	98.5	97.6	99.6	94.3
Allele 2	98.7		99.8	99.8	98.0	99.1	95.1
Allele 3	98.5	99.8		99.6	97.8	98.9	94.9
Allele 4	98.5	99.8	99.6		97.8	98.9	94.9
Allele 5	97.6	98.0	97.8	97.8		98.0	94.7
Allele 6	99.6	99.1	98.9	98.9	98.0		94.7
Allele 7	94.3	95.1	94.9	94.9	94.7	94.7	

Table 3: Similarity matrix between the different protein sequences of the alleles of *NUDX1-1*.

	Allele 1	Allele 2	Allele 3	Allele 4	Allele 5	Allele 6	Allele 7
Allele 1		98.7	98.0	98.0	97.3	99.3	96.0
Allele 2	98.7		99.3	99.3	98.7	99.3	96.7
Allele 3	98.0	99.3		98.7	98.0	98.7	96.0
Allele 4	98.0	99.3	98.7		98.0	98.7	96.0
Allele 5	97.3	98.7	98.0	98.0		98.0	96.0
Allele 6	99.3	99.3	98.7	98.7	98.0		96.0
Allele 7	96.0	96.7	96.0	96.0	96.0	96.0	

Allele 1 was shared between 3 varieties. Allele 2 is the one that was found in the larger number of varieties: 46 times out of 55. Allele 3 was the second most frequent: 19 out of 55. Finally, Allele 4 was found in 9 of the rose varieties. The representation of the different nationalities of the varieties in which we found, or not certain alleles is not homogeneous depending on the continent and the allele studied (**Figure 4**). For example, allele 2, the most represented in all samples, is found in all selected geographical areas (**Figure 4A**). Allele 1 is absent in American varieties and Allele 3 is only found in European and Asian varieties (**Figure 4A** and **4B**). However, no allele is exclusive to a continent, i.e., it is never found at 100% in all varieties. We did not observe any correlation between the presence/absence of the different alleles and the quantity of geraniol.

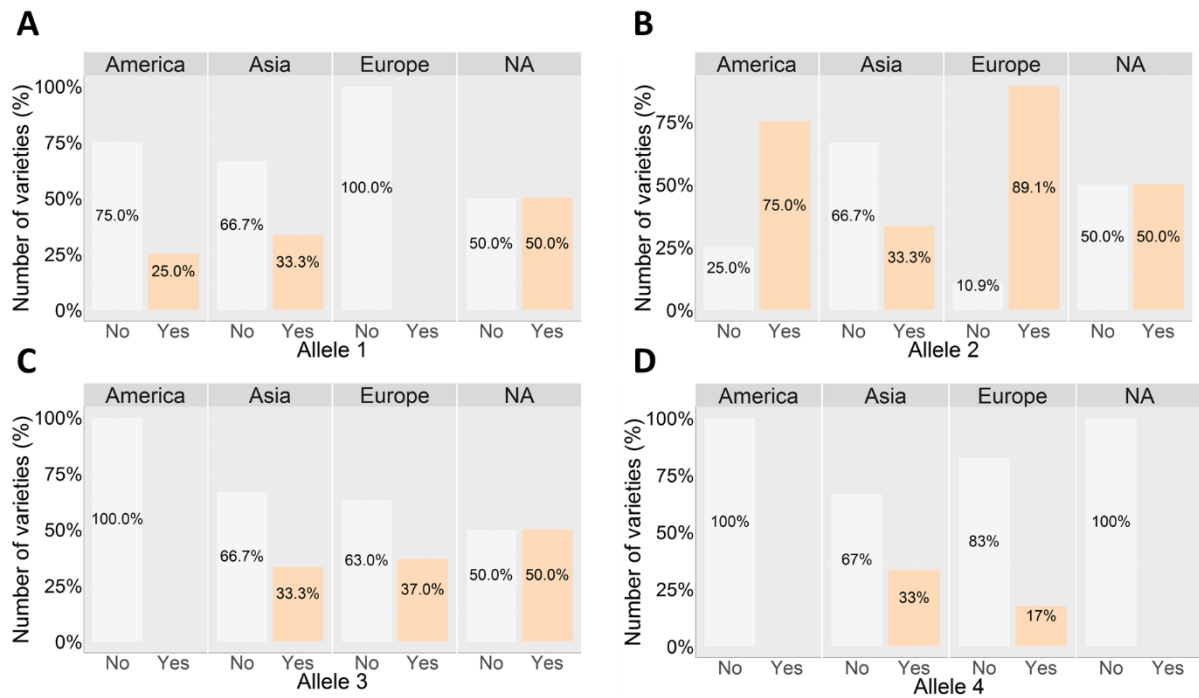


Figure 4: Number of varieties with the Presence/Absence of the four most frequent alleles of *NUDX1-1*, depending on the breeder nationality. A. Percentage of the number of varieties for the Allele 1. **B.** Percentage of the number of varieties for the Allele 2. **C.** Percentage of the number of varieties for the Allele 3. **D.** Percentage of the number of varieties for the Allele 4. No: Absence of the sequence for a variety. Yes: Presence of the sequence for one variety.

The diversity of PAAS alleles is also low

We used the 55 varieties of roses used for sequencing the *NUDX1-1* gene plus 5 other varieties that emit only 2PE and not geraniol. We conducted the same analyses that the ones we did for the *NUDX1-1* gene. Sixteen different alleles of *PAAS* were found. Again, these alleles were quite similar, only a few bases were different, not necessarily resulting in the translation of 10 different amino acid sequences.

The nucleotide and protein sequence alignments of the different *PAAS* alleles are presented in **Figures 5 and 6** and the similarity matrices between those different allelic sequences in **Table 4**. We numbered the alleles of *PAAS* according to the one we already knew from the genome of the ‘Old Blush’ and *Rosa x wichurana* varieties, allele a, b and c (Roccia et al., 2019). We have not found any modern rose variety with these alleles a, b or c. From allele 1 onwards, the alleles were numbered according to the frequency of occurrence among the largest number of varieties.

Interestingly, the allele representation seems to be different for *PAAS* compared to *NUDX1-1*. Indeed, the American varieties that we selected in this study do not present any of the most shared alleles (**Figure 7**). Among the most frequent alleles, Asian varieties have only Allele 2, Americans varieties the Allele 4 and European varieties have the four most frequent alleles. We did not observe any correlation between the presence/absence of the different alleles and the quantity of geraniol.

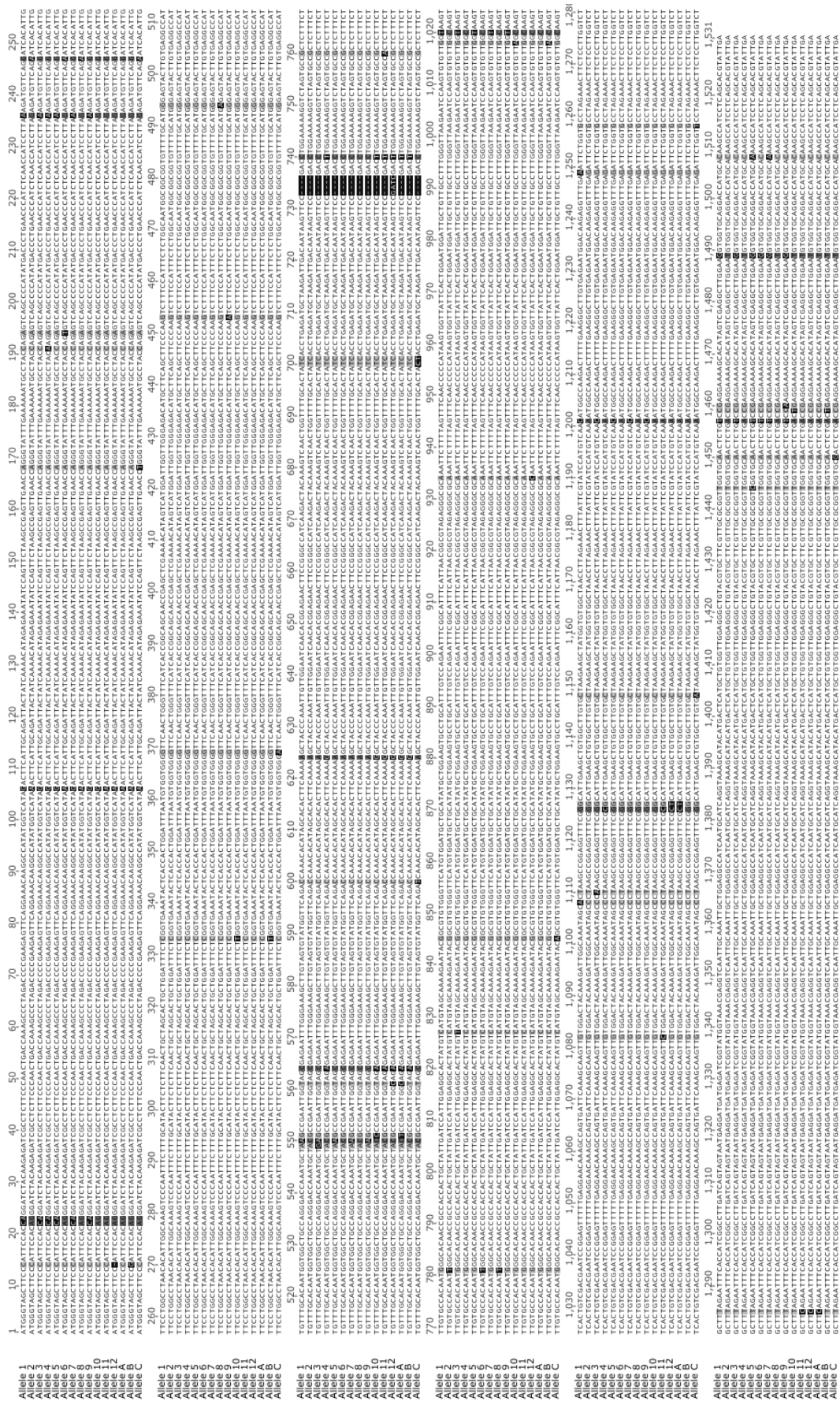


Figure 5: Alignment of nucleotide sequences of the alleles of PAAS.

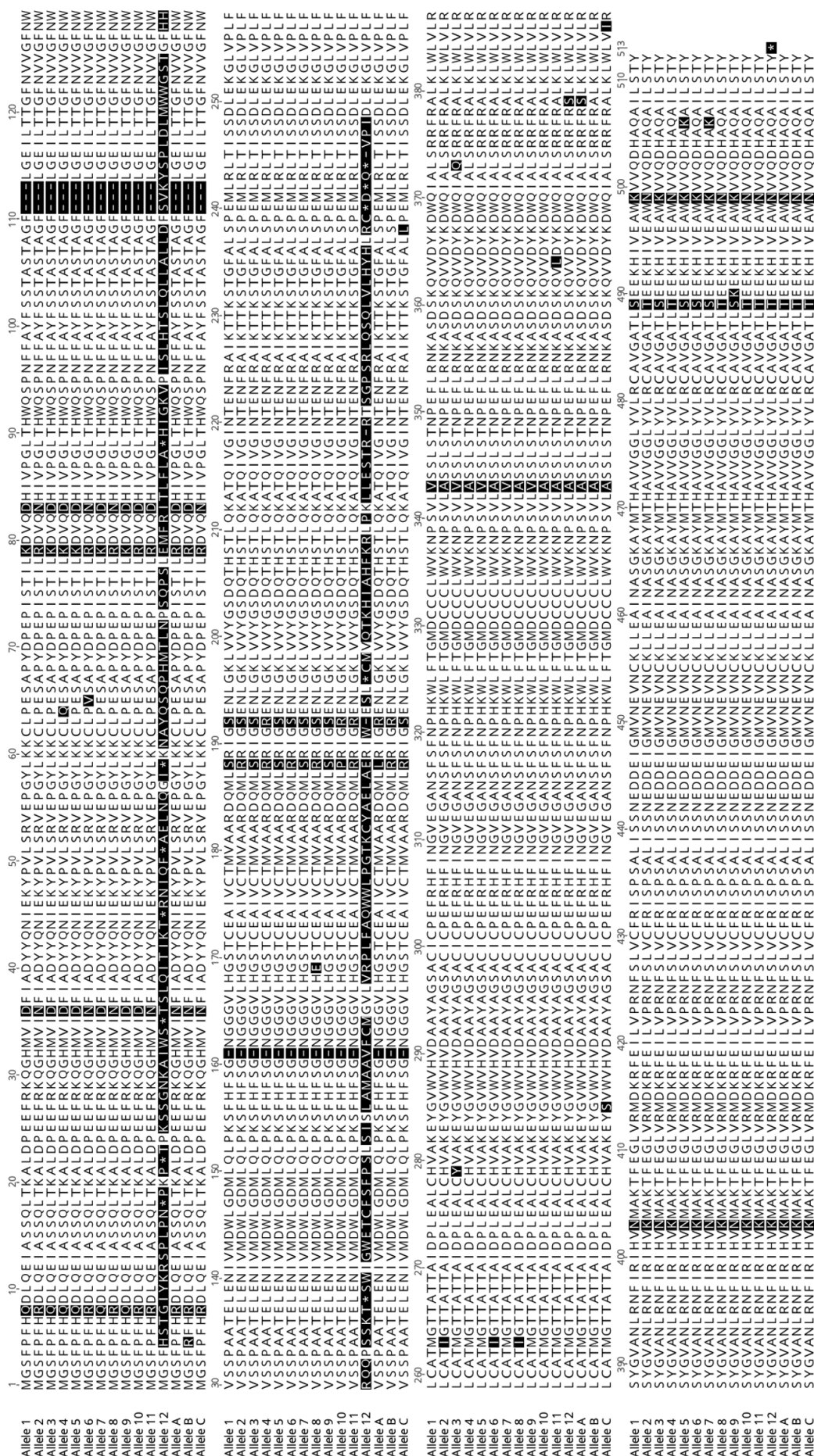


Figure 6: Alignment of protein sequences of the alleles of *PAAS*.

Table 4: Similarity matrices of the different alleles of PAAS. A. Similarity matrix between the different nucleotide sequences of the alleles of PAAS. **B.** Similarity matrix between the different protein sequences of the alleles of PAAS.

A

	Allele 1	Allele 2	Allele 3	Allele 4	Allele 5	Allele 6	Allele 7	Allele 8	Allele 9	Allele 10	Allele 11	Allele 12	Allele A	Allele B	Allele C
Allele 1		99.1	99.7	99.2	99.7	99.2	99.8	99.1	99.7	98.9	98.8	98.4	98.8	98.8	98.6
Allele 2	99.1		99.1	99.3	99.1	99.8	99.2	99.9	99.1	99.3	99.4	99.0	99.3	99.4	99.3
Allele 3	99.7	99.1		99.1	99.7	99.1	99.7	99.0	99.7	98.8	98.8	98.4	98.7	98.8	98.6
Allele 4	99.2	99.3	99.1		99.2	99.1	99.3	99.2	99.2	99.4	99.5	99.1	99.4	99.3	98.8
Allele 5	99.7	99.1	99.7	99.2		99.2	99.9	99.1	99.7	98.9	98.8	98.4	98.8	98.8	98.6
Allele 6	99.2	99.8	99.1	99.1	99.2		99.3	99.7	99.2	99.1	99.2	98.8	99.1	99.2	99.1
Allele 7	99.8	99.2	99.7	99.3	99.9	99.3		99.1	99.8	99.0	98.9	98.5	98.8	98.9	98.7
Allele 8	99.1	99.9	99.0	99.2	99.1	99.7	99.1		99.1	99.3	99.3	99.0	99.3	99.3	99.3
Allele 9	99.7	99.1	99.7	99.2	99.7	99.2	99.8	99.1		98.9	98.8	98.4	98.8	98.8	98.6
Allele 10	98.9	99.3	98.8	99.4	98.9	99.1	99.0	99.3	98.9		99.4	99.0	99.4	99.8	98.8
Allele 11	98.8	99.4	98.8	99.5	98.8	99.2	98.9	99.3	98.8	99.4		99.3	99.7	99.5	98.9
Allele 12	98.4	99.0	98.4	99.1	98.4	98.8	98.5	99.0	98.4	99.0	99.3		99.5	99.2	98.5
Allele A	98.8	99.3	98.7	99.4	98.8	99.1	98.8	99.3	98.8	99.4	99.7	99.5		99.4	98.8
Allele B	98.8	99.4	98.8	99.3	98.8	99.2	98.9	99.3	98.8	99.8	99.5	99.2	99.4		98.9
Allele C	98.6	99.3	98.6	98.8	98.6	99.1	98.7	99.3	98.6	98.8	98.9	98.5	98.8	98.9	

B

	Allele 1	Allele 2	Allele 3	Allele 4	Allele 5	Allele 6	Allele 7	Allele 8	Allele 9	Allele 10	Allele 11	Allele 12	Allele A	Allele B	Allele C
Allele 1		98.0	99.6	98.6	99.8	98.2	99.8	97.8	99.8	98.4	98.0	56.4	98.0	98.0	97.6
Allele 2	98.0		97.6	98.6	97.8	99.4	97.8	99.8	97.8	99.0	99.2	57.0	99.0	99.2	99.2
Allele 3	99.6	97.6		98.2	99.4	97.8	99.4	97.4	99.4	98.0	97.6	56.1	97.6	97.6	97.2
Allele 4	98.6	98.6	98.2		98.4	98.0	98.4	98.4	98.4	99.2	99.0	57.4	98.8	99.0	98.2
Allele 5	99.8	97.8	99.4	98.4		98.0	100.0	97.6	99.6	98.2	97.8	56.3	97.8	97.8	97.4
Allele 6	98.2	99.4	97.8	98.0	98.0		98.0	99.2	98.0	98.4	98.6	56.6	98.4	98.6	98.6
Allele 7	99.8	97.8	99.4	98.4	100.0	98.0		97.6	99.6	98.2	97.8	56.3	97.8	97.8	97.4
Allele 8	97.8	99.8	97.4	98.4	97.6	99.2	97.6		97.6	98.8	99.0	57.0	98.8	99.0	99.0
Allele 9	99.8	97.8	99.4	98.4	99.6	98.0	99.6	97.6		98.2	97.8	56.3	97.8	97.8	97.4
Allele 10	98.4	99.0	98.0	99.2	98.2	98.4	98.2	98.8	98.2		99.4	57.2	99.4	99.4	98.6
Allele 11	98.0	99.2	97.6	99.0	97.8	98.6	97.8	99.0	97.8	99.4		57.0	99.4	99.6	98.8
Allele 12	56.4	57.0	56.1	57.4	56.3	56.6	56.3	57.0	56.3	57.2	57.0		57.4	57.2	56.8
Allele A	98.0	99.0	97.6	98.8	97.8	98.4	97.8	98.8	97.8	99.4	99.4	57.4		99.4	98.6
Allele B	98.0	99.2	97.6	99.0	97.8	98.6	97.8	99.0	97.8	99.4	99.6	57.2	99.4		98.8
Allele C	97.6	99.2	97.2	98.2	97.4	98.6	97.4	99.0	97.4	98.6	98.8	56.8	98.6	98.8	

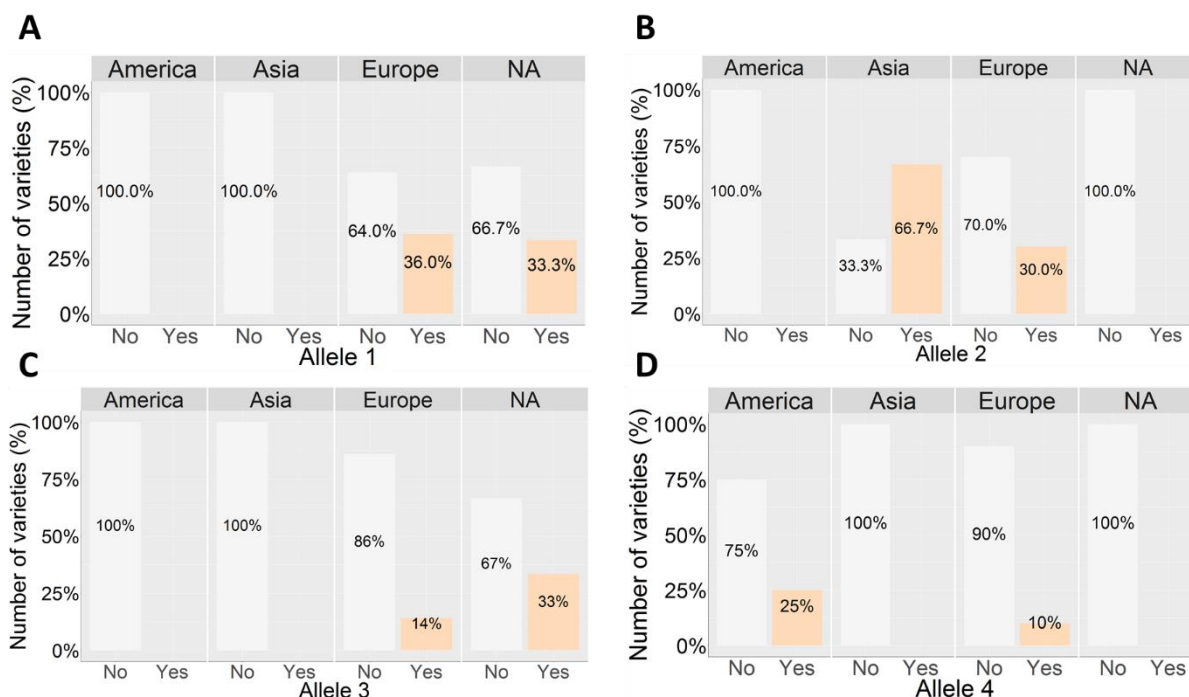


Figure 7: Number of varieties with the Presence/Absence of the three most frequent alleles of PAAS, depending on the breeder nationality. A. Percentage of the number of varieties for the most frequent allele. **B.** Percentage of the number of varieties for the second most frequent allele. **C.** Percentage of the number of varieties for the third most frequent allele.

Conclusions and perspectives

In this chapter, we studied the allelic diversity of two genes involved in the biosynthesis of molecules important for the rose scent to better understand whether the selection of the alleles has been done based on a criterium at least partly olfactory. The hypothesis is that if the allelic diversity is low, then the genes has been selected and on the contrary, is the allelic diversity is high, then the rose selection process did not affect these genes. We observed a very small allelic diversity of the *NUDX1-1* or *PAAS* genes in the 60 different modern varieties of rose that we studied, suggesting that particular alleles involved in the rose smell were selected by humans. However, to confirm this, it would be necessary to include older varieties in the samples, to determine whether our results are a consequence of the recent selection of modern varieties or not. Indeed, two hypotheses could explain our results: 1) during the domestication, the breeders have put the roses under a selection pressure based on an olfactory basis, which ended in the selection of very efficient alleles for the production of the scent compounds or 2) the majority of modern roses nowadays comes from crossings from a small number of rose varieties. From our results, it is not possible to validate either of these hypotheses. However, we can bring arguments for new elements of answer.

For the first hypothesis, we know that geraniol and its derivatives, as well as the 2PE and its derivatives have very appreciated smells. One parameter that links the geraniol and *NUDX1-1* is its number of copies on the chromosome 2 of roses. The higher the number of copies of *NUDX1-1* is and the higher the amount of geraniol is (Conart et al., 2022). For 2PE, it can be synthesized from different biosynthesis pathways, dependent or not to *PAAS* (Chen et al., 2011; Hirata et al., 2016; Kaminaga et al., 2006) and the number of copies of this gene has not yet be linked yet to the amount of 2PE. To go further, we could study the expression of these genes in various roses to know if there is a relationship between the allele expression and the quantity of molecules in roses. Then, we may conclude on the relationship between the diversity of alleles or the breeder nationality and the roses smell.

For the second hypothesis, it is difficult to have information on the parentality of roses since data on genetic and biological crosses of roses are confidential. However, we can override this obstacle by studying in parallel a gene which is not subjected to a selection pressure to see if we observe the same lack of allelic diversity, like the tubulin gene for example. From this, we would have two options: 2.a) Either we will have not the same allelic diversity (i.e more diversity for the gene which is not subjected to selection pressure depending on the variety of rose) or 2.b) we will observe the same diversity (i.e very small) and in this case, we may know that the domestication of the selected roses was obtained from the same few varieties.

These experiments are preliminary but highlight interesting results that could lead to new experimental perspectives.

References

- Bessman, M. J., Frick, D. N., & O’Handley, S. F. (1996). The MutT Proteins or “Nudix” Hydrolases, a Family of Versatile, Widely Distributed, “Housecleaning” Enzymes *. *Journal of Biological Chemistry*, 271(41), 25059-25062. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.41.25059>
- Chen, X., Wang, Z., & He, X. (2016). [Advances in biosynthesis of 2-phenylethanol by yeasts]. *Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao = Chinese Journal of Biotechnology*, 32(9), 1151-1163. <https://doi.org/10.13345/j.cjb.150539>
- Chen, X.-M., Kobayashi, H., Sakai, M., Hirata, H., Asai, T., Ohnishi, T., Baldermann, S., & Watanabe, N. (2011). Functional characterization of rose phenylacetaldehyde reductase (PAR), an enzyme involved in the biosynthesis of the scent compound 2-phenylethanol. *Journal of Plant Physiology*, 168(2), 88-95. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2010.06.011>
- Conart, C., Saclier, N., Foucher, F., Goubert, C., Rius-Bony, A., Paramita, S. N., Moja, S., Thouroude, T., Douady, C., Sun, P., Nairaud, B., Saint-Marcoux, D., Bahut, M., Jeauffre, J., Hibrand Saint-Oyant, L., Schuurink, R. C., Magnard, J.-L., Boachon, B., Dudareva, N., ... Caissard, J.-C. (2022). Duplication and Specialization of NUDX1 in Rosaceae Led to Geraniol Production in Rose Petals. *Molecular Biology and Evolution*, 39(2), msac002. <https://doi.org/10.1093/molbev/msac002>
- Feng, L.-G., Chen, C., Sheng, L.-X., Liu, P., Tao, J., Su, J.-L., & Zhao, L.-Y. (2010). Comparative Analysis of Headspace Volatiles of Chinese Rosa rugosa. *Molecules*, 15(11), 8390-8399. <https://doi.org/10.3390/molecules15118390>
- Héthelyi, É., Szarka, S., Lemberkovics, É., & Szőke, É. (2010). SPME-GC/MS identification of aroma compounds in rose flowers. *Acta Agronomica Hungarica*, 58(3), 283-287. <https://doi.org/10.1556/AAgr.58.2010.3.11>
- Hirata, H., Ohnishi, T., & Watanabe, N. (2016). Biosynthesis of floral scent 2-phenylethanol in rose flowers. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 80(10), 1865-1873. <https://doi.org/10.1080/09168451.2016.1191333>
- Kaminaga, Y., Schnepf, J., Peel, G., Kish, C. M., Ben-Nissan, G., Weiss, D., Orlova, I., Lavie, O., Rhodes, D., Wood, K., Porterfield, D. M., Cooper, A. J. L., Schloss, J. V., Pichersky, E., Vainstein, A., & Dudareva, N. (2006). Plant Phenylacetaldehyde Synthase Is a Bifunctional Homotetrameric Enzyme That Catalyzes Phenylalanine Decarboxylation and Oxidation. *Journal of Biological Chemistry*, 281(33), 23357-23366. <https://doi.org/10.1074/jbc.M602708200>
- Kovach, M. J., Calingacion, M. N., Fitzgerald, M. A., & McCouch, S. R. (2009). The origin

- and evolution of fragrance in rice (*Oryza sativa* L.). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(34), 14444-14449. <https://doi.org/10.1073/pnas.0904077106>
- Mannschreck, A., & von Angerer, E. (2011). The Scent of Roses and Beyond : Molecular Structures, Analysis, and Practical Applications of Odorants. *Journal of Chemical Education*, 88(11), 1501-1506. <https://doi.org/10.1021/ed100629v>
- McLennan, A. G. (2013). Substrate ambiguity among the nudix hydrolases : Biologically significant, evolutionary remnant, or both? *Cellular and Molecular Life Sciences*, 70(3), 373-385. <https://doi.org/10.1007/s00018-012-1210-3>
- Molina, J., Sikora, M., Garud, N., Flowers, J. M., Rubinstein, S., Reynolds, A., Huang, P., Jackson, S., Schaal, B. A., Bustamante, C. D., Boyko, A. R., & Purugganan, M. D. (2011). Molecular evidence for a single evolutionary origin of domesticated rice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(20), 8351-8356. <https://doi.org/10.1073/pnas.1104686108>
- Ren, J., Yang, L., Wang, Y., & Yao, H. (2016). Chemical Profile of Floral Scent at Different Flower Developmental Stages of rose de rescht (*Rosa damascena* Mill.) Cultivated in Beijing. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 19(2), 433-443. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2014.890081>
- Roccia, A., Hibrand-Saint Oyant, L., Cavel, E., Caissard, J.-C., Machenaud, J., Thouroude, T., Jeauffre, J., Bony, A., Dubois, A., Vergne, P., Szécsi, J., Foucher, F., Bendahmane, M., & Baudino, S. (2019). Biosynthesis of 2-Phenylethanol in Rose Petals Is Linked to the Expression of One Allele of *RhPAAS*. *Plant Physiology*, 179(3), 1064-1079. <https://doi.org/10.1104/pp.18.01468>
- Sood, R. P., Singh, B., & Singh, V. (1992). Constituents of Rose Oil from Kangra Valley, H. P. (India). *Journal of Essential Oil Research*, 4(4), 425-426. <https://doi.org/10.1080/10412905.1992.9698098>
- Srouji, J. R., Xu, A., Park, A., Kirsch, J. F., & Brenner, S. E. (2017). The evolution of function within the Nudix homology clan : Function Evolution in the Nudix Homology Clan. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 85(5), 775-811. <https://doi.org/10.1002/prot.25223>
- Yoshimura, K., & Shigeoka, S. (2015). Versatile physiological functions of the Nudix hydrolase family in Arabidopsis. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 79(3), 354-366. <https://doi.org/10.1080/09168451.2014.987207>
- Zhao, C.-Y., Xue, J., Cai, X.-D., Guo, J., Li, B., & Wu, S. (2016). Assessment of the key aroma compounds in rose-based products. *Journal of Food and Drug Analysis*, 24(3), 471-476. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.02.013>

Supplementary materials

Supplementary Table S1: Summary table of *NUDX1-1* alleles found or not in each rose variety and their average geraniol emissions per variety. na: not available data.

Variety	Geraniol (µg/g/FW)	Allele1	Allele2	Allele3	Allele4	Allele5	Allele6	Allele7
Amour de Molène	40,19	No	Yes	No	Yes	Yes	No	No
Arthur Rimbaud	33,44	No	Yes	Yes	No	No	No	No
Belle de Clermont	21,91	No	Yes	Yes	Yes	No	No	No
Belle de Londres	100,58	No	Yes	Yes	Yes	No	No	No
Botero	202,66	No	Yes	Yes	No	No	No	No
Brocéliande	78,93	No	Yes	Yes	No	No	No	No
Caprice de Meilland	107,85	No	Yes	Yes	No	No	No	No
Chantal Mérieux	117,49	No	Yes	No	No	No	No	No
Charles de Gaulle	na	No	Yes	No	No	No	No	No
Christophe Colomb	70,62	No	Yes	No	No	Yes	No	No
Constance Spry	na	No	Yes	No	No	No	No	No
Crazy Pink Voluptia	na	No	Yes	Yes	No	No	No	No
Damas bifera	94,40	No	No	No	No	No	No	No
Félicia	71,06	No	Yes	No	No	No	No	No
Fontaine aux perles	24,72	No	Yes	Yes	No	No	No	No
Fragrant Cloud	na	No	Yes	Yes	No	No	No	No
Gertrude Jekyll	114,45	No	Yes	Yes	No	No	No	No
Graham Thomas	4,45	No	Yes	No	No	No	No	No
Indian Silk	na	No	Yes	No	No	No	No	No
Jean-Paul Guerlain	135,56	No	Yes	Yes	No	No	No	No
La Belle Alsacienne	120,54	No	Yes	No	No	No	No	No
La France	na	No	Yes	No	No	No	No	No
La France climbing	na	No	Yes	No	No	Yes	No	No
Lady Hillingdon	9,10	No	No	No	No	Yes	No	No
Leander	100,47	No	Yes	No	No	No	No	No
Line Renaud	86,16	No	Yes	No	No	No	No	No
Lorie Pester	22,88	No	Yes	Yes	No	No	No	No
Madame Anisette	11,12	No	No	No	Yes	No	No	No
Madame de Staël	97,74	No	No	No	No	No	No	Yes
Mamy blue	na	No	Yes	No	No	No	No	No
Marius Ducher	142,83	No	Yes	Yes	No	No	No	No
Mr Bluebird	na	Yes	No	No	No	No	No	No
Old Blush	na	Yes	No	No	No	No	No	No
Orientalia	203,38	No	Yes	No	No	No	No	No
Papa Meilland	54,33	No	Yes	Yes	No	No	No	No
Pariser Charme	na	No	Yes	Yes	No	No	No	No
Patchouli	14,20	Yes	Yes	Yes	No	No	No	No
Princess Kishi	19,36	No	No	No	No	No	No	Yes
Purple Voluptia	na	No	Yes	No	No	No	No	No
RADprov/Baie des anges romantica	161,76	No	Yes	No	No	No	No	No
Roberto Alagna	58,88	No	Yes	No	No	No	No	No
Rose Blush	na	No	Yes	No	No	No	Yes	No
Rosière de France	99,70	No	Yes	No	Yes	No	No	No
Ruban Rouge	1,65	No	Yes	No	No	No	No	No
Scepter d'Isle	7,99	No	Yes	No	No	No	No	No
Soleil d'or	na	No	Yes	No	No	No	No	No
Tea Clipper	54,54	No	Yes	No	Yes	No	No	No
Tess of the d'Ubervilles	84,92	No	No	Yes	Yes	No	No	No
The Mac Cartney rose	na	No	Yes	No	No	No	No	No
Université Saint Etienne	18,87	No	No	No	No	Yes	No	No
Violette Parfumée	94,75	No	Yes	No	No	No	No	No
Wabara Kaolikazali	29,13	No	Yes	Yes	Yes	No	No	No
Westerland	404,13	No	Yes	Yes	No	Yes	No	No
Wollerton Old Hall	45,62	No	Yes	No	No	No	Yes	No
Yves Piaget	87,72	No	Yes	No	Yes	No	No	No

Résultats Etude 2

Supplementary Table S2: Summary table of PAAS alleles found or not in each rose variety and their average 2PE emissions per variety. na: not available data.

Variety	2PE (µg/g/FW)	AlleleA	AlleleB	AlleleC	Allele1	Allele2	Allele3	Allele4
Amour de Molène	80,31	No	No	No	No	Yes	No	No
Arthur Rimbaud	57,84	No	No	No	Yes	Yes	No	No
Belle de Clermont	59,71	No	No	No	Yes	Yes	No	Yes
Belle de Londres	9,02	No	No	No	No	Yes	No	Yes
Botero	21,04	No	No	No	Yes	No	No	No
Brocéliande	45,95	No	No	No	No	Yes	No	No
Caprice de Meilland	0,00	No	No	No	No	No	No	No
Chantal Mérieux	0,00	No	No	No	No	No	No	No
Charles de Gaulle	na	No	No	No	No	No	No	Yes
Christophe Colomb	0,89	No	No	No	No	No	No	No
Constance Spry	na	No	No	No	No	No	No	No
Crazy Pink Voluptia	99,04	No	No	No	No	Yes	No	No
Damas bifera	411,11	No	No	No	No	No	No	No
Félicia	385,31	No	No	No	No	No	Yes	No
Fontaine aux perles	91,05	No	No	No	No	Yes	No	No
Fragrant Cloud	na	No	No	No	No	No	No	No
Gertrude Jekyll	103,71	No	No	No	No	No	No	No
Graham Thomas	174,30	No	No	No	Yes	No	No	No
Indian Silk	0,17	No	No	No	No	No	No	No
Jean-Paul Guerlain	0,86	No	No	No	No	No	No	Yes
Just Joey	na	No	No	No	Yes	No	No	No
La Belle Alsacienne	0,00	No	No	No	No	No	No	No
La France	na	No	No	No	Yes	No	No	No
La France climbing	na	No	No	No	No	No	No	No
Lady Hillingdon	0,00	No	No	No	No	No	No	No
Leander	27,36	No	No	No	Yes	Yes	No	No
Line Renaud	58,56	No	No	No	Yes	Yes	No	No
Lorie Pester	35,78	No	No	No	No	Yes	Yes	No
Madame Anisette	0,59	No	No	No	No	No	No	No
Madame de Staël	54,38	No	No	No	Yes	Yes	Yes	No
Mamy blue	na	No	No	No	No	No	No	Yes
Marius Ducher	0,00	No	No	No	No	No	No	No
Moonwalk	29,30	No	No	No	Yes	No	No	No
Mr Bluebird	75,73	No	No	No	No	No	No	No
Old Blush	5,16	No	No	Yes	No	No	No	No
Olij Jaune	63,52	No	No	No	Yes	No	No	No
Orientalia	0,32	No	No	No	No	No	No	No
Papa Meilland	17,10	No	No	No	Yes	No	No	No
Pariser Charme	17,10	No	No	No	No	No	No	No
Patchouli	131,68	No	No	No	No	No	Yes	No
Princess Kishi	89,70	No	No	No	No	Yes	No	No
Purple Voluptia	180,02	No	No	No	No	No	No	No
RADprov/Baie des anges romantica	24,42	No	No	No	No	No	No	Yes
Roberto Alagna	8,25	No	No	No	No	Yes	Yes	No
Rosa wichurana	108,23	Yes	Yes	No	No	No	No	No
Rose Blush	na	No	No	No	No	No	No	No
Rosière de France	151,30	No	No	No	No	Yes	No	No
Ruban Rouge	9,30	No	No	No	No	No	No	No
Scepter d'Isle	1,14	No	No	No	Yes	No	No	No
Soleil d'or	na	No	No	No	No	No	Yes	No
Sweet Dream	300,28	No	No	No	No	No	Yes	No
Tea Clipper	24,43	No	No	No	Yes	Yes	No	No
Tess of the d'Ubervilles	45,25	No	No	No	Yes	No	No	No
The Mac Cartney rose	na	No	No	No	Yes	No	No	No
Université Saint Etienne	0,00	No	No	No	No	No	No	No
Violette Parfumée	0,14	No	No	No	No	No	No	No
Wabara Kaolikazali	133,26	No	No	No	No	Yes	No	No
Westerland	79,28	No	No	No	Yes	Yes	Yes	No
Wollerton Old Hall	17,42	No	No	No	Yes	No	No	No
Yves Piaget	28,60	No	No	No	Yes	No	No	No

Résultats Etude 2

Supplementary Table S2 (continued)

Variety	ZPE (µg/g/FW)	Allele5	Allele6	Allele7	Allele8	Allele9	Allele10	Allele11	Allele12
Amour de Molène	80,31	No	No	No	No	No	No	No	No
Arthur Rimbaud	57,84	Yes	No	No	No	No	No	No	No
Belle de Clermont	59,71	No	No	No	No	No	No	No	No
Belle de Londres	9,02	No	No	Yes	No	No	No	Yes	No
Botero	21,04	No	No	No	No	No	No	No	No
Brocéliande	45,95	No	No	No	No	No	No	No	No
Caprice de Meilland	0,00	No	No	No	No	No	No	No	No
Chantal Mérieux	0,00	No	No	No	No	No	No	No	No
Charles de Gaulle	na	No	No	No	No	No	No	No	No
Christophe Colomb	0,89	No	Yes	No	No	No	No	No	No
Constance Spry	na	No	No	No	No	Yes	No	No	No
Crazy Pink Voluptia	99,04	No	No	No	No	No	No	No	No
Damas bifera	411,11	No	No	No	No	Yes	No	No	Yes
Félicia	385,31	No	No	No	No	No	Yes	No	No
Fontaine aux perles	91,05	No	No	No	No	No	No	No	No
Fragrant Cloud	na	No	No	No	No	No	No	No	No
Gertrude Jekyll	103,71	No	No	No	Yes	No	No	No	No
Graham Thomas	174,30	No	No	No	No	No	No	No	No
Indian Silk	0,17	No	No	No	No	No	No	No	No
Jean-Paul Guerlain	0,86	No	No	No	No	No	No	No	No
Just Joey	na	No	No	No	No	No	No	No	No
La Belle Alsacienne	0,00	No	No	No	No	No	No	No	No
La France	na	No	No	No	No	No	No	No	No
La France climbing	na	No	Yes	No	No	No	No	No	No
Lady Hillingdon	0,00	No	No	No	No	No	No	No	No
Leander	27,36	No	No	No	No	No	No	No	No
Line Renaud	58,56	Yes	No	No	No	No	No	No	No
Lorie Pester	35,78	No	No	No	No	No	No	No	No
Madame Anisette	0,59	No	No	No	No	No	No	No	No
Madame de Staël	54,38	Yes	No	No	No	No	No	No	No
Mamy blue	na	No	No	No	No	No	No	No	No
Marius Ducher	0,00	No	No	No	No	No	No	No	No
Moonwalk	29,30	No	No	No	No	No	No	No	No
Mr Bluebird	75,73	No	No	No	No	No	No	No	No
Old Blush	5,16	No	No	No	No	No	No	No	No
Olij Jaune	63,52	No	No	No	No	No	No	No	No
Orientalia	0,32	No	No	No	No	No	Yes	No	No
Papa Meilland	17,10	No	No	No	No	No	No	No	No
Pariser Charme	17,10	No	No	No	No	No	No	No	No
Patchouli	131,68	No	No	No	No	No	No	No	No
Princess Kishi	89,70	No	No	No	No	No	No	No	No
Purple Voluptia	180,02	No	No	No	Yes	No	No	No	No
RADprov/Baie des anges romantica	24,42	No	No	No	No	No	No	No	No
Roberto Alagna	8,25	Yes	No	No	No	No	No	No	No
Rosa wichurana	108,23	No	No	No	No	No	No	No	No
Rose Blush	na	No	No	No	No	No	No	No	No
Rosière de France	151,30	No	No	No	No	No	No	No	No
Ruban Rouge	9,30	No	No	Yes	No	No	No	Yes	No
Scepter d'Isle	1,14	No	No	No	No	No	No	No	No
Soleil d'or	na	No	No	No	No	No	No	No	No
Sweet Dream	300,28	No	No	No	No	No	No	No	No
Tea Clipper	24,43	No	No	No	No	No	No	No	No
Tess of the d'Ubevilles	45,25	No	No	No	No	No	No	No	No
The Mac Cartney rose	na	No	No	No	No	No	No	No	No
Université Saint Etienne	0,00	No	Yes	No	No	No	No	No	No
Violette Parfumée	0,14	No	Yes	No	No	No	No	No	No
Wabara Kaolikazali	133,26	No	No	No	No	No	No	No	No
Westerland	79,28	No	No	No	No	No	No	No	No
Wollerton Old Hall	17,42	No	No	No	No	No	No	No	No
Yves Piaget	28,60	No	No	No	No	No	No	No	No

Discussion et conclusion

Discussion

I] Composés impliqués dans la perception plaisante de l'odeur de la rose

A] Rappel et discussion des résultats

1) Confirmation du rôle du 2PE dans l'odeur de rose et des monoterpènes à odeur de fruit

Le parfum de la rose est composé de plusieurs centaines de molécules mais les composés majoritaires sont des monoterpènes et des phénylpropanoïdes, dont le 2PE. Ces derniers, et particulièrement le 2PE, sont caractéristiques de l'odeur de rose dite « classique ». Les odeurs des monoterpènes sont variées. Certains ont une odeur florale rosée et d'autres parfois fruitée, citronnée (Z. Xiao et al., 2017; Zhao et al., 2016). Dans notre étude expérimentale, nous avons fait sentir à un panel de participants des odorants monomoléculaires, dont le 2PE, et certains monoterpènes dont le géraniol, le citronellol, le nérol et le citral. Nous avons pu confirmer le rôle du 2PE dans la perception de l'odeur de rose (Feng et al., 2010; Ren et al., 2016; Zhao et al., 2016) et le rôle des monoterpènes dans la perception de l'odeur de fruit mais aussi de rose (géraniol et nérol) (Elsharif & Buettner, 2018; Feng et al., 2010; L. Zhou et al., 2020a). Nous avons également fait sentir à notre panel 10 roses fraîchement cueillies. Dans ce contexte, nous avons mis en évidence une corrélation entre la quantité de phénylpropanoïdes et la perception de l'odeur de rose. Nous avons également montré que la quantité de nérol, géraniol et géraniol était corrélée à la perception de l'odeur fruitée des roses fraîches.

Ainsi, l'odeur de rose fraîche est composée à la fois de l'odeur caractéristique de rose grâce, au moins en partie, au 2PE. En effet, plus sa quantité est importante, plus la fleur sentira la rose. Cette odeur est également perçue grâce à la quantité de monoterpènes apportant d'autres notes (fruités et florales). L'ensemble, ainsi que d'autres molécules (voir ci-dessous) conduisent à une perception configurale et complexe de l'odeur de rose.

2) Rôle des ionones et des oxylipines dans la perception de l'odeur de rose

Nous avons montré une relation positive entre la quantité de ionones émises par les roses et leur perception florale, ainsi que leur perception caractéristique de rose. Ces résultats concordent avec ceux décrits dans la littérature, qui décrivent les ionones comme ayant une odeur florale, souvent associée à la violette mais pas seulement (Jaeger et al., 2013; Luparia et al., 2009; Paparella et al., 2021). Leurs noms seraient d'ailleurs issus de la contraction des mots

« *iona* » (« violette » en grec) et cétone, leur odeur étant déjà présente dans les références de descriptions olfactives au 16^{ème} siècle (Petroianu, 2021). En effet, les ionones, avec entre autres certaines damascénones, sont très largement utilisées aujourd'hui en parfumerie (Pybus & Sell, 2007).

De manière intéressante, un rôle inattendu des oxylipines dans la perception de rose mais également dans la perception plaisante de l'odeur a également été montré. En effet, ces molécules sont généralement plutôt associées aux termes de « green odors », avec des notes herbacées et fraîches. Par exemple, le (Z)-3-hexénol, senti de manière isolée, évoque une odeur d'herbe coupée, assez éloignée de la rose (Hatanaka, 1996; McRae et al., 2012; Oyama-Okubo & Tsuji, 2013).

Témoignages apportés par des parfumeurs professionnels sur l'importance des oxylipines dans la perception de l'odeur de rose

Dans le but d'obtenir des informations supplémentaires quant à l'apport bénéfique des oxylipines dans l'odeur de rose, j'ai eu l'opportunité d'échanger auprès de deux parfumeurs, Jean-Charles Sommerard, de 'La maison Sevensence' et Patrice Revillard de 'Maelstrom'. Jean-Charles Sommerard est spécialiste d'aromathérapie et d'huiles essentielles. Selon lui, les composés phares du parfum de la rose sont le 2PE, le citronellol, le géraniol, l'eugénol, le linalol, la damascénone, le rodinole mais également la β -ionone et le (Z)-3-hexénol. D'après lui, le (Z)-3-hexénol apporte un côté « naturaliste » à l'odeur de rose.

Patrice Revillard, a également souligné l'impact majeur des notes vertes et épicées qui vont parfaire l'illusion d'une odeur de rose lors de sa création. Il est difficile de se passer de l'odeur de rose en parfumerie, elle-même incontournable, celle-ci étant souvent adorée et intimement liée avec la symbolique qu'elle porte. Selon lui, un modèle simplifié de l'odeur de rose n'est pas suffisant pour retrouver l'odeur particulière de la rose. Il est possible pour lui de se détacher du géraniol et du citronellol lors de la création de l'odeur de rose, par exemple en se basant sur l'utilisation d'oxydes de rose, qui apportent une note rose et verte très populaire et moderne au parfum de rose. Les notes vertes, de fraîcheur sont très importantes lors de l'élaboration d'un parfum de rose. Toutefois, Patrice Revillard a également souligné les différences de représentation des parfums au cours du temps, dont celui de la rose, avec des descriptions anciennes et modernes qui n'évoqueraient pas le même parfum (de Nicolai, 2008).

3) Composés isolés ou mélanges de composés, même perception ?

Ainsi, l'odeur naturelle de rose provient de mélanges de substances odorantes (2PE, géraniol, citronellol, nérol, ionones, oxylipines, etc.). Au sein de ce mélange, certains composés sont perçus de manière "élémentaire", comme dans le cas du 2PE, composé odorant étant identifiable dans le mélange, ou encore le géraniol et les ionones ; tandis que d'autres sont perçus de manière "configurale", comme dans la perception olfactive des oxylipines, le mélange adoptant une qualité perceptive distincte de ses composants (ils ne sont plus identifiables). Les oxylipines pourraient donc apporter des notes rosées spécifiquement aux roses fraîches, et non plus une odeur fraîche herbacée lorsqu'isolées. Aussi, les quantités de composés dans un mélange et leurs concentrations participent à la modulation de la perception olfactive du mélange (Boyle et al., 2009). En effet, en modifiant la concentration d'un seul composé dans un mélange, celui-ci peut moduler son parfum en modifiant par exemple sa valeur hédonique (Boyle et al., 2009). La perception de l'odeur de rose peut être amenée via différentes formes de celle-ci : roses fraîches, HE, mélange simplifié ou encore odorants monomoléculaires. Comme vu en introduction générale de cette thèse, les perceptions de ces différentes formes peuvent être différentes et soulignent l'idée d'une complexité de parfum. Cependant, le mélange complexe d'odeur de rose est toujours perçu comme agréable (Kim et al., 2016; Tomi et al., 2017).

Enfin, l'expertise influence la perception d'odeurs complexes dans le sens où les aptitudes à discriminer des identités chimiques dans un mélange sont améliorées (Gourévitch et al., 2010; Martin et al., 2007; Wu et al., 2020). Ainsi, les parfumeurs, experts, pourraient sans doute être plus à même de discriminer et de reconnaître les oxylipines présentes dans l'odeur de rose.

4) Impact positif de l'odeur de rose

Les participants qui ont reporté dans notre étude un impact positif de l'odeur de rose dans leurs descriptions verbales sont ceux ayant tendance à noter les roses fraîchement cueillies comme plus attractives. Nos données peuvent être mises au regard de celles issues de l'étude de Buckle en 2001, rapportant le cas intéressant de Mme H et son lien étroit avec l'odeur de rose, qui est un exemple de l'impact positif de l'odeur de rose : *“Mme H. était une femme de 85 ans souffrant de dépression. Beaucoup de ses amis étaient morts et elle vivait dans une maison de retraite, loin de sa famille qui ne lui rendait pas souvent visite. Elle ne dormait pas bien et était sujette à l'hyperventilation et aux palpitations. Elle aimait l'odeur des roses, qui lui*

rappelait le jardin de roses qu'elle avait du vivant de son mari. Deux gouttes de rose ont été inhalées sur un mouchoir en papier aux huiles essentielles quatre fois par jour. Au bout d'une semaine, elle souriait, dormait mieux et discutait de la façon dont elle pourrait s'occuper des plantes d'intérieur de l'établissement.” (Buckle, 2001; Perry & Perry, 2006). Ces données sont cohérentes avec la présence d'oxylipines dans les composés émis de la rose, dont on connaît l'impact positif sur le bien-être. En effet, les green odors, dont les oxylipines mentionnées dans cette thèse, ont déjà été démontrées comme ayant des propriétés anxiolytiques, antidépressives, anti-stress et antifatigues, que ce soit chez le rongeur et chez l'humain (Ito et al., 2009; Nakatomi et al., 2008; Saito et al., 2018; Sano, 2002; Tokumo et al., 2006; Ueno et al., 2020; Watanabe et al., 2011).

5) *Lien entre hédonique et bien-être : aimons-nous l'odeur de rose parce qu'elle nous fait du bien ?*

L'organisation mondiale de la santé définit le bien-être comme « un état positif ressenti par les individus et les sociétés (World Health Organization, 2021). Lorsque nous sentons une rose, nous pouvons déterminer son caractère hédonique qui fait référence à son caractère plaisant en général. Cette perception positive va pouvoir engendrer un état positif ressenti par l'individu. En effet, l'odeur de rose est une odeur plaisante (notamment via l'émission de 2PE, citronellol, géraniol, β -ionone, (Z)-3-hexénol) et a un effet anxiolytique, relaxant, par les oxylipines dont on sait qu'elles sont associées à une amélioration d'un état de bien-être. Nous pouvons donc nous poser la question de savoir si l'odeur de rose est plaisante justement parce que son inhalation induit un état de bien-être, celle-ci ayant un fort impact sur l'humeur, le stress et les émotions (David et al., 2019; Dmitrenko et al., 2020; Tomi et al., 2017; Weber & Heuberger, 2008).

B] Perspectives

Nous avons confirmé les rôles du 2PE et de certains monoterpènes dans la perception de l'odeur de rose, ce qui valide nos résultats. Cependant, il semble nécessaire de reproduire l'expérience principale de ma thèse et d'étendre les résultats obtenus avec d'autres fleurs parfumées pour confirmer les corrélations entre la quantité d'oxylipines et la perception de la rose et son caractère plaisant. En complément des odorants monomoléculaires déjà testés, il serait intéressant également d'ajouter plusieurs oxylipines, autres que le (Z)-3-hexénol, tels que les (E)-2-hexénol, (E)-2-hexényl acétate, (Z)-3-hexényl acétate, 2-hexanol, 3-hexanol, (E)-3-

hexénol, hexanal, hexyl acétate, 1-hexanol et le (*E*)-2-hexénal, mises en évidence avec mes résultats de thèse, afin d'étudier leur effet sur le comportement des participants, d'un point de vue psychophysique et moteur, à travers des mesures de vitesse et distance de trajectoire entre ces nouvelles odeurs et le participant. Aussi, en plus des roses fraîchement cueillies et des odorants monomoléculaires, l'utilisation d'un mélange de composés simplifié, comme celui proposé par Weiss et collaborateurs, serait un bon moyen d'étudier la transition entre les perceptions des composés isolés et celles issues d'un mélange complexe, avec un contrôle particulier du choix des composés du mélange simplifié et de leur concentration (T. Weiss et al., 2012). Cette expérimentation nous permettrait d'évaluer l'effet de la complexité de l'odeur ainsi que des interactions, en partie contrôlées, entre molécules, sur la perception olfactive plaisante de l'odeur de rose.

Sur la base des réponses de participants, notre étude a pu mettre en évidence non pas une mais plusieurs odeurs de rose. Bien que les spectres biochimiques des roses étudiées obtenus en GC-MS nous ont permis de voir que nous avons couvert une grande partie de la diversité des composés du parfum de la rose, un nombre d'échantillon plus important nous permettrait de balayer encore plus largement les COV émis, par exemple des roses à odeur de myrrhe (Joichi et al., 2010) ou à odeurs boisées, épicées (Zhou et al., 2020b). Aussi, pour réaliser des analyses prédictives entre émission (présence/quantité) de COV et perception et/ou comportement moteur, un plus grand nombre de fleurs pourrait être testé.

Les roses émettent leur parfum de manière cyclique, le parfum évoluant au cours de la journée. Les expériences sont également soumises aux contraintes météorologiques, le parfum de la rose étant plus fort lors d'une journée chaude et ensoleillée. Enfin, les stimulations olfactives ne doivent pas être trop nombreuses pour un seul et même participant, afin d'éviter la saturation des récepteurs olfactifs et une gêne occasionnée. Ces paramètres devront être pris en compte lors du design des futures expériences, en ayant des horaires matinaux précis d'expérimentation et en gardant à peu près le même nombre d'odorants qu'utilisés lors de notre expérience.

Afin d'étudier la spécificité de l'odeur de rose, il serait intéressant de renouveler l'expérience en y ajoutant une ou des fleurs odorantes autres que la rose. Aimons-nous particulièrement l'odeur de rose par rapport à l'odeur de fleurs en général ? Étant donné que ce sont particulièrement l'émission et la quantité d'oxylipines qui permettent aux roses leur agréable et singulier parfum, nous pouvons nous demander si toutes les autres fleurs émettant des oxylipines présenteraient des propriétés similaires, ou évaluer si les fleurs qui n'en émettent pas sont moins bien notées sur les mêmes échelles.

Enfin, bien que l'odeur soit un critère important dans le bien-être induit par la rose, cette dernière est appréciée pour d'autres caractéristiques, comme son esthétique. Dans notre étude, nous nous sommes affranchies du caractère esthétique de la rose afin d'étudier uniquement son odeur et ainsi de comparer différentes variétés de roses sur ce critère seulement. Ceci-dit, il serait intéressant par la suite de prendre en compte cette considération visuelle dans le but de mieux comprendre comment la perception hédonique de l'odeur de rose est influencée par l'esthétique de la fleur. Les résultats obtenus en perception olfactive de la rose pourraient être complétés par l'étude des bases neurales sous-tendant cette perception. Comme expliqué en introduction de cette thèse, il existe déjà plusieurs études utilisant des méthodes d'imagerie cérébrale mettant en avant certaines aires cérébrales impliquées dans le codage de la perception de composés issus du parfum de la rose comme le 2PE, le géraniol et le citral entre autres (Anderson et al., 2003; Bensafi et al., 2012; W. Xiao et al., 2020a). Cependant, avec une perception hédonique similaire entre roses fraîches et composés, nous pouvons faire l'hypothèse selon laquelle une rose fraîchement cueillie active, au moins en partie, les mêmes aires cérébrales. Il serait intéressant d'analyser les réseaux sous-tendant le comportement émotionnel, comme ceux impliquant l'amygdale, l'hippocampe, le cortex orbitofrontal, et le striatum ventral, entre autres, (Athanassi et al., 2021; Croy & Hummel, 2017) ; le caractère hédonique, avec l'étude de l'activité du bulbe olfactif, du tubercule olfactif, de l'amygdale, du gyrus cingulaire antérieur et de l'insula (Anderson et al., 2003; Bensafi et al., 2012; de Araujo et al., 2005; Gottfried, 2010; Grabenhorst et al., 2007; Katata et al., 2009; Kermen et al., 2016b; Midroit et al., 2021; Patin & Pause, 2015; Rolls et al., 2003) ; ou encore l'étude du circuit de la récompense, avec l'implication de l'aire tegmentale ventrale, le noyau accumbens et le cortex préfrontal (Midroit et al., 2021; Morales & Margolis, 2017; Swanson, 1982). Il serait donc intéressant d'étudier la modulation de ces régions par l'inhalation d'oxylipines et/ou de fleurs.

L'utilisation de la chromatographie en phase gazeuse couplée à l'olfactométrie (GC-O) permettrait d'étudier l'effet de la stimulation olfactive de chaque composé isolé issu d'un mélange. Cette méthode permettrait d'obtenir des informations sur le nombre de COV d'intérêt olfactif présents dans le parfum de la rose et permettrait d'établir un lien entre la composition chimique de ce parfum et la perception de ces composés. Utiliser la GC-O permettrait d'évaluer la différence de perception des composés lorsqu'ils proviennent d'un mélange ou lorsqu'il s'agit d'un odorant monomoléculaire. Par exemple, est-ce que les oxylipines isolées émises par une rose fraîchement cueillie portent également une odeur herbacée et fraîche comme le (Z)-3-hexénol en composé monomoléculaire, en plus de l'odeur de rose, comme dans les résultats que nous avons montrés ? Il existe une étude portant sur la caractérisation des composés majeurs de

différentes HE de roses via l'utilisation de la GC-O (Xiao et al., 2018). Cette étude a pu mettre en évidence les évaluations sensorielles des composés de la rose, notamment l'importance du géraniol dans les notes florales, du nérol dans les notes fraîches et du 2PE contribuant fortement à l'odeur de rose. A partir de ces données issues d'HE de rose, il serait intéressant de comparer ces résultats avec ceux issus de roses fraîches.

Enfin, nous avons montré qu'il existe une variabilité dans la perception de l'odeur de rose par les participants, avec des réponses aux évaluations d'une même rose assez différentes (entre 0 et 10) sur les échelles visuelles analogues proposées. Ce résultat nous amène à nous demander si cette variabilité de perception pourrait être liée à l'expérience que les participants ont eu avec la rose et son odeur dans le passé ou bien liée à une variabilité des gènes codant pour des récepteurs olfactifs liant les composés de la rose ? Par exemple, plusieurs gènes ont été mis en évidence dans la perception de certains composés, dont plusieurs retrouvés dans le parfum de la rose, tels que le (Z)-3-hexénol, le géraniol, le citronellol ou encore la β -ionone (Heywood, 2002; Li et al., 2021; Newcomb et al., 2012).

II] Rôle des gènes *NUDX1-1* et *PAAS* dans le parfum de la rose

A] Rappel et discussion des résultats

Dans la deuxième étude, nous avons montré une diversité allélique très faible des deux gènes, particulièrement pour *NUDX1-1*. Il est difficile pour l'instant d'expliquer cette faible diversité avec ces données mais celles-ci permettent tout de même une base de réflexion. En effet, ces résultats nous amènent à nous demander si cette faible diversité allélique est due à une pression de sélection olfactive ou matérielle : est-elle due à un nombre restreint de variétés disponibles lors des croisements faits par les obtenteurs, ou est-elle due à une sélection volontaire ou involontaire des obtenteurs par un biais olfactif ?

Par exemple, chez le riz, l'odeur est également une caractéristique très importante et une faible diversité allélique du gène *BADH2* a été observée, avec un allèle prédominant, le *badh2.1*, exprimé notamment chez les types de riz très parfumé comme le riz Basmati ou Jasmin (Kovach et al., 2009). L'étude de l'origine du parfum chez le riz à travers des analyses des haplotypes a permis de retracer son origine et son évolution à travers les différentes variétés de riz, parfumées ou non. Des évidences basées sur l'étude de polymorphisme nucléotidique chez différentes espèces ont ensuite été apportées quelques années après, mettant en avant une origine unique de domestication du riz parfumé, cultivé pour la première fois en Chine il y a entre 8.200 et

13.500 ans (Molina et al., 2011). Ces données tendent vers une explication de sélection du riz sur la base du parfum et non du matériel.

B] Perspectives

Nous avons pu identifier différents allèles de *NUDX1-1* et *PAAS* dont certains sont retrouvés dans une grande majorité des variétés parfumées. Il pourrait donc être intéressant de procéder à des analyses similaires à celles faites chez le riz cette fois chez le rosier, pour pouvoir répondre à la problématique de la sélection olfactive ou matérielle chez la rose.

L'analyse de l'expression des gènes *NUDX1-1* et *PAAS* nous permettrait de voir si tous les allèles que nous avons trouvés sont réellement fonctionnels ou différents en termes d'expression. Aussi, des analyses complémentaires sur les séquences alléliques d'autres gènes retrouvés de manière intrinsèque chez toutes les variétés testées, sont nécessaires. Par exemple via l'étude du gène codant pour la synthèse de la tubuline, impliquée dans la construction structurale des microtubules et du cytosquelette, ou d'autres gènes dont on suppose qu'ils ne sont pas sélectionnés. Ainsi, si une faible diversité allélique est également observée, nous pourrions alors conclure nos résultats initiaux par une disponibilité réduite de parents ayant été utilisés pour les croisements des variétés modernes des roses que nous avons sélectionnées. Inversement, si une forte diversité allélique est observée pour le gène de la tubuline, nos données pourraient être expliquées par une sélection du rosier sur critère olfactif.

Conclusion

I] Contribution de mes résultats dans les domaines de l'olfaction et de la génétique des plantes

Mon étude principale a permis d'élaborer un protocole de stimulations olfactives issues de matériel biologique complexe, à travers la prise en compte des différentes contraintes biologiques et logistiques sous-jacentes, telles que des contraintes météorologiques, saisonnières, de floraisons simultanées par exemple. Le protocole a été réalisé une première fois au début de ma thèse puis validé à travers les résultats de l'étude présentés dans ce manuscrit. Aussi, elle nous a permis de mettre en lumière les molécules ou groupes de molécules responsables de son odeur plaisante et spécifique de rose.

Les résultats obtenus sur la diversité allélique des gènes *NUDX1-1* et *PAAS* ont également permis de constater la très faible diversité génétique des cultivars de rosier, du moins dans l'étude de deux gènes impliqués dans le parfum de la plante. Cette étude nous a également

permis de mettre en évidence un ou plusieurs allèles retrouvés dans une grande majorité de variétés.

II] Contribution de mes résultats dans le domaine industriel du secteur horticole

Nous avons souligné l'importance de certains composés de la rose dans sa perception hédonique ainsi que dans sa spécificité d'odeur de rose. Aujourd'hui, il est assez difficile pour les rosiéristes de créer une rose répondant à la fois aux critères esthétiques, de résistance aux maladies, de tenue en vase et olfactifs. Nos données nous ont permis de souligner l'importance de molécules importantes pour l'aspect olfactif que le secteur horticole pourrait prendre en compte. En mettant en avant les catégories de molécules telles que les monoterpènes, les phénylpropanoïdes, les ionones et les oxylipines ainsi que les gènes associés à leurs expressions, le critère olfactif tendrait à être un peu plus contrôlé. Par exemple, au-delà de traiter le caractère parfumé dans son ensemble, parfumé ou non, le personnel horticole pourrait considérer que l'odeur est un ensemble de caractères, chaque molécule (ou groupe de molécules) pouvant être évaluée séparément grâce à des analyses chimiques, ce qui permettrait une analyse plus précise du caractère parfumé de leurs cultivars. Cette méthode pourrait également être utilisée pour la sélection d'un type de molécules particulièrement intéressantes, comme les oxylipines. Les voies de biosynthèse de ces composés ne sont pas encore élucidées chez la rose et il serait intéressant d'étudier les gènes impliqués dans ces voies. Ces études permettraient de déterminer s'il existe une diversité allélique qui pourrait expliquer les quantités différentes d'oxylipines dans les cultivars. Des schémas de sélection assistée par marqueur basés sur les gènes des voies de biosynthèse pourraient alors être envisagés (Hasan et al., 2021).

III] Contribution de mes résultats dans les domaines autres que la recherche fondamentale

Enfin, la contribution apportée par mon travail de thèse pourrait être bénéfique pour des secteurs autres que la recherche fondamentale telle que la botanique avec une meilleure compréhension de certaines bases du parfum de la rose et des allèles retrouvés dans plusieurs variétés de roses modernes ; la parfumerie avec la spécificité de l'odeur de rose apportée par les catégories de molécules ou composés individuels mentionnés plus haut ; ou encore l'aromathérapie, avec notamment l'étude des bienfaits de l'odeur de rose, et particulièrement son huile essentielle, sur le bien-être.

Références

Références

- Abbasijahromi, A., Hojati, H., Nikooei, S., Jahromi, H. K., Dowlatkhah, H. R., Zarean, V., Farzaneh, M., & Kalavani, A. (2020). Compare the effect of aromatherapy using lavender and Damask rose essential oils on the level of anxiety and severity of pain following C-section : A double-blinded randomized clinical trial. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 17(3), 20190141. <https://doi.org/10.1515/jcim-2019-0141>
- Ache, B. W., & Young, J. M. (2005). Olfaction : Diverse Species, Conserved Principles. *Neuron*, 48(3), 417- 430. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2005.10.022>
- Agster, K. L., Fortin, N. J., & Eichenbaum, H. (2002). The Hippocampus and Disambiguation of Overlapping Sequences. *Journal of Neuroscience*, 22(13), 5760- 5768. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-13-05760.2002>
- Ali, B., Al-Wabel, N. A., Shams, S., Ahamad, A., Khan, S. A., & Anwar, F. (2015). Essential oils used in aromatherapy : A systemic review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(8), 601- 611. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.05.007>
- Alig, M., & Frischknecht, R. (2018). *Life Cycle Assessment Cut Roses*.
- Alsters, P. L., Jary, W., Nardello-Rataj, V., & Aubry, J.-M. (2010). “Dark” Singlet Oxygenation of β -Citronellol : A Key Step in the Manufacture of Rose Oxide. *Organic Process Research & Development*, 14(1), 259- 262. <https://doi.org/10.1021/op900076g>
- Ambert, V. (2021, février 9). La face sombre des bouquets : L’impact environnemental des fleurs coupées. *Youmatter*. <https://youmatter.world/fr/la-face-sombre-des-bouquets-impact-environnemental-impact-fleurs-coupees/>
- Anderson, A. K., Christoff, K., Stappen, I., Panitz, D., Ghahremani, D. G., Glover, G., Gabrieli, J. D. E., & Sobel, N. (2003). Dissociated neural representations of intensity and valence in human olfaction. *Nature Neuroscience*, 6(2), 196- 202. <https://doi.org/10.1038/nn1001>
- Aqrabawi, A. J., & Kim, J. C. (2020). Olfactory memory representations are stored in the anterior olfactory nucleus. *Nature Communications*, 11(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15032-2>
- Arshamian, A., Gerkin, R. C., Kruspe, N., Wnuk, E., Floyd, S., O’Meara, C., Garrido Rodriguez, G., Lundström, J. N., Mainland, J. D., & Majid, A. (2022). The perception of odor pleasantness is shared across cultures. *Current Biology*, 32(9), 2061-2066.e3. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2022.02.062>
- Athanassi, A., Dorado Doncel, R., Bath, K. G., & Mandairon, N. (2021). Relationship between depression and olfactory sensory function : A review. *Chemical Senses*, 46, bjab044. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjab044>
- Attia, T. M., & Hamdan, A. M. (2021). Assessment of the difference in detection of pleasant and unpleasant odors in different grades of hyposmia. *The Egyptian Journal of Otolaryngology*, 37(1), 18. <https://doi.org/10.1186/s43163-021-00070-4>
- Banerjee, A., Parente, G., Teutsch, J., Lewis, C., Voigt, F. F., & Helmchen, F. (2020). Value-guided remapping of sensory cortex by lateral orbitofrontal cortex. *Nature*, 585(7824), Article 7824. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2704-z>
- Barnes, D. C., Hofacer, R. D., Zaman, A. R., Rennaker, R. L., & Wilson, D. A. (2008). Olfactory perceptual stability and discrimination. *Nature Neuroscience*, 11(12), 1378- 1380. <https://doi.org/10.1038/nn.2217>

Références

- Bensafi, M., Iannilli, E., Poncelet, J., Seo, H.-S., Gerber, J., Rouby, C., & Hummel, T. (2012). Dissociated Representations of Pleasant and Unpleasant Olfacto-Trigeminal Mixtures : An fMRI Study. *PLoS ONE*, 7(6), e38358. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038358>
- Bensafi, M., Rouby, C., Farget, V., Bertrand, B., Vigouroux, M., & Holley, A. (2002a). Influence of affective and cognitive judgments on autonomic parameters during inhalation of pleasant and unpleasant odors in humans. *Neuroscience Letters*, 319(3), 162- 166. [https://doi.org/10.1016/S0304-3940\(01\)02572-1](https://doi.org/10.1016/S0304-3940(01)02572-1)
- Bensafi, M., Rouby, C., Farget, V., Bertrand, B., Vigouroux, M., & Holley, A. (2002b). Psychophysiological correlates of affects in human olfaction. *Neurophysiologie Clinique/Clinical Neurophysiology*, 32(5), 326- 332. [https://doi.org/10.1016/S0987-7053\(02\)00339-8](https://doi.org/10.1016/S0987-7053(02)00339-8)
- Bensafi, M., Sobel, N., & Khan, R. M. (2007). Hedonic-Specific Activity in Piriform Cortex During Odor Imagery Mimics That During Odor Perception. *Journal of Neurophysiology*, 98(6), 3254- 3262. <https://doi.org/10.1152/jn.00349.2007>
- Bergougnot, V., Caissard, J.-C., Jullien, F., Magnard, J.-L., Scalliet, G., Cock, J. M., Hugueney, P., & Baudino, S. (2007). Both the adaxial and abaxial epidermal layers of the rose petal emit volatile scent compounds. *Planta*, 226(4), 853- 866. <https://doi.org/10.1007/s00425-007-0531-1>
- Berrah, G., & Konetzka, W. A. (1962). SELECTIVE AND REVERSIBLE INHIBITION OF THE SYNTHESIS OF BACTERIAL DEOXYRIBONUCLEIC ACID BY PHENETHYL ALCOHOL. *Journal of Bacteriology*, 83(4), 738- 744. <https://doi.org/10.1128/jb.83.4.738-744.1962>
- Bessman, M. J., Frick, D. N., & O'Handley, S. F. (1996). The MutT Proteins or "Nudix" Hydrolases, a Family of Versatile, Widely Distributed, "Housecleaning" Enzymes *. *Journal of Biological Chemistry*, 271(41), 25059- 25062. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.41.25059>
- Biella, G., & de Curtis, M. (2000). Olfactory Inputs Activate the Medial Entorhinal Cortex Via the Hippocampus. *Journal of Neurophysiology*, 83(4), 1924- 1931. <https://doi.org/10.1152/jn.2000.83.4.1924>
- Blazing, R. M., & Franks, K. M. (2020). Odor coding in piriform cortex : Mechanistic insights into distributed coding. *Current Opinion in Neurobiology*, 64, 96- 102. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2020.03.001>
- Boesveldt, S., Frasnelli, J., Gordon, A. R., & Lundström, J. N. (2010). The fish is bad : Negative food odors elicit faster and more accurate reactions than other odors. *Biological Psychology*, 84(2), 313- 317. <https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2010.03.006>
- Bolding, K. A., Nagappan, S., Han, B.-X., Wang, F., & Franks, K. M. (2020). Recurrent circuitry is required to stabilize piriform cortex odor representations across brain states. *eLife*, 9, e53125. <https://doi.org/10.7554/eLife.53125>
- Borda, A. M., Clark, D. G., Huber, D. J., Welt, B. A., & Nell, T. A. (2011). Effects of ethylene on volatile emission and fragrance in cut roses : The relationship between fragrance and vase life. *Postharvest Biology and Technology*, 59(3), 245- 252. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.09.008>
- Boyle, J. A., Djordjevic, J., Olsson, M. J., Lundstrom, J. N., & Jones-Gotman, M. (2009). The Human Brain Distinguishes between Single Odorants and Binary Mixtures. *Cerebral Cortex*, 19(1), 66- 71. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhn058>

Références

- Bozza, T., Feinstein, P., Zheng, C., & Mombaerts, P. (2002). Odorant Receptor Expression Defines Functional Units in the Mouse Olfactory System. *The Journal of Neuroscience*, 22(8), 3033- 3043. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-08-03033.2002>
- Bradley, B. F., Starkey, N. J., Brown, S. L., & Lea, R. W. (2007). The effects of prolonged rose odor inhalation in two animal models of anxiety. *Physiology & Behavior*, 92(5), 931- 938. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2007.06.023>
- Breslin, P. A. S., & Spector, A. C. (2008). Mammalian taste perception. *Current Biology*, 18(4), R148- R155. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2007.12.017>
- Brunert, D., & Rothermel, M. (2021). Extrinsic neuromodulation in the rodent olfactory bulb. *Cell and Tissue Research*, 383(1), 507- 524. <https://doi.org/10.1007/s00441-020-03365-9>
- Buckle, J. (2001). THE ROLE OF AROMATHERAPY IN NURSING CARE. *Nursing Clinics of North America*, 36(1), 57- 72. [https://doi.org/10.1016/S0029-6465\(22\)02529-4](https://doi.org/10.1016/S0029-6465(22)02529-4)
- Cabanac, M. (2002). What is emotion? *Behavioural Processes*, 60(2), 69- 83. [https://doi.org/10.1016/S0376-6357\(02\)00078-5](https://doi.org/10.1016/S0376-6357(02)00078-5)
- Cairns, T. (2003). *Classification* (A Roberts, T Debener S Gudin, p. 117- 123). Elsevier.
- Caissard, J.-C., Adrar, I., Conart, C., Paramita, S. N., & Baudino, S. (2022). Do we really know the scent of roses? *Botany Letters*, 1- 12. <https://doi.org/10.1080/23818107.2022.2160807>
- Caissard, J.-C., Bergougnoux, V., Martin, M., Mauriat, M., & Baudino, S. (2006). Chemical and Histochemical Analysis of 'Quatre Saisons Blanc Mousseux', a Moss Rose of the Rosa × damascena Group. *Annals of Botany*, 97(2), 231- 238. <https://doi.org/10.1093/aob/mcj034>
- Cantone, E., Ricciardiello, F., Cuofano, R., Castagna, G., Oliva, F., Sequino, G., Abate, T., Villani, R., & Iengo, M. (2017). The human sense of smell. *Translational Medicine Reports*, 1(2), Article 2. <https://doi.org/10.4081/tmr.6579>
- Caser, M., & Scariot, V. (2022). The Contribution of Volatile Organic Compounds (VOCs) Emitted by Petals and Pollen to the Scent of Garden Roses. *Horticulturae*, 8(11), Article 11. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8111049>
- Chalençon, L., Thevenet, M., Noury, N., Bensafi, M., & Mandairon, N. (2022). Identification of new behavioral parameters to assess odorant hedonic value in humans : A naturalistic approach. *Journal of Neuroscience Methods*, 366, 109422. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2021.109422>
- Chen, X.-M., Kobayashi, H., Sakai, M., Hirata, H., Asai, T., Ohnishi, T., Baldermann, S., & Watanabe, N. (2011). Functional characterization of rose phenylacetaldehyde reductase (PAR), an enzyme involved in the biosynthesis of the scent compound 2-phenylethanol. *Journal of Plant Physiology*, 168(2), 88- 95. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2010.06.011>
- Cleland, T. A., Johnson, B. A., Leon, M., & Linster, C. (2007). Relational representation in the olfactory system. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(6), 1953- 1958. <https://doi.org/10.1073/pnas.0608564104>
- Conart, C. (2022). *Origin and evolution of geraniol biosynthesis in rose petals*.
- Conart, C., Saclier, N., Foucher, F., Goubert, C., Rius-Bony, A., Paramita, S. N., Moja, S., Thouroude, T., Douady, C., Sun, P., Nairaud, B., Saint-Marcoux, D., Bahut, M., Jeauffre, J., Hibrand Saint-Oyant, L., Schuurink, R. C., Magnard, J.-L., Boachon, B., Dudareva, N., ... Caissard, J.-C. (2022). Duplication and Specialization of NUDX1 in Rosaceae Led to Geraniol Production in Rose Petals. *Molecular Biology and Evolution*, 39(2), msac002. <https://doi.org/10.1093/molbev/msac002>

Références

- Coureaud, G., Charra, R., Datiche, F., Sinding, C., Thomas-Danguin, T., Languille, S., Hars, B., & Schaal, B. (2010). A pheromone to behave, a pheromone to learn : The rabbit mammary pheromone. *Journal of Comparative Physiology A*, 196(10), 779- 790. <https://doi.org/10.1007/s00359-010-0548-y>
- Coureaud, G., Thomas-Danguin, T., Sandoz, J.-C., & Wilson, D. A. (2022). Biological constraints on configural odour mixture perception. *Journal of Experimental Biology*, 225(6), jeb242274. <https://doi.org/10.1242/jeb.242274>
- Courtjol, E., & Wilson, D. (2015). The olfactory thalamus : Unanswered questions about the role of the mediodorsal thalamic nucleus in olfaction. *Frontiers in Neural Circuits*, 9. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fncir.2015.00049>
- Craske, M. G., Rauch, S. L., Ursano, R., Prenoveau, J., Pine, D. S., & Zinbarg, R. E. (2011). What Is an Anxiety Disorder? *FOCUS*, 9(3), 369- 388. <https://doi.org/10.1176/foc.9.3.foc369>
- Croy, I., & Hummel, T. (2017). Olfaction as a marker for depression. *Journal of neurology*, 264(4), 631- 638. <https://doi.org/10.1007/s00415-016-8227-8>
- Croy, I., Maboshe, W., & Hummel, T. (2013). Habituation effects of pleasant and unpleasant odors. *International Journal of Psychophysiology*, 88(1), 104- 108. <https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2013.02.005>
- Dagli, R., Avcu, M., Metin, M., Kiymaz, S., & Ciftci, H. (2019). The effects of aromatherapy using rose oil (*Rosa damascena* Mill.) on preoperative anxiety : A prospective randomized clinical trial. *European Journal of Integrative Medicine*, 26, 37- 42. <https://doi.org/10.1016/j.eujim.2019.01.006>
- Daneshpajoo, L., Najafi Ghezeli, T., & Haghani, H. (2019). Comparison of the effects of inhalation aromatherapy using Damask Rose aroma and the Benson relaxation technique in burn patients : A randomized clinical trial. *Burns*, 45(5), 1205- 1214. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2019.03.001>
- David, O. A., David, D. O., Mogoase, C., Popescu, L. C., Giosan, C., & Pellegrino, A. (2019). Psychological effects and brain correlates of a rose-based scented cosmetic cream. *Journal of Sensory Studies*, 34(6). <https://doi.org/10.1111/joss.12536>
- de Almeida, R. N., Motta, S. C., de Brito Faturi, C., Catallani, B., & Leite, J. R. (2004). Anxiolytic-like effects of rose oil inhalation on the elevated plus-maze test in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 77(2), 361-364. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2003.11.004>
- de Araujo, I. E., Rolls, E. T., Velazco, M. I., Margot, C., & Cayeux, I. (2005). Cognitive Modulation of Olfactory Processing. *Neuron*, 46(4), 671-679. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2005.04.021>
- Debray, K., Le Paslier, M.-C., Bérard, A., Thouroude, T., Michel, G., Marie-Magdelaine, J., Bruneau, A., Foucher, F., & Malécot, V. (2022). Unveiling the Patterns of Reticulated Evolutionary Processes with Phylogenomics : Hybridization and Polyploidy in the Genus *Rosa*. *Systematic Biology*, 71(3), 547-569. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syab064>
- Dehkordi, A. K., Tayebi, A., Ebadi, A., Sahraei, H., & Einollahi, B. (2017). Effects of Aromatherapy Using the Damask Rose Essential Oil on Depression, Anxiety, and Stress in Hemodialysis Patients : A Clinical Trial. *Nephro-Urology Monthly*, 9(6). <https://doi.org/10.5812/numonthly.60280>
- de March, C. A., Titlow, W. B., Sengoku, T., Breheny, P., Matsunami, H., & McClintock, T. S. (2020). Modulation of the combinatorial code of odorant receptor response patterns in odorant mixtures. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 104, 103469. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2020.103469>

Références

- de Nicolaï, P. (2008). A Smelling Trip into the Past : The Influence of Synthetic Materials on the History of Perfumery. *Chemistry & Biodiversity*, 5(6), 1137-1146.
<https://doi.org/10.1002/cbdv.200890090>
- Dmitrenko, D., Maggioni, E., Brianza, G., Holthausen, B. E., Walker, B. N., & Obrist, M. (2020). CARoma Therapy : Pleasant Scents Promote Safer Driving, Better Mood, and Improved Well-Being in Angry Drivers. *Proceedings of the 2020 CHI Conference on Human Factors in Computing Systems*, 1-13. <https://doi.org/10.1145/3313831.3376176>
- Dobson, H. E. M. (1991). Pollen and flower fragrances in pollination. *Acta Horticulturae (Netherlands)*. 6. International Symposium on Pollination, Tilburg (Netherlands), 27-31 Aug 1990.
https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Pollen+and+flower+fragrances+in+pollination&author=Dobson%2C+H.E.M.+%28Goeteborg+Univ.+%28Sweden%29.+Dept.+of+Chemical+Ecology%29&publication_year=1991
- Dobson, H. E. M., & Bergström, G. (2000). The ecology and evolution of pollen odors. *Plant Systematics and Evolution*, 222(1/4), 63-87.
- Doty, R. L. (2022). Olfactory dysfunction in COVID-19 : Pathology and long-term implications for brain health. *Trends in Molecular Medicine*, 28(9), 781-794.
<https://doi.org/10.1016/j.molmed.2022.06.005>
- Dravnieks, A., & Jarke, F. (1980). Hedonic values of odor mixtures as functions of hedonic values of their components. *Proceedings of the Seventh International Symposium on Olfaction and Taste and the Fourth Congress of the European Chemoreception Research Organization / Ed. by H. van Der Starre*.
https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Hedonic+values+of+odor+mixtures+as+functions+of+hedonic+values+of+their+components&author=Dravnieks%2C+A.&publication_year=1980
- Dubois, A., Raymond, O., Maene, M., Baudino, S., Langlade, N. B., Boltz, V., Vergne, P., & Bendahmane, M. (2010). Tinkering with the C-Function : A Molecular Frame for the Selection of Double Flowers in Cultivated Roses. *PLOS ONE*, 5(2), e9288.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009288>
- Dubois, A., Remay, A., Raymond, O., Balzergue, S., Chauvet, A., Maene, M., Pécrix, Y., Yang, S.-H., Jeauffre, J., Thouroude, T., Boltz, V., Martin-Magniette, M.-L., Janczarski, S., Legeai, F., Renou, J.-P., Vergne, P., Bris, M. L., Foucher, F., & Bendahmane, M. (2011). Genomic Approach to Study Floral Development Genes in Rosa sp. *PLOS ONE*, 6(12), e28455.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0028455>
- Duchamp-Viret, P., Chaput, M. A., & Duchamp, A. (1999). Odor Response Properties of Rat Olfactory Receptor Neurons. *Science*, 284(5423), 2171-2174.
<https://doi.org/10.1126/science.284.5423.2171>
- du Roy, I. (2014, février 14). *Mais d'où viennent donc nos fleurs ?* Observatoire des multinationales.
<https://multinationales.org/fr/actualites/mais-d-ou-viennent-donc-nos-fleurs>
- Dwivedi, P., Singh, M., Singh, U., Jatav, S., Sangwan, R. S., & Mishra, B. B. (2018). Iodosylbenzene (PhIO) mediated synthesis of rose oxide from β -citronellol and its application for in situ rose oxide enrichment led valorization of citronella essential oil. *Journal of Cleaner Production*, 172, 1765-1771. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.12.016>

Références

- Elsharif, S. A., & Buettner, A. (2018). Structure-Odor Relationship Study on Geraniol, Nerol, and Their Synthesized Oxygenated Derivatives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(10), 2324-2333. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b04534>
- Emadikhalaf, M., Ghods, A. A., Sotodeh-asl, N., Mirmohamadkhani, M., & Vaismoradi, M. (2023). Effects of rose and lavender scents on nurses' job stress : A randomized controlled trial. *EXPLORE*, S1550830723000022. <https://doi.org/10.1016/j.explore.2023.01.002>
- Endo, K., & Kazama, H. (2022). Central organization of a high-dimensional odor space. *Current Opinion in Neurobiology*, 73, 102528. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2022.102528>
- Erbaş, S., & Baydar, H. (2016). Variation in Scent Compounds of Oil-Bearing Rose (*Rosa damascena* Mill.) Produced by Headspace Solid Phase Microextraction, Hydrodistillation and Solvent Extraction. *Rec. Nat. Prod.*
- Escanilla, O., Arrellanos, A., Karnow, A., Ennis, M., & Linster, C. (2010). Noradrenergic modulation of behavioral odor detection and discrimination thresholds in the olfactory bulb. *European Journal of Neuroscience*, 32(3), 458-468. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2010.07297.x>
- Esquivelzeta Rabell, J., Mutlu, K., Noutel, J., Martin del Olmo, P., & Haesler, S. (2017). Spontaneous Rapid Odor Source Localization Behavior Requires Interhemispheric Communication. *Current Biology*, 27(10), 1542-1548.e4. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.04.027>
- Fendt, M., Endres, T., & Apfelbach, R. (2003). Temporary Inactivation of the Bed Nucleus of the Stria Terminalis But Not of the Amygdala Blocks Freezing Induced by Trimethylthiazoline, a Component of Fox Feces. *The Journal of Neuroscience*, 23(1), 23-28. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-01-00023.2003>
- Feng, L.-G., Chen, C., Sheng, L.-X., Liu, P., Tao, J., Su, J.-L., & Zhao, L.-Y. (2010). Comparative Analysis of Headspace Volatiles of Chinese *Rosa rugosa*. *Molecules*, 15(11), 8390-8399. <https://doi.org/10.3390/molecules15118390>
- Ferdenzi, C., Jousain, P., Digard, B., Luneau, L., Djordjevic, J., & Bensafi, M. (2016). Individual Differences in Verbal and Non-Verbal Affective Responses to Smells : Influence of Odor Label Across Cultures. *Chemical Senses*, bjw098. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjw098>
- Feussner, I., & Wasternack, C. (2002). The lipoxygenase pathway. *Annual Review of Plant Biology*, 53, 275-297. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.53.100301.135248>
- Forest, J., Moreno, M., Cavellius, M., Chalençon, L., Ziessel, A., Sacquet, J., Richard, M., Didier, A., & Mandaïron, N. (2019). Short-term availability of adult-born neurons for memory encoding. *Nature Communications*, 10(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13521-7>
- Fougère-Danezan, M., Joly, S., Bruneau, A., Gao, X.-F., & Zhang, L.-B. (2015). Phylogeny and biogeography of wild roses with specific attention to polyploids. *Annals of Botany*, 115(2), 275-291. <https://doi.org/10.1093/aob/mcu245>
- Franks, K. M., Russo, M. J., Sosulski, D. L., Mulligan, A. A., Siegelbaum, S. A., & Axel, R. (2011). Recurrent Circuitry Dynamically Shapes the Activation of Piriform Cortex. *Neuron*, 72(1), 49-56. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.08.020>
- Franze, J., & Ciroth, A. (2011). A comparison of cut roses from Ecuador and the Netherlands. *The International Journal of Life Cycle Assessment*, 16(4), 366-379. <https://doi.org/10.1007/s11367-011-0266-x>
- Fukada, M., Kano, E., Miyoshi, M., Komaki, R., & Watanabe, T. (2012). Effect of « Rose Essential Oil » Inhalation on Stress-Induced Skin-Barrier Disruption in Rats and Humans. *Chemical Senses*, 37(4), 347-356. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjr108>

Références

- Gaby, J. M., & Tepper, B. J. (2020). A comparison of hedonic and emotional responses to common odors delivered by qPODs (Portable Olfactive Devices) and traditional sniff jars. *Food Quality and Preference*, 80, 103804. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2019.103804>
- Galliot, E., Laurent, L., Hacquemand, R., Pourié, G., & Millot, J.-L. (2012). Fear-like behavioral responses in mice in different odorant environments : Trigeminal versus olfactory mediation under low doses. *Behavioural Processes*, 90(2), 161-166. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2012.01.002>
- Gascuel, J., Lemoine, A., Rigault, C., Datiche, F., Benani, A., Penicaud, L., & Lopez-Mascaraque, L. (2012). Hypothalamus-Olfactory System Crosstalk : Orexin A Immunostaining in Mice. *Frontiers in Neuroanatomy*, 6. <https://doi.org/10.3389/fnana.2012.00044>
- Goldstein, D. S. (1987). 2—Stress-induced activation of the sympathetic nervous system. *Baillière's Clinical Endocrinology and Metabolism*, 1(2), 253-278. [https://doi.org/10.1016/S0950-351X\(87\)80063-0](https://doi.org/10.1016/S0950-351X(87)80063-0)
- Gottfried, J. A. (2010). Central mechanisms of odour object perception. *Nature Reviews. Neuroscience*, 11(9), 628-641. <https://doi.org/10.1038/nrn2883>
- Gottfried, J. A., Deichmann, R., Winston, J. S., & Dolan, R. J. (2002). Functional Heterogeneity in Human Olfactory Cortex : An Event-Related Functional Magnetic Resonance Imaging Study. *The Journal of Neuroscience*, 22(24), 10819-10828. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-24-10819.2002>
- Gourévitch, B., Kay, L. M., & Martin, C. (2010). Directional Coupling From the Olfactory Bulb to the Hippocampus During a Go/No-Go Odor Discrimination Task. *Journal of Neurophysiology*, 103(5), 2633-2641. <https://doi.org/10.1152/jn.01075.2009>
- Grabenhorst, F., Rolls, E. T., Margot, C., da Silva, M. A. A. P., & Velazco, M. I. (2007). How Pleasant and Unpleasant Stimuli Combine in Different Brain Regions : Odor Mixtures. *Journal of Neuroscience*, 27(49), 13532-13540. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3337-07.2007>
- Grechkin, A. (1998). Recent developments in biochemistry of the plant lipoxygenase pathway. *Progress in Lipid Research*, 37(5), 317-352. [https://doi.org/10.1016/S0163-7827\(98\)00014-9](https://doi.org/10.1016/S0163-7827(98)00014-9)
- Griffiths, G. (2015). Biosynthesis and analysis of plant oxylipins. *Free Radical Research*, 49(5), 565-582. <https://doi.org/10.3109/10715762.2014.1000318>
- Guerrieri, F., Schubert, M., Sandoz, J.-C., & Giurfa, M. (2005). Perceptual and Neural Olfactory Similarity in Honeybees. *PLOS Biology*, 3(4), e60. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0030060>
- Guoliang, W. (2003). *History of roses in cultivation | Ancient Chinese Roses*.
- Han, P., Weber, C., & Hummel, T. (2020). Brain response to intranasal trimethylamine stimulation : A preliminary human fMRI study. *Neuroscience Letters*, 735, 135166. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2020.135166>
- Harrison, T. A., & Scott, J. W. (1986). Olfactory bulb responses to odor stimulation : Analysis of response pattern and intensity relationships. *Journal of Neurophysiology*. <https://doi.org/10.1152/jn.1986.56.6.1571>
- Harvey, J. D., & Heinbockel, T. (2018). Neuromodulation of Synaptic Transmission in the Main Olfactory Bulb. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(10), Article 10. <https://doi.org/10.3390/ijerph15102194>
- Hasan, N., Choudhary, S., Naaz, N., Sharma, N., & Laskar, R. A. (2021). Recent advancements in molecular marker-assisted selection and applications in plant breeding programmes. *Journal*

Références

- of Genetic Engineering and Biotechnology*, 19(1), 128. <https://doi.org/10.1186/s43141-021-00231-1>
- Hatanaka, A. (1996). The fresh green odor emitted by plants. *Food Reviews International*, 12(3), 303-350. <https://doi.org/10.1080/87559129609541083>
- Haze, S., Sakai, K., & Gozu, Y. (2002). Effects of Fragrance Inhalation on Sympathetic Activity in Normal Adults. *Japanese Journal of Pharmacology*, 90(3), 247-253. <https://doi.org/10.1254/jjp.90.247>
- Heitz, T., Dhondt, S., Gouzerh, G., Geoffroy, P., & Legrand, M. (2002). Des dérivés d'acides gras dans la résistance des plantes aux attaques microbiennes : À la recherche d'acyl hydrolases impliquées dans la synthèse des oxylipines. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 9(1), 37-42. <https://doi.org/10.1051/ocl.2002.0037>
- Hellhammer, D. H., Wüst, S., & Kudielka, B. M. (2009). Salivary cortisol as a biomarker in stress research. *Psychoneuroendocrinology*, 34(2), 163-171. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2008.10.026>
- Hendrickson, J. B., Huang, P., & Toczko, A. G. (1987). Molecular complexity : A simplified formula adapted to individual atoms. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, 27(2), 63-67. <https://doi.org/10.1021/ci00054a004>
- Herman, J. P., Cullinan, W. E., Ziegler, D. R., & Tasker, J. G. (2002). Role of the paraventricular nucleus microenvironment in stress integration*. *European Journal of Neuroscience*, 16(3), 381-385. <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2002.02133.x>
- Herz, R. S., Beland, S. L., & Hellerstein, M. (2004). Changing Odor Hedonic Perception Through Emotional Associations in Humans. *International Journal of Comparative Psychology*, 17(4). <https://doi.org/10.46867/IJCP.2004.17.04.05>
- Heywood, V. H. (2002). The Conservation of Genetic and Chemical Diversity in Medicinal and Aromatic Plants. In B. Şener (Éd.), *Biodiversity* (p. 13-22). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-9242-0_2
- Hirata, H., Ohnishi, T., Tomida, K., Ishida, H., Kanda, M., Sakai, M., Yoshimura, J., Suzuki, H., Ishikawa, T., Dohra, H., & Watanabe, N. (2016). Seasonal induction of alternative principal pathway for rose flower scent. *Scientific Reports*, 6(1), 20234. <https://doi.org/10.1038/srep20234>
- Huang, F.-C., Horváth, G., Molnár, P., Turcsi, E., Deli, J., Schrader, J., Sandmann, G., Schmidt, H., & Schwab, W. (2009). Substrate promiscuity of RdCCD1, a carotenoid cleavage oxygenase from *Rosa damascena*. *Phytochemistry*, 70(4), 457-464. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2009.01.020>
- Igarashi, M., Song, C., Ikei, H., Ohira, T., & Miyazaki, Y. (2014). Effect of Olfactory Stimulation by Fresh Rose Flowers on Autonomic Nervous Activity. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 20(9), 727-731. <https://doi.org/10.1089/acm.2014.0029>
- Ikei, H., Komatsu, M., Song, C., Himoro, E., & Miyazaki, Y. (2014). The physiological and psychological relaxing effects of viewing rose flowers in office workers. *Journal of Physiological Anthropology*, 33(1), 6. <https://doi.org/10.1186/1880-6805-33-6>
- Imai, T. (2014). Construction of functional neuronal circuitry in the olfactory bulb. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 35, 180-188. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2014.07.012>
- Imamura, F., Ayoub, A. E., Rakic, P., & Greer, C. A. (2011). Timing of neurogenesis is a determinant of olfactory circuitry. *Nature Neuroscience*, 14(3), Article 3. <https://doi.org/10.1038/nn.2754>
- Iravani, B., Schaefer, M., Wilson, D. A., Arshamian, A., & Lundström, J. N. (2021). The human olfactory bulb processes odor valence representation and cues motor avoidance behavior. *Proceedings*

Références

- of the National Academy of Sciences, 118(42), e2101209118.
<https://doi.org/10.1073/pnas.2101209118>
- Ito, A., Miyoshi, M., Ueki, S., Fukada, M., Komaki, R., & Watanabe, T. (2009). "Green odor" inhalation by rats down-regulates stress-induced increases in Fos expression in stress-related forebrain regions. *Neuroscience Research*, 65(2), 166-174.
<https://doi.org/10.1016/j.neures.2009.06.012>
- Iwata, H., Gaston, A., Remay, A., Thouroude, T., Jeauffre, J., Kawamura, K., Oyant, L. H.-S., Araki, T., Denoyes, B., & Foucher, F. (2012). The TFL1 homologue KSN is a regulator of continuous flowering in rose and strawberry. *The Plant Journal*, 69(1), 116-125.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2011.04776.x>
- Jaeger, S. R., McRae, J. F., Bava, C. M., Beresford, M. K., Hunter, D., Jia, Y., Chheang, S. L., Jin, D., Peng, M., Gamble, J. C., Atkinson, K. R., Axten, L. G., Paisley, A. G., Tooman, L., Pineau, B., Rouse, S. A., & Newcomb, R. D. (2013). A Mendelian Trait for Olfactory Sensitivity Affects Odor Experience and Food Selection. *Current Biology*, 23(16), 1601-1605.
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.07.030>
- Jagetia, S., Milton, A. J., Stetzk, L. A., Liu, S., Pai, K., Arakawa, K., Mandairon, N., & Wesson, D. W. (2018). Inter- and intra-mouse variability in odor preferences revealed in an olfactory multiple-choice test. *Behavioral Neuroscience*, 132, 88-98.
<https://doi.org/10.1037/bne0000233>
- Jin, L., Haviland-Jones, J., Simon, J. E., & Tepper, B. J. (2018). Influence of aroma intensity and nasal pungency on the 'mood signature' of common aroma compounds in a mixed ethnic population. *Food Quality and Preference*, 65, 164-174.
<https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2017.10.017>
- Jirovetz, L., Buchbauer, G., Stoyanova, A., Balinova, A., Guangjiun, Z., & Xihan, M. (2005). Solid phase microextraction/gas chromatographic and olfactory analysis of the scent and fixative properties of the essential oil of *Rosa damascena* L. from China. *Flavour and Fragrance Journal*, 20(1), 7-12. <https://doi.org/10.1002/ffj.1375>
- Joichi, A., Nakamura, Y., Sakai, K., Haze, S., Maebara, K., & Nomura, K. (2010). Volatile components of myrrh-scented roses and its effect on peripheral skin temperature. *Aroma Research*, 11(4), 340-344.
- Joly, E. (2018, mars 8). Une épine environnementale et sociale dans votre bouquet de roses. *Blog Economie Circulaire*. <https://blogeconomiecirculaire.wordpress.com/2018/03/08/une-epine-environnementale-et-sociale-dans-votre-bouquet-de-roses/>
- Jonker, F. A., Jonker, C., Scheltens, P., & Scherder, E. J. A. (2015). The role of the orbitofrontal cortex in cognition and behavior. *Reviews in the Neurosciences*, 26(1), 1-11.
<https://doi.org/10.1515/revneuro-2014-0043>
- Joussain, P., Ferdenzi, C., Djordjevic, J., & Bensafi, M. (2017). Relationship Between Psychophysiological Responses to Aversive Odors and Nutritional Status During Normal Aging. *Chemical Senses*, 42(6), 465-472. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjx027>
- Joussain, P., Thevenet, M., Rouby, C., & Bensafi, M. (2013). Effect of Aging on Hedonic Appreciation of Pleasant and Unpleasant Odors. *PLoS ONE*, 8(4), e61376.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061376>
- Kaminaga, Y., Schnepf, J., Peel, G., Kish, C. M., Ben-Nissan, G., Weiss, D., Orlova, I., Lavie, O., Rhodes, D., Wood, K., Porterfield, D. M., Cooper, A. J. L., Schloss, J. V., Pichersky, E., Vainstein, A., & Dudareva, N. (2006). Plant Phenylacetaldehyde Synthase Is a Bifunctional Homotetrameric

Références

- Enzyme That Catalyzes Phenylalanine Decarboxylation and Oxidation. *Journal of Biological Chemistry*, 281(33), 23357-23366. <https://doi.org/10.1074/jbc.M602708200>
- Katata, K., Sakai, N., Doi, K., Kawamitsu, H., Fujii, M., Sugimura, K., & Nibu, K.-I. (2009). Functional MRI of regional brain responses to 'pleasant' and 'unpleasant' odors. *Acta Oto-Laryngologica*, 129(sup562), 85-90. <https://doi.org/10.1080/00016480902915715>
- Katekar, V. P., Rao, A. B., & Sardeshpande, V. R. (2022). Review of the rose essential oil extraction by hydrodistillation : An investigation for the optimum operating condition for maximum yield. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 29, 100783. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2022.100783>
- Keller, A., & Vosshall, L. B. (2016). Olfactory perception of chemically diverse molecules. *BMC Neuroscience*, 17(1), 55. <https://doi.org/10.1186/s12868-016-0287-2>
- Keller, A., & Young, B. D. (2014). Olfactory consciousness across disciplines. *Frontiers in Psychology*, 5. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpsyg.2014.00931>
- Kepler, V. F., Seet, M. S., Hamano, J., Saba, M., Thakor, N. V., Dimitriadis, S. I., & Dragomir, A. (2022). Odor Pleasantness Modulates Functional Connectivity in the Olfactory Hedonic Processing Network. *Brain Sciences*, 12(10), 1408. <https://doi.org/10.3390/brainsci12101408>
- Kermen, F. (2021). Odor hedonics coding in the vertebrate olfactory bulb. *Cell and Tissue Research*, 9.
- Kermen, F., Chakirian A., Sezille C., Jousain P., Le Goff G., Ziessel A., Chastrette M., Mandairon N., Didier A., Rouby C., & Bensafi M. (2011). Molecular complexity determines the number of olfactory notes and the pleasantness of smells. *Scientific Reports*, 1(1), 206. <https://doi.org/10.1038/srep00206>
- Kermen, F., Midroit, M., Kuczewski, N., Forest, J., Thévenet, M., Sacquet, J., Benetollo, C., Richard, M., Didier, A., & Mandairon, N. (2016a). Topographical representation of odor hedonics in the olfactory bulb. *Nature Neuroscience*, 19(7), 876-878. <https://doi.org/10.1038/nn.4317>
- Kermen, F., Midroit, M., Kuczewski, N., Forest, J., Thévenet, M., Sacquet, J., Benetollo, C., Richard, M., Didier, A., & Mandairon, N. (2016b). Topographical representation of odor hedonics in the olfactory bulb. *Nature Neuroscience*, 19(7), 876-878. <https://doi.org/10.1038/nn.4317>
- Khan, R. M., Luk, C.-H., Flinker, A., Aggarwal, A., Lapid, H., Haddad, R., & Sobel, N. (2007). Predicting Odor Pleasantness from Odorant Structure : Pleasantness as a Reflection of the Physical World. *Journal of Neuroscience*, 27(37), 10015-10023. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1158-07.2007>
- Kheirkhah, M., Setayesh Vali Pour, N., Neisani, L., & Haghani, H. (2014). Comparing the Effects of Aromatherapy With Rose Oils and Warm Foot Bath on Anxiety in the First Stage of Labor in Nulliparous Women. *Iranian Red Crescent Medical Journal*, 16(9). <https://doi.org/10.5812/ircmj.14455>
- Kikuta, S., Sato, K., Kashiwadani, H., Tsunoda, K., Yamasoba, T., & Mori, K. (2010). Neurons in the anterior olfactory nucleus pars externa detect right or left localization of odor sources. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(27), 12363-12368. <https://doi.org/10.1073/pnas.1003999107>
- Kim, S. M., Park, S., Hong, J. W., Jang, E. J., & Pak, C. H. (2016). Psychophysiological Effects of Orchid and Rose Fragrances on Humans. *Horticultural Science & Technology*, 34(3), 472-487. <https://doi.org/10.12972/kjhst.20160048>
- Knaapila, A., Tuorila, H., Vuoksima, E., Keskitalo-Vuokko, K., Rose, R. J., Kaprio, J., & Silventoinen, K. (2012). Pleasantness of the Odor of Androstenone as a Function of Sexual Intercourse

Références

- Experience in Women and Men. *Archives of Sexual Behavior*, 41(6), 1403-1408.
<https://doi.org/10.1007/s10508-011-9804-7>
- Kovach, M. J., Calingacion, M. N., Fitzgerald, M. A., & McCouch, S. R. (2009). The origin and evolution of fragrance in rice (*Oryza sativa* L.). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(34), 14444-14449. <https://doi.org/10.1073/pnas.0904077106>
- Kringelbach, M. L. (2005). The human orbitofrontal cortex : Linking reward to hedonic experience. *Nature Reviews Neuroscience*, 6(9), Article 9. <https://doi.org/10.1038/nrn1747>
- Krussmann, G. (1981). *The complete book of roses*. Timber Press, in cooperation with the American Horticultural Society.
https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=The+complete+book+of+roses&author=Kru+ssmann%2C+Gerd&publication_year=1981
- Kumar, A., Rinwa, P., Kaur, G., & Machawal, L. (2013). Stress : Neurobiology, consequences and management. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, 5(2), 91-97.
<https://doi.org/10.4103/0975-7406.111818>
- Kurkcuoglu, M., Baser, K. H. C., Akterian, S. G., Fidan, H. N., & Stoyanova, A. S. (2020). *Chemical composition, sensory evaluation and antimicrobial activity of Taif rose (Rosa damascena Mill.) essential oils*. 10.
- Lapid, H., Shushan, S., Plotkin, A., Voet, H., Roth, Y., Hummel, T., Schneidman, E., & Sobel, N. (2011). Neural activity at the human olfactory epithelium reflects olfactory perception. *Nature Neuroscience*, 14(11), 1455-1461. <https://doi.org/10.1038/nn.2926>
- Laurent, G. (2002). Olfactory network dynamics and the coding of multidimensional signals. *Nature Reviews Neuroscience*, 3(11), Article 11. <https://doi.org/10.1038/nrn964>
- Lavid, N., Wang, J., Shalit, M., Guterman, I., Bar, E., Beuerle, T., Menda, N., Shafir, S., Zamir, D., Adam, Z., Vainstein, A., Weiss, D., Pichersky, E., & Lewinsohn, E. (2002). O -Methyltransferases Involved in the Biosynthesis of Volatile Phenolic Derivatives in Rose Petals. *Plant Physiology*, 129(4), 1899-1907. <https://doi.org/10.1104/pp.005330>
- Le Berre, E., Thomas-Danguin, T., Béno, N., Coureaud, G., Etiévant, P., & Prescott, J. (2008). Perceptual Processing Strategy and Exposure Influence the Perception of Odor Mixtures. *Chemical Senses*, 33(2), 193-199. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjm080>
- Legouis, R. (1995). Les mécanismes de transduction du signal olfactif. *Annales de l'Institut Pasteur / Actualités*, 6(4), 249-255. [https://doi.org/10.1016/0924-4204\(96\)83380-4](https://doi.org/10.1016/0924-4204(96)83380-4)
- Leon, M., & Johnson, B. A. (2003). Olfactory coding in the mammalian olfactory bulb. *Brain Research Reviews*, 42(1), 23-32. [https://doi.org/10.1016/S0165-0173\(03\)00142-5](https://doi.org/10.1016/S0165-0173(03)00142-5)
- Levinson, M., Kolenda, J. P., Alexandrou, G. J., Escanilla, O., Cleland, T. A., Smith, D. M., & Linster, C. (2020). Context-dependent odor learning requires the anterior olfactory nucleus. *Behavioral Neuroscience*, 134(4), 332-343. <https://doi.org/10.1037/bne0000371>
- Lezak, K. R., Missig, G., & Jr, W. A. C. (2017). Behavioral methods to study anxiety in rodents. *Translational Research*, 19(2), 12.
- Li, B., Kamarck, M. L., Peng, Q., Lim, F.-L., Keller, A., Smeets, M. A. M., Mainland, J. D., & Wang, S. (2021). *From musk to body odor : Decoding olfaction through genetic variation* [Preprint]. Genetics. <https://doi.org/10.1101/2021.04.27.441177>
- Licon, C. C., Bosc, G., Sabri, M., Mantel, M., Fournel, A., Bushdid, C., Golebiowski, J., Robardet, C., Plantevit, M., Kaytoue, M., & Bensafi, M. (2019). Chemical features mining provides new descriptive structure-odor relationships. *PLOS Computational Biology*, 15(4), e1006945. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1006945>

Références

- Lin, D. Y., Shea, S. D., & Katz, L. C. (2006). Representation of Natural Stimuli in the Rodent Main Olfactory Bulb. *Neuron*, 50(6), 937-949. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2006.03.021>
- Linster, C., Johnson, B. A., Yue, E., Morse, A., Xu, Z., Hingco, E. E., Choi, Y., Choi, M., Messiha, A., & Leon, M. (2001). Perceptual Correlates of Neural Representations Evoked by Odorant Enantiomers. *The Journal of Neuroscience*, 21(24), 9837-9843. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-24-09837.2001>
- Liu, M.-Y., Yin, C.-Y., Zhu, L.-J., Zhu, X.-H., Xu, C., Luo, C.-X., Chen, H., Zhu, D.-Y., & Zhou, Q.-G. (2018). Sucrose preference test for measurement of stress-induced anhedonia in mice. *Nature Protocols*, 13(7), Article 7. <https://doi.org/10.1038/s41596-018-0011-z>
- Luomala, H. T., & Laaksonen, M. (2000). Contributions from mood research. *Psychology & Marketing*, 17(3), 195-233. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1520-6793\(200003\)17:3<195::AID-MAR2>3.0.CO;2-#](https://doi.org/10.1002/(SICI)1520-6793(200003)17:3<195::AID-MAR2>3.0.CO;2-#)
- Luparia, M., Legnani, L., Porta, A., Zanoni, G., Toma, L., & Vidari, G. (2009). Enantioselective Synthesis and Olfactory Evaluation of Bicyclic α - and γ -Ionone Derivatives : The 3D Arrangement of Key Molecular Features Relevant to the Violet Odor of Ionones. *The Journal of Organic Chemistry*, 74(18), 7100-7110. <https://doi.org/10.1021/jo9014936>
- MacPhail, V. J., & Kevan, P. G. (2001). *Review of the Breeding Systems of Wild Roses (Rosa spp.)*. 1, 13.
- MacPhail, V. J., Kevan, P. G., & Fuss, C. (2007). *Effect of flower age on honey bee behaviour when rewards are kept constant*.
- Magnard, J.-L., Rocchia, A., Caissard, J.-C., Vergne, P., Sun, P., Hecquet, R., Dubois, A., Hibrand-Saint Oyant, L., Jullien, F., Nicolè, F., Raymond, O., Huguet, S., Baltenweck, R., Meyer, S., Claudel, P., Jeauffre, J., Rohmer, M., Foucher, F., Hugueney, P., ... Baudino, S. (2015). Biosynthesis of monoterpene scent compounds in roses. *Science*, 349(6243), 81-83. <https://doi.org/10.1126/science.aab0696>
- Mahmut, M. K., Stevenson, R. J., & Stephen, I. (2019). Do women love their partner's smell? Exploring women's preferences for and identification of male partner and non-partner body odor. *Physiology & Behavior*, 210, 112517. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2019.04.006>
- Malnic, B., Hirono, J., Sato, T., & Buck, L. B. (1999). Combinatorial Receptor Codes for Odors. *Cell*, 96(5), 713-723. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80581-4](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80581-4)
- Mandairon, N., Kuczewski, N., Kermen, F., Forest, J., Midroit, M., Richard, M., Thevenet, M., Sacquet, J., Linster, C., & Didier, A. (2018). Opposite regulation of inhibition by adult-born granule cells during implicit versus explicit olfactory learning. *eLife*, 7, e34976. <https://doi.org/10.7554/eLife.34976>
- Mandairon, N., Poncelet, J., Bensafi, M., & Didier, A. (2009). Humans and Mice Express Similar Olfactory Preferences. *PLoS ONE*, 4(1), e4209. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004209>
- Mandairon, N., Sultan, S., Rey, N., Kermen, F., Moreno, M., Busto, G., Farget, V., Messaoudi, B., Thevenet, M., & Didier, A. (2009). A computer-assisted odorized hole-board for testing olfactory perception in mice. *Journal of Neuroscience Methods*, 180(2), 296-303. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2009.04.008>
- Manoel, D., Makhoul, M., Scialdone, A., & Saraiva, L. R. (2019). Interspecific variation of olfactory preferences in flies, mice, and humans. *Chemical Senses*, 44(1), 7-9. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjy074>

Références

- Martin, C., Beshel, J., & Kay, L. M. (2007). An Olfacto-Hippocampal Network Is Dynamically Involved in Odor-Discrimination Learning. *Journal of Neurophysiology*, 98(4), 2196-2205. <https://doi.org/10.1152/jn.00524.2007>
- Martin, Piola, F., Chessel, D., Jay, M., & Heizmann, P. (2001). The domestication process of the Modern Rose : Genetic structure and allelic composition of the rose complex. *Theoretical and Applied Genetics*, 102(2), 398-404. <https://doi.org/10.1007/s001220051660>
- Martínez-Avila, O., Sánchez, A., Font, X., & Barrena, R. (2018). Bioprocesses for 2-phenylethanol and 2-phenylethyl acetate production : Current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(23), 9991-10004. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9384-8>
- Matsui, K. (2006). Green leaf volatiles : Hydroperoxide lyase pathway of oxylipin metabolism. *Current Opinion in Plant Biology*, 9(3), 274-280. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2006.03.002>
- Matsukawa, M., Imada, M., Murakami, T., Aizawa, S., & Sato, T. (2011). Rose odor can innately counteract predator odor. *Brain Research*, 1381, 117-123. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2011.01.053>
- McRae, J. F., Mainland, J. D., Jaeger, S. R., Adipietro, K. A., Matsunami, H., & Newcomb, R. D. (2012). Genetic Variation in the Odorant Receptor OR2J3 Is Associated with the Ability to Detect the “Grassy” Smelling Odor, cis-3-hexen-1-ol. *Chemical Senses*, 37(7), 585-593. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjs049>
- Midroit, M., Chalençon, L., Renier, N., Milton, A., Thevenet, M., Sacquet, J., Breton, M., Forest, J., Noury, N., Richard, M., Raineteau, O., Ferdenzi, C., Fournel, A., Wesson, D. W., Bensafi, M., Didier, A., & Mandairon, N. (2021). Neural processing of the reward value of pleasant odorants. *Current Biology*, 31(8), 1592-1605.e9. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2021.01.066>
- Molina, J., Sikora, M., Garud, N., Flowers, J. M., Rubinstein, S., Reynolds, A., Huang, P., Jackson, S., Schaal, B. A., Bustamante, C. D., Boyko, A. R., & Purugganan, M. D. (2011). Molecular evidence for a single evolutionary origin of domesticated rice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(20), 8351-8356. <https://doi.org/10.1073/pnas.1104686108>
- Morales, M., & Margolis, E. B. (2017). Ventral tegmental area : Cellular heterogeneity, connectivity and behaviour. *Nature Reviews Neuroscience*, 18(2), Article 2. <https://doi.org/10.1038/nrn.2016.165>
- Moskowitz, H. R., & Barbe, C. D. (1977). Profiling of odor components and their mixtures. *Sensory Processes*, 1, 212-226.
- Mouly, A.-M., & Di Scala, G. (2006). Entorhinal cortex stimulation modulates amygdala and piriform cortex responses to olfactory bulb inputs in the rat. *Neuroscience*, 137(4), 1131-1141. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2005.10.024>
- Mulligan, K., & Scherer, K. R. (2012). Toward a Working Definition of Emotion. *Emotion Review*, 4(4), 345-357. <https://doi.org/10.1177/1754073912445818>
- Nagayama, S., Homma, R., & Imamura, F. (2014). Neuronal organization of olfactory bulb circuits. *Frontiers in Neural Circuits*, 8. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fncir.2014.00098>
- Nakatomi, Y., Yokoyama, C., Kinoshita, S., Masaki, D., Tsuchida, H., Onoe, H., Yoshimoto, K., & Fukui, K. (2008). Serotonergic mediation of the antidepressant-like effect of the green leaves odor in mice. *Neuroscience Letters*, 436(2), 167-170. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2008.03.013>
- Naziroğlu, M., Kozlu, S., Yorgancigil, E., Uğuz, A. C., & Karakuş, K. (2013). Rose oil (from *Rosa × damascena* Mill.) vapor attenuates depression-induced oxidative toxicity in rat brain. *Journal of Natural Medicines*, 67(1), 152-158. <https://doi.org/10.1007/s11418-012-0666-7>

Références

- Nevo, O., & Heymann, E. W. (2015). Led by the nose : Olfaction in primate feeding ecology. *Evolutionary Anthropology: Issues, News, and Reviews*, 24(4), 137-148.
<https://doi.org/10.1002/evan.21458>
- Newcomb, R. D., Xia, M. B., & Reed, D. R. (2012). Heritable differences in chemosensory ability among humans. *Flavour*, 1(1), 9. <https://doi.org/10.1186/2044-7248-1-9>
- Nguyen, D. T., Rumeau, C., Gallet, P., & Jankowski, R. (2016). Olfactory exploration : State of the art. *European Annals of Otorhinolaryngology, Head and Neck Diseases*, 133(2), 113-118.
<https://doi.org/10.1016/j.anorl.2015.08.038>
- Niimura, Y. (2009). Evolutionary dynamics of olfactory receptor genes in chordates : Interaction between environments and genomic contents. *Human Genomics*, 4(2), 107.
<https://doi.org/10.1186/1479-7364-4-2-107>
- Nobuyuki, S., Akira, T., Tatsu, K., Yasushi, Y., Sumio, I., & Sachiko, S. (2007). Exploring human brain activities involved in the hedonic-evaluating process of odors. *認知神経科学*, 9(3), 285-293.
<https://doi.org/10.11253/ninchishinkeikagaku1999.9.285>
- Noto, T., Zhou, G., Yang, Q., Lane, G., & Zelano, C. (2021). Human Primary Olfactory Amygdala Subregions Form Distinct Functional Networks, Suggesting Distinct Olfactory Functions. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 15, 752320. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2021.752320>
- Ohloff, G., & Demole, E. (1987). Importance of the odoriferous principle of Bulgarian rose oil in flavour and fragrance chemistry. *Journal of Chromatography A*, 406, 181-183.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)94029-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)94029-9)
- Oleszkiewicz, A., Schriever, V. A., Valder, C., Agosin, E., Altundag, A., Avni, H., Cao Van, H., Cornejo, C., Fishman, G., Guarneros, M., Gupta, N., Kamel, R., Knaapila, A., Konstantinidis, I., Landis, B. N., Larsson, M., Lundström, J. N., Macchi, A., Marino-Sanchez, F., ... Gellrich, J. (2022). Hedonic perception of odors in children aged 5–8 years is similar across 18 countries : Preliminary data. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*, 157, 111129.
<https://doi.org/10.1016/j.ijporl.2022.111129>
- Oyama-Okubo, N., & Tsuji, T. (2013). Analysis of Floral Scent Compounds and Classification by Scent Quality in Tulip Cultivars. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 82(4), 344-353. <https://doi.org/10.2503/jjshs1.82.344>
- Paparella, A., Shaltiel-Harpaza, L., & Ibdah, M. (2021). β -Ionone : Its Occurrence and Biological Function and Metabolic Engineering. *Plants*, 10(4), Article 4.
<https://doi.org/10.3390/plants10040754>
- Patin, A., & Pause, B. M. (2015). Human amygdala activations during nasal chemoreception. *Neuropsychologia*, 78, 171-194. <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2015.10.009>
- Perry, N., & Perry, E. (2006). Aromatherapy in the Management of Psychiatric Disorders : Clinical and Neuropharmacological Perspectives. *CNS Drugs*, 20(4), 257-280.
<https://doi.org/10.2165/00023210-200620040-00001>
- Petroianu, G. A. (2021). Ionone : The Molecule that Shaped the History of Western Civilization. *Acta Pharmaceutica Hungarica*, 91(3-4), 158-159. <https://doi.org/10.33892/aph.2021.91.158-159>
- Pichersky, E., & Gershenzon, J. (2002). The formation and function of plant volatiles : Perfumes for pollinator attraction and defense. *Current Opinion in Plant Biology*, 5(3), 237-243.
[https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(02\)00251-0](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(02)00251-0)
- Picone, JoanneM., Clery, RobinA., Watanabe, N., MacTavish, HazelS., & Turnbull, ColinG. N. (2004). Rhythmic emission of floral volatiles from *Rosa damascena semperflorens* cv. ?Quatre Saisons? *Planta*, 219(3). <https://doi.org/10.1007/s00425-004-1250-5>

Références

- Piep, M., Radespiel, U., Zimmermann, E., Schmidt, S., & Siemers, B. M. (2008). The sensory basis of prey detection in captive-born grey mouse lemurs, *Microcebus murinus*. *Animal Behaviour*, 75(3), 871-878. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2007.07.008>
- Pinet, J.-M., & Calas, B. (2013, janvier 30). *Compte-rendu-Rose-30.01.13.pdf*. <http://cafe-geo.net/wp-content/uploads/Compte-rendu-Rose-30.01.13.pdf>
- Plailly, J., Howard, J. D., Gitelman, D. R., & Gottfried, J. A. (2008). Attention to Odor Modulates Thalamocortical Connectivity in the Human Brain. *Journal of Neuroscience*, 28(20), 5257-5267. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5607-07.2008>
- Plotto, A., Barnes, K. w., & Goodner, K. I. (2006). Specific Anosmia Observed for β -Ionone, but not for α -Ionone : Significance for Flavor Research. *Journal of Food Science*, 71(5), S401-S406. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00047.x>
- Pol, P. A. van de. (2003). History of the Perfume Industry. *Encyclopedia of Rose Science*, 410-414.
- Poncelet, J., Rinck, F., Bourgeat, F., Schaal, B., Rouby, C., Bensafi, M., & Hummel, T. (2010). The effect of early experience on odor perception in humans : Psychological and physiological correlates. *Behavioural Brain Research*, 208(2), 458-465. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.12.011>
- Proserpio, C., de Graaf, C., Laureati, M., Pagliarini, E., & Boesveldt, S. (2017). Impact of ambient odors on food intake, saliva production and appetite ratings. *Physiology & Behavior*, 174, 35-41. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.02.042>
- Pybus, D., & Sell, C. (2007). *The Chemistry of Fragrances*. Royal Society of Chemistry.
- Raimbault, C., Saliba, E., & Porter, R. H. (2007). The effect of the odour of mother's milk on breastfeeding behaviour of premature neonates. *Acta Paediatrica*, 96(3), 368-371. <https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.2007.00114.x>
- Reed, A., Rudall, P. J., Brockington, S. F., & Glover, B. J. (2022). Conical petal epidermal cells, regulated by the MYB transcription factor MIXTA, have an ancient origin within the angiosperms. *Journal of Experimental Botany*, 73(16), 5490-5502. <https://doi.org/10.1093/jxb/erac223>
- Rehder, A. (1940). *Manual of cultivated trees and shrubs hardy in north America* (2nd edition). Macmillan.
- Ren, J., Yang, L., Wang, Y., & Yao, H. (2016). Chemical Profile of Floral Scent at Different Flower Developmental Stages of rose de rescht (*Rosa damascena* Mill.) Cultivated in Beijing. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 19(2), 433-443. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2014.890081>
- Richardson, J. T. E., & Zucco, G. M. (1989). Cognition and olfaction : A review. *Psychological Bulletin*, 105, 352-360. <https://doi.org/10.1037/0033-2909.105.3.352>
- Rinck, F., Barkat-Defradas, M., Chakirian, A., Joussain, P., Bourgeat, F., Thévenet, M., Rouby, C., & Bensafi, M. (2011). Ontogeny of Odor Liking during Childhood and Its Relation to Language Development. *Chemical Senses*, 36(1), 83-91. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjq101>
- Roccia, A., Hibrand-Saint Oyant, L., Cavel, E., Caissard, J.-C., Machenaud, J., Thouroude, T., Jeauffre, J., Bony, A., Dubois, A., Vergne, P., Szécsi, J., Foucher, F., Bendahmane, M., & Baudino, S. (2019). Biosynthesis of 2-Phenylethanol in Rose Petals Is Linked to the Expression of One Allele of *RhPAAS*. *Plant Physiology*, 179(3), 1064-1079. <https://doi.org/10.1104/pp.18.01468>
- Roland, B., Deneux, T., Franks, K. M., Bathellier, B., & Fleischmann, A. (2017). Odor identity coding by distributed ensembles of neurons in the mouse olfactory cortex. *eLife*, 6, e26337. <https://doi.org/10.7554/eLife.26337>

Références

- Rolls, E. T., Kringelbach, M. L., & de Araujo, I. E. T. (2003). Different representations of pleasant and unpleasant odours in the human brain. *European Journal of Neuroscience*, 18(3), 695-703. <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2003.02779.x>
- Rolls, E. T., & Rolls, J. H. (1997). Olfactory Sensory-Specific Satiety in Humans. *Physiology & Behavior*, 61(3), 461-473. [https://doi.org/10.1016/S0031-9384\(96\)00464-7](https://doi.org/10.1016/S0031-9384(96)00464-7)
- Rose Extract Market. (2022, mai). <https://www.transparencymarketresearch.com/rose-extract-market.html>
- Rose Oil Market Share, Size, Growth, Opportunity and Forecast 2022-2027. (s. d.). Consulté 3 janvier 2023, à l'adresse <https://www.imarcgroup.com/rose-oil-market>
- Rose Oil Market Size, Share | Global Industry Analysis Report, 2025. (s. d.). Consulté 3 janvier 2023, à l'adresse <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/rose-oil-market>
- Rospars, J.-P., Lansky, P., Chaput, M., & Duchamp-Viret, P. (2008). Competitive and Noncompetitive Odorant Interactions in the Early Neural Coding of Odorant Mixtures. *Journal of Neuroscience*, 28(10), 2659-2666. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4670-07.2008>
- Rowe, T. B., & Shepherd, G. M. (2016). Role of ortho-retronasal olfaction in mammalian cortical evolution. *Journal of Comparative Neurology*, 524(3), 471-495. <https://doi.org/10.1002/cne.23802>
- Roy-Côté, F., Zahal, R., Frasnelli, J., Nguyen, D. K., & Boucher, O. (2021). Insula and Olfaction : A Literature Review and Case Report. *Brain Sciences*, 11(2), Article 2. <https://doi.org/10.3390/brainsci11020198>
- Royet, J.-P., Plailly, J., Delon-Martin, C., Kareken, D. A., & Segebarth, C. (2003). fMRI of emotional responses to odors: *NeuroImage*, 20(2), 713-728. [https://doi.org/10.1016/S1053-8119\(03\)00388-4](https://doi.org/10.1016/S1053-8119(03)00388-4)
- Rusanov, K., Kovacheva, N., Atanassov, A., & Atanassov, I. (2009). *Rosa Damascena*—Genetics of a Complex Allotetraploid Species and Perspectives for Molecular Breeding. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 23(sup1), 594-596. <https://doi.org/10.1080/13102818.2009.10818495>
- Saito, N., Yamano, E., Ishii, A., Tanaka, M., Nakamura, J., & Watanabe, Y. (2018). Involvement of the olfactory system in the induction of anti-fatigue effects by odorants. *PLOS ONE*, 13(3), e0195263. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195263>
- Sanchez-Andrade, G., & Kendrick, K. M. (2009). The main olfactory system and social learning in mammals. *Behavioural Brain Research*, 200(2), 323-335. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2008.12.021>
- Sano, K. (2002). Concentration Effects of Green Odor on Event-related Potential (P300) and Pleasantness. *Chemical Senses*, 27(3), 225-230. <https://doi.org/10.1093/chemse/27.3.225>
- Sanz, G., Thomas-Danguin, T., Hamdani, E. H., Le Poupon, C., Briand, L., Pernollet, J.-C., Guichard, E., & Tromelin, A. (2008). Relationships Between Molecular Structure and Perceived Odor Quality of Ligands for a Human Olfactory Receptor. *Chemical Senses*, 33(7), 639-653. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjn032>
- Sarafoleanu, C., Mella, C., Georgescu, M., & Perederco, C. (2009). The importance of the olfactory sense in the human behavior and evolution. *Journal of Medicine and Life*, 2(2), 196-198.
- Scala, A., Allmann, S., Mirabella, R., Haring, M. A., & Schuurink, R. C. (2013). Green Leaf Volatiles : A Plant's Multifunctional Weapon against Herbivores and Pathogens. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(9), Article 9. <https://doi.org/10.3390/ijms140917781>

Références

- Scalliet, G., Journot, N., Jullien, F., Baudino, S., Magnard, J.-L., Channelière, S., Vergne, P., Dumas, C., Bendahmane, M., Cock, J. M., & Hugueney, P. (2002). Biosynthesis of the major scent components 3,5-dimethoxytoluene and 1,3,5-trimethoxybenzene by novel rose *O*-methyltransferases. *FEBS Letters*, 523(1-3), 113-118. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(02\)02956-3](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(02)02956-3)
- Scalliet, G., Lionnet, C., Le Behec, M., Dutron, L., Magnard, J.-L., Baudino, S., Bergougnot, V., Jullien, F., Chambrier, P., Vergne, P., Dumas, C., Cock, J. M., & Hugueney, P. (2006). Role of Petal-Specific Orcinol *O*-Methyltransferases in the Evolution of Rose Scent. *Plant Physiology*, 140(1), 18-29. <https://doi.org/10.1104/pp.105.070961>
- Scalliet, G., Piola, F., Douady, C. J., Réty, S., Raymond, O., Baudino, S., Bordji, K., Bendahmane, M., Dumas, C., Cock, J. M., & Hugueney, P. (2008). Scent evolution in Chinese roses. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(15), 5927-5932. <https://doi.org/10.1073/pnas.0711551105>
- Schaal, B., Coureaud, G., Langlois, D., Giniès, C., Sémon, E., & Perrier, G. (2003). Chemical and behavioural characterization of the rabbit mammary pheromone. *Nature*, 424(6944), Article 6944. <https://doi.org/10.1038/nature01739>
- Schaefer, L. V., Dech, S., Aehle, M., & Bittmann, F. N. (2021). Disgusting odours affect the characteristics of the Adaptive Force in contrast to neutral and pleasant odours. *Scientific Reports*, 11(1), 16410. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-95759-0>
- Schäfer, L., Schriever, V. A., & Croy, I. (2021). Human olfactory dysfunction : Causes and consequences. *Cell and Tissue Research*, 383(1), 569-579. <https://doi.org/10.1007/s00441-020-03381-9>
- Schäfer, L., Sorokowska, A., Sauter, J., Schmidt, A. H., & Croy, I. (2020). Body odours as a chemosignal in the mother–child relationship : New insights based on an human leucocyte antigen-genotyped family cohort. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 375(1800), 20190266. <https://doi.org/10.1098/rstb.2019.0266>
- Schmidt, H. J., & Beauchamp, G. K. (1988). Adult-Like Odor Preferences and Aversions in Three-Year-Old Children. *Child Development*, 59(4), 1136-1143. <https://doi.org/10.2307/1130280>
- Sezille, C., Fournel, A., Rouby, C., Rinck, F., & Bensafi, M. (2014). Hedonic appreciation and verbal description of pleasant and unpleasant odors in untrained, trainee cooks, flavorists, and perfumers. *Frontiers in Psychology*, 5. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2014.00012>
- Shalit, M., Shafir, S., Larkov, O., Bar, E., Kaslassi, D., Adam, Z., Zamir, D., Vainstein, A., Weiss, D., Ravid, U., & Lewinsohn, E. (2004). Volatile compounds emitted by rose cultivars : Fragrance perception by man and honeybees. *Israel Journal of Plant Sciences*, 52(3), 245-255. <https://doi.org/10.1560/P7G3-FT41-XJCP-1XFM>
- Stevenson, R. J. (2010). An Initial Evaluation of the Functions of Human Olfaction. *Chemical Senses*, 35(1), 3-20. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjp083>
- Sun, P., Dégut, C., Réty, S., Caissard, J., Hibrand-Saint Oyant, L., Bony, A., Paramita, S. N., Conart, C., Magnard, J., Jeauffre, J., Abd-El-Haliem, A. M., Marie-Magdelaine, J., Thouroude, T., Baltenweck, R., Tisné, C., Foucher, F., Haring, M., Hugueney, P., Schuurink, R. C., & Baudino, S. (2020). Functional diversification in the *Nudix hydrolase* gene family drives sesquiterpene biosynthesis in *Rosa × wichurana*. *The Plant Journal*, 104(1), 185-199. <https://doi.org/10.1111/tbj.14916>

Références

- Sun, P., Schuurink, R. C., Caissard, J.-C., Hugueney, P., & Baudino, S. (2016). My Way : Noncanonical Biosynthesis Pathways for Plant Volatiles. *Trends in Plant Science*, 21(10), 884-894. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.07.007>
- Swanson, L. W. (1982). The projections of the ventral tegmental area and adjacent regions : A combined fluorescent retrograde tracer and immunofluorescence study in the rat. *Brain Research Bulletin*, 9(1), 321-353. [https://doi.org/10.1016/0361-9230\(82\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0361-9230(82)90145-9)
- Tholl, D. (2015). Biosynthesis and Biological Functions of Terpenoids in Plants. In J. Schrader & J. Bohlmann (Éds.), *Biotechnology of Isoprenoids* (Vol. 148, p. 63-106). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/10_2014_295
- Thomas-Danguin, T., Sinding, C., Romagny, S., El Mountassir, F., Atanasova, B., Le Berre, E., Le Bon, A.-M., & Coureaud, G. (2014). The perception of odor objects in everyday life : A review on the processing of odor mixtures. *Frontiers in Psychology*, 5. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpsyg.2014.00504>
- Tokumo, K., Tamura, N., Hirai, T., & Nishio, H. (2006). Effects of (Z)-3-hexenol, a major component of green odor, on anxiety-related behavior of the mouse in an elevated plus-maze test and biogenic amines and their metabolites in the brain. *Behavioural Brain Research*, 166(2), 247-252. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2005.08.008>
- Tomi, K., Sakaguchi, E., Ueda, S., Matsumura, Y., & Hayashi, T. (2017). Physiological and Psychological Effects of Rose 'Wishing' Flowers and Their Hydrosols on the Human Autonomic Nervous System and Mood State. *The Horticulture Journal*, 86(1), 105-112. <https://doi.org/10.2503/hortj.MI-098>
- Tsuji, T., Tsuji, C., Lozic, M., Ludwig, M., & Leng, G. (2019). Coding of odors in the anterior olfactory nucleus. *Physiological Reports*, 7(22), e14284. <https://doi.org/10.14814/phy2.14284>
- Tucker, A. O. (2004). Identification of the Rose, Sage, Iris, and Lily in the « Blue Bird Fresco » from Knossos, Crete (ca. 1450 B.C.E.). *Economic Botany*, 58(4), 733-736.
- Uchida, N., Poo, C., & Haddad, R. (2014). Coding and Transformations in the Olfactory System. *Annual Review of Neuroscience*, 37(1), 363-385. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-071013-013941>
- Ueno, H., Shimada, A., Suemitsu, S., Murakami, S., Kitamura, N., Wani, K., Matsumoto, Y., Okamoto, M., & Ishihara, T. (2019). Anti-depressive-like effect of 2-phenylethanol inhalation in mice. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 111, 1499-1506. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.10.073>
- Ueno, H., Shimada, A., Suemitsu, S., Murakami, S., Kitamura, N., Wani, K., Takahashi, Y., Matsumoto, Y., Okamoto, M., & Ishihara, T. (2020). Hexanal inhalation affects cognition and anxiety-like behavior in mice. *Zeitschrift Für Naturforschung C*, 75(11-12), 409-415. <https://doi.org/10.1515/znc-2019-0215>
- Umezu, T., Ito, H., Nagano, K., Yamakoshi, M., Oouchi, H., Sakaniwa, M., & Morita, M. (2002). Anticonflict effects of rose oil and identification of its active constituents. *Life Sciences*, 72(1), 91-102. [https://doi.org/10.1016/S0024-3205\(02\)02197-5](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(02)02197-5)
- Vancanneyt, G., Sanz, C., Farmaki, T., Paneque, M., Ortego, F., Castañera, P., & Sánchez-Serrano, J. J. (2001). Hydroperoxide lyase depletion in transgenic potato plants leads to an increase in aphid performance. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(14), 8139-8144. <https://doi.org/10.1073/pnas.141079498>
- Wacker, D. W., Engelmann, M., Tobin, V. A., Meddle, S. L., & Ludwig, M. (2011). Vasopressin and social odor processing in the olfactory bulb and anterior olfactory nucleus. *Annals of the New*

Références

- York Academy of Sciences, 1220(1), 106-116. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2010.05885.x>
- Wasternack, C., & Strnad, M. (2018). Jasmonates : News on Occurrence, Biosynthesis, Metabolism and Action of an Ancient Group of Signaling Compounds. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(9), Article 9. <https://doi.org/10.3390/ijms19092539>
- Watanabe, T., Fujihara, M., Murakami, E., Miyoshi, M., Tanaka, Y., Koba, S., & Tachibana, H. (2011). Green odor and depressive-like state in rats : Toward an evidence-based alternative medicine? *Behavioural Brain Research*, 224(2), 290-296. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.06.001>
- Weber, S. T., & Heuberger, E. (2008). The Impact of Natural Odors on Affective States in Humans. *Chemical Senses*, 33(5), 441-447. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjn011>
- Weiss, D., Guterman, I., Masci, T., Chen, X., Negre, F., Pichersky, E., Dudareva, N., & Vainstein, A. (2006). *Generation of Phenylpropanoid Pathway-Derived Volatiles in Transgenic Plants : Rose Alcohol Acetyltransferase Produces Phenylethyl Acetate and Benzyl Acetate in Petunia Flowers*. <https://doi.org/10.1007/s11103-005-4924-x>
- Weiss, T., Snitz, K., Yablonka, A., Khan, R. M., Gafsou, D., Schneidman, E., & Sobel, N. (2012). Perceptual convergence of multi-component mixtures in olfaction implies an olfactory white. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(49), 19959-19964. <https://doi.org/10.1073/pnas.1208110109>
- Wicker, B., Keysers, C., Plailly, J., Royet, J.-P., Gallese, V., & Rizzolatti, G. (2003). Both of Us Disgusted in My Insula : The Common Neural Basis of Seeing and Feeling Disgust. *Neuron*, 40(3), 655-664. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(03\)00679-2](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(03)00679-2)
- Widhalm, J. R., & Dudareva, N. (2015). A Familiar Ring to It : Biosynthesis of Plant Benzoic Acids. *Molecular Plant*, 8(1), 83-97. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.12.001>
- Williams, D. A. (2007). *Comparative Study of Cut Roses for the British Market Produced in Kenya and the Netherlands*.
- Wilson, D. A., & Stevenson, R. J. (2003). The fundamental role of memory in olfactory perception. *Trends in Neurosciences*, 26(5), 243-247. [https://doi.org/10.1016/S0166-2236\(03\)00076-6](https://doi.org/10.1016/S0166-2236(03)00076-6)
- Wissemann, V. (2003). *Conventional taxonomy of wild roses*. *Encyclopedia of Rosa science*.
- Wissemann, V., & Ritz, C. M. (2005). The genus Rosa (Rosoidae, Rosaceae) revisited : Molecular analysis of nrITS-1 and atpB-rbcl intergenic spacer (IGS) versus conventional taxonomy. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 147(3), 275-290. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2005.00368.x>
- Wolf, G. (2021, août 12). Measuring Mood and Emotion. *Quantified Self*. <https://quantifiedself.com/blog/measuring-mood-current-resea/>
- World Health Organization. (2021). *Health Promotion Glossary of Terms 2021*. <https://www.who.int/publications-detail-redirect/9789240038349>
- Wright, G. A., Lutmerding, A., Dudareva, N., & Smith, B. H. (2005). Intensity and the ratios of compounds in the scent of snapdragon flowers affect scent discrimination by honeybees (*Apis mellifera*). *Journal of Comparative Physiology A*, 191(2), 105-114. <https://doi.org/10.1007/s00359-004-0576-6>
- Wu, A., Yu, B., & Komiyama, T. (2020). Plasticity in olfactory bulb circuits. *Current Opinion in Neurobiology*, 64, 17-23. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2020.01.007>

Références

- Xiao, W., Lv, Q., Gao, X., Sun, Z., Yan, X., & Wei, Y. (2020a). Different Brain Activation in Response to Repeated Odors of Pleasantness and Unpleasantness. *Chemosensory Perception*, 13(1), 84-91. <https://doi.org/10.1007/s12078-019-09270-y>
- Xiao, W., Lv, Q., Gao, X., Sun, Z., Yan, X., & Wei, Y. (2020b). Different Brain Activation in Response to Repeated Odors of Pleasantness and Unpleasantness. *Chemosensory Perception*, 13(1), 84-91. <https://doi.org/10.1007/s12078-019-09270-y>
- Xiao, Z., Li, J., Niu, Y., Liu, Q., & Liu, J. (2017). Verification of key odorants in rose oil by gas chromatography–olfactometry/aroma extract dilution analysis, odour activity value and aroma recombination. *Natural Product Research*, 31(19), 2294-2302. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1303693>
- Xiao, Z., Luo, J., Niu, Y., & Wu, M. (2018). Characterization of key aroma compounds from different rose essential oils using gas chromatography-mass spectrometry, gas chromatography–olfactometry and partial least squares regression. *Natural Product Research*, 32(13), 1567-1572. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1389933>
- Xiong, A., & Wesson, D. W. (2016). Illustrated Review of the Ventral Striatum's Olfactory Tubercle. *Chemical Senses*, 41(7), 549-555. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjw069>
- Yan, H., Baudino, S., Caissard, J.-C., Florence Nicolè, Zhang, H., Tang, K., Li, S., & Lu, S. (2018). Functional characterization of the eugenol synthase gene (RcEGS1) in rose. *Plant Physiology and Biochemistry*, 129, 21-26. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.05.015>
- Yassa, N., Masoomi, F., Rankouhi, S. E. R., & Hadjiakhoondi, A. (2015). Chemical Composition and Antioxidant Activity of the Extract and Essential oil of Rosa damascena from Iran, Population of Guilan. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 17(3), Article 3.
- Yeshurun, Y., & Sobel, N. (2010). An Odor is Not Worth a Thousand Words : From Multidimensional Odors to Unidimensional Odor Objects. *Annual Review of Psychology*, 61(1), 219-241. <https://doi.org/10.1146/annurev.psych.60.110707.163639>
- Yi, F., Sun, J., Ma, B., & Sun, M. (2019). Activities of rose essential oils. *Food Science and Technology*, 7.
- Zarzo, M. (2011). Hedonic Judgments of Chemical Compounds Are Correlated with Molecular Size. *Sensors*, 11(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/s110403667>
- Zatorre, R. J., Jones-Gotman, M., & Rouby, C. (2000). Neural mechanisms involved in odor pleasantness and intensity judgments. *NeuroReport*, 11(12), 2711-2716.
- Zelano, C., Montag, J., Johnson, B., Khan, R., & Sobel, N. (2007). Dissociated Representations of Irritation and Valence in Human Primary Olfactory Cortex. *Journal of Neurophysiology*, 97(3), 1969-1976. <https://doi.org/10.1152/jn.01122.2006>
- Zhang, Z., Liu, Q., Wen, P., Zhang, J., Rao, X., Zhou, Z., Zhang, H., He, X., Li, J., Zhou, Z., Xu, X., Zhang, X., Luo, R., Lv, G., Li, H., Cao, P., Wang, L., & Xu, F. (2017). Activation of the dopaminergic pathway from VTA to the medial olfactory tubercle generates odor-preference and reward. *eLife*, 6, e25423. <https://doi.org/10.7554/eLife.25423>
- Zhang, Zhou, C., Xu, K., Tian, C., Zhang, M., Lu, L., Zhu, C., Lai, Z., & Guo, Y. (2022). A Comprehensive Investigation of Macro-Composition and Volatile Compounds in Spring-Picked and Autumn-Picked White Tea. *Foods*, 11(22), Article 22. <https://doi.org/10.3390/foods11223628>
- Zhao, C.-Y., Xue, J., Cai, X.-D., Guo, J., Li, B., & Wu, S. (2016). Assessment of the key aroma compounds in rose-based products. *Journal of Food and Drug Analysis*, 24(3), 471-476. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.02.013>

Références

- Zhou, J.-H., & Chen, Y.-M. (2022). [Interaction of olfaction and feeding behavior and its neural mechanism]. *Sheng li xue bao*, 74(2), 276-282.
- Zhou, L., Yu, C., Cheng, B., Wan, H., Luo, L., Pan, H., & Zhang, Q. (2020a). Volatile compound analysis and aroma evaluation of tea-scented roses in China. *Industrial Crops and Products*, 155, 112735. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112735>
- Zhou, L., Yu, C., Cheng, B., Wan, H., Luo, L., Pan, H., & Zhang, Q. (2020b). Volatile compound analysis and aroma evaluation of tea-scented roses in China. *Industrial Crops and Products*, 155, 112735. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112735>
- Zufall, F. (2000). The Cellular and Molecular Basis of Odor Adaptation. *Chemical Senses*, 25(4), 473-481. <https://doi.org/10.1093/chemse/25.4.473>
- Zvi, M. M. B., Shklarman, E., Masci, T., Kalev, H., Debener, T., Shafir, S., Ovadis, M., & Vainstein, A. (2012). PAP1 transcription factor enhances production of phenylpropanoid and terpenoid scent compounds in rose flowers. *New Phytologist*, 195(2), 335-345. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04161.x>

Annexes

Annexe 1: Impact of odor-induced reduction in anxiety on brain's activity and connectivity

Diminution du niveau d'anxiété par les odeurs chez la souris : analyse de l'activité neuronale et de la connectivité cérébrale.

Dans le contexte de mon étude sur la perception de l'odeur de rose chez l'homme, j'ai saisi l'opportunité de participer à un projet annexe dans l'équipe Neuropop au CRNL: l'étude des effets d'un enrichissement olfactif sur le comportement anxieux chez la souris adulte. Ce projet qui consiste à rechercher les bases neurales sous-tendant les modifications de l'anxiété par les odeurs, m'a permis de me former aux approches cellulaires chez le rongeur. En effet, j'ai pu réaliser des expériences d'immunohistochimie, de quantification et d'analyse de données cellulaires. M. Midroit avec N. Mandairon ont élaboré le projet. M. Midroit a également effectué les études et analyses comportementales ainsi que l'écriture d'une partie des résultats. N. Mandairon, L. Chalençon et A. Athanassi ont participé aux analyses et à l'écriture du papier. L'étude de la connectivité fonctionnelle a été réalisée par N. Mandairon et M. Thevenet en suivant la méthodologie développée par M. Cavelius et A. Didier (Thèse M. Cavelius) et inspirée de la littérature (Horwitz et al. 1995 ; Wheeler et al., 2013 ; Babayan et al., 2017 ; Vetere et al., 2017). A. Didier a participé à l'écriture du manuscrit. Des expériences complémentaires seront réalisées par la suite pour compléter ces données et aboutir à la version finale d'un article.

Résumé :

Les troubles anxieux font partie d'un groupe de maladies mentales qui se caractérisent par des sentiments de peur ou d'inquiétude. L'exposition aux odeurs peut être utilisée pour réduire l'anxiété, cependant, les bases neurales de cette amélioration émotionnelle n'est pas claire. Dans ce contexte, nous avons étudié l'activité et la connectivité cérébrales chez des souris enrichies avec des odeurs plaisantes qui montrent une réduction de leur niveau d'anxiété par rapport à des souris enrichies avec des odeurs neutres qui n'ont pas de changement d'anxiété. L'analyse de l'expression du gène précoce c-Fos, utilisé comme marqueur d'activité neural, dans vingt régions du cerveau impliquées dans le traitement de l'information olfactive et de l'anxiété a permis d'identifier un pattern d'activités corrélées qui est spécifique de la réduction de l'anxiété induite par les odeurs. Au sein du réseau d'activités

corrélées, nous avons identifié des structures cérébrales clés qui pourraient soutenir cette amélioration émotionnelle en présentant une connectivité particulièrement accrue, le noyau thalamique paraventriculaire, le noyau hypothalamique paraventriculaire et l'aire amygdaloïde postéro-latérale-corticale. Ces résultats confirment l'efficacité de la stimulation olfactive sur le bien-être et proposent des mécanismes neuronaux et des régions qui pourraient jouer un rôle privilégié dans ce processus.

Abstract

Anxiety disorders are a group of mental illnesses that is characterized by feelings of fear or worry. Odor exposure can be used to reduce anxiety; however, the neural basis of this emotional improvement is unclear. In this context, we investigated brain activity and connectivity in mice enriched with pleasant odorants that showed a reduction of anxiety compared to mice enriched with neutral odorants showing no change in anxiety level. Analysis of c-Fos expression across twenty brain regions involved in olfactory and anxiety circuits allowed the identification of a pattern of correlated activity specific of the odor-induced reduction in anxiety. Within the network of correlated activity, we identified key brain structures that could sustain this emotional improvement by presenting important increased connectivity, the paraventricular thalamic nucleus, the hypothalamic paraventricular nucleus and the postero-lateral-cortical amygdaloid area. These findings confirm the efficiency of odorant stimulation on well-being and further propose neural mechanism and regions that may play privileged roles in this process.

Key words: olfaction, anxiety, behavior, odor enrichment, cellular imagery, connectivity

Introduction

Anxiety disorders are a group of mental health conditions that impact 4% of the global population (1–3). They involve excessive worrying, social or specific phobias, fear, nervousness, or dread. Pharmacological therapies as well as non pharmacological therapies such as behavioral or cognitive therapy, meditation, yoga or odor exposure (4–9) are available. The efficiency of odor exposure to reduce anxiety has been largely documented (4,10–14). In humans, different odorants or essential oils, often judged as pleasant, have been shown to improve mood, reduce anxiety and make people feel good (4,15–17). A decrease in the level of anxiety has also been observed in animal models using standard behavioral tests such as the OpenField, Elevated plus maze, or the Black/White Box. These tests are based on the pattern of exploration of the anxiogenic zones of the experimental set ups by the animals, higher levels of exploration characterizing a lower anxiety state. Using these tests, several odorants including green odor, linalool, lavender, lemon, Citrus aurantium, or rose for instance have shown an anxiolytic effect (18–30).

The neural basis of the anxiolytic effect of odors are still unclear. During odor diffusion, air borne odorant molecules enter in the nasal cavity and bind the olfactory receptor neurons located in the olfactory epithelium (31,32). These sensory neurons project their axons to the main and accessory olfactory bulbs which then send the olfactory signal to both cortical and limbic brain centers including the anterior olfactory nucleus, the piriform cortex, the cortical amygdala, the olfactory tubercle (which is part of the ventral striatum) and the entorhinal cortex (32–34). These regions are closely connected to the hippocampus and thalamus, all together allowing the perception of the odor. There are significant connections or even overlap between the chemosensory circuit and the brain regions processing anxiety which involve cortical and sub cortical limbic structures (pre and infralimbic areas, amygdala, hippocampus, paraventricular thalamic nucleus, paraventricular hypothalamic nucleus, bed nucleus of the stria terminalis), other cortical cingular and insular cortices endopiriform nucleus (connected to the piriform cortex) and sub cortical areas such as the postero-lateral-cortical amygdaloid area (,connected to the hippocampus,) and the parabrachial nucleus (connected to the thalamus) . This large enmeshment may explain the strong impact of odorants on emotional behavior (4).

The neural mechanisms underlying odor-driven reduction in anxiety have been investigated using quantification of brain activity by assessment of c-fos expression, an immediate early gene that is expressed in activated cells. Change in c-Fos expression in response to changes in anxiety level has been observed in the hypothalamus, paraventricular thalamic nucleus, hippocampus, anterior cingulate cortex and the amygdala (35–41). Some of these regions are part of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis, or of the central component of the sympathetic nervous system suggesting that odorants that reduce anxiety may change the activity of brain regions involved in moderating the stress responses (39,42,43).

Some odorants have thus demonstrated their efficiency on reducing anxiety with changes in neural activity in some regions of the anxiety circuit. The limitation of these studies conducted in rodents is that the authors focused on few regions of interest. Per consequence, despite this literature, the functional neural network involved in the anxiolytic effect of odorants and how it is coordinated are unclear.

In this context, we describe here the activation of a brain network including 20 regions (listed above) of the olfactory and anxiety circuits in odor-driven changes in emotional behavior. To do so, we exposed mice to pleasant (attractive) or neutral (same level of attraction as no-odor) odorants and compared after 10 days of odor exposure the mouse anxiety level between the two experimental groups. Using c-Fos imaging and functional connectivity analysis, we revealed an increase of connectivity across a large network of brain regions when anxiety is reduced by odor exposure. We identified key brain structures presenting important increased connectivity that could sustain this emotional improvement, the paraventricular thalamic nucleus, the hypothalamic paraventricular nucleus and the posterolateral cortical amygdaloid area.

Material and Methods

Animals

Adult male C57Bl6/J mice (Charles River Laboratories, L'Arbresle, France) aged 2 months at the beginning of the experiments were used. Experiments were done following procedures in accordance with the European Community Council Directive of 22nd September 2010 (2010/63/UE) and the National Ethics Committee (Agreement DR2013-48 (vM)). All experiments have been conducted after at least 1 week of habituation to the animal facility.

Mice were housed in groups of 3-5 per cage. They were kept on a 12 h light/dark cycle (22°C) with food and water *ad libitum*.

Experimental design

All mice were subjected to an olfactory enrichment period followed by 2 behavioral tests used to assess anxiety-like behavior: OpenField and then Black/White box tests (Figure 1). Behavioral tests were not randomized in order to sacrifice all animals after the same test and allowed the assessment of the network responding to this condition. Four experimental groups were exposed either to one odorant known to be attractive ((+)-Limonene (Lim), Cis-3-hexenol (Cis3)) or one odorant known to be neutral (β -caryophyllene (Caryo), 2-Dodecanone (Dodec)) during the enrichment period and the odorant used for enrichment was also present during the two behavioral tests (44). A control non-enriched group was also included and tested with no odor (no odor (NO)). All mice were sacrificed one hour after the end of Black/White box test (Figure 1).

Odorants

Olfactory enrichment was performed during 10 days by exposing the animals kept in their own cage to the odorant for 1 hour in the morning and 1 hour in the afternoon (5 days of enrichment, 2 days off, 5 days of enrichment again) (Figure 1). For all experimental groups, 4 ml of the odorant was presented on a piece of polypropylene placed in a glass receptacle outside of the cage (5 cm from the cage). For the control NO group, 4 ml of mineral oil was displayed on the piece of polypropylene. All odorants used for the enrichment and tests were diluted in mineral oil in order to reach a vapour partial pressure of 10 Pa (Limonene + (Lim; CAS : 5989-27-5; 1.6% dilution for 1 Pa vapor), Cis-3-hexanol (Cis3; CAS: 928-96-1; 2.4% dilution for 1 Pa vapor), β -caryophyllene (Caryo; CAS: 110-87-44, 336.4% dilution for 1 Pa vapor), 2-Dodecanone (Dodec; CAS: 66-25-1, 0.2% dilution for 1 Pa vapor).

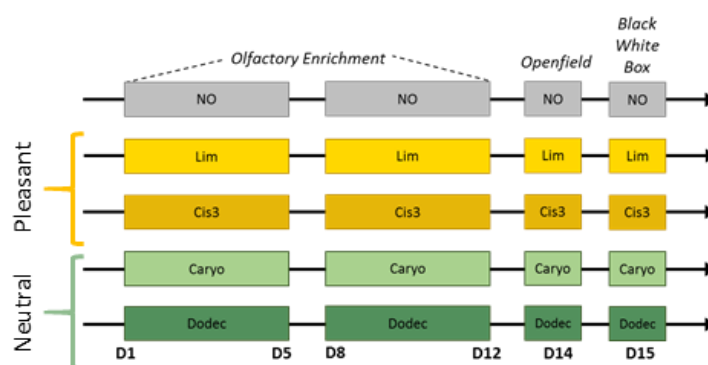


Figure 1. Time course of the experiment. Mice were subjected to an olfactory enrichment twice daily during 10 days. The OpenField test was scheduled the day after the end of olfactory enrichment and the black white box test the day after. Animals were sacrificed one hour after the end of the Black/White box session. NO: no odor; Lim: Limonene + ; Cis3: Cis-3-hexenol; Bcaryo: β-caryophyllene; Dodec: 2-Dodecanone.

OpenField test

The OpenField (Bright 50 cm x 50 cm uncovered walled arena) was used to study anxiety-like behavior (45). Each trial started when the mouse was placed in the right lower corner of the clear arena. Mice were free to explore the arena during 5 min during which their behavior was video-monitored using the custom-made Volcan motion-tracking software (46,47). Each mouse was tested once in the OpenField. In between mice, the apparatus was cleaned with alcohol. We examined the number of entries in the centre delimited at 8 cm from each edge of the arena in mice enriched with Lim (n=9), Cis3 (n=9), Caryo (n=11), Dodec (n=9) and non-enriched (n=12). An increase of this number of entries is an index of a lower level of anxiety-like behavior. The number of entries was averaged across mice in a given experimental group and expressed as a percentage of the no odor condition group (number of entries in experimental group / number of entries in NO group *100). In addition, we recorded the mouse average speed as a reflect of their motor activity using Volcan.

Black/White Box test

The Black/White Box (20 cm x 20 cm) is composed of two covered compartments of separated by a black wall with an aperture (small door) in its centre (5 cm x 5 cm) to allow the mouse accessing both compartments. The white compartment and has walls that are transparent and opened to the light in the room. The other compartment is painted in black to make it dark. Each trial started when the mouse was placed on the edge of the white compartment, facing

the aperture. Mice were free to explore the two compartments during 5 min. A camera placed above the white compartment allowed to automatically record the time spent in it using Volcan software (46,47). Each mouse was tested once (Lim (n=14), Cis3 (n=25), Caryl (n=14), Dodec (n=13) and non-enriched (n=12)), two days after the end of the enrichment period. Between each trial, the apparatus was cleaned with alcohol. An increase of the time spent in the white compared to the black compartment reflects a decrease of anxiety-like behavior. The ratio of the time spent in the white compartment over the total time spent in the box was averaged across mice of the experimental group and expressed as a percentage of the no odor condition group (time spent in the white compartment in experimental group / time spent in the white compartment in NO group *100).

Statistics

No statistical methods were used to predetermine sample sizes, but our sample sizes were similar to those reported in previous publications (46,47). Data collection and animal assignment to the various experimental groups were randomized. All statistical analyses were performed using RStudio Team (2018) (RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/.software>). Kolmogorof Smirnof test was used to assess the normality and variance was assessed using Bartlett test according to the data distribution. We averaged and compared data of mice enriched with odorants known to have positive hedonic value (Lim and Cis3) and data of mice enriched with odorants known to have neutral hedonic value (Caryl and Dodec) (44) using similar statistical tests. For the openfield and the Black/white box, the calculated index (percentage of time spent in the anxiogenic areas in experimental groups compared to the No Odor group) was analysed by one sample t-test for difference from 100% after normality checking using a Kolmogorof Smirnof test. A score significantly different from 100% indicates that the odor enrichment influences the mouse's anxiety-like behavior. Locomotor activity in the openfield was similarly tested for difference from 100% (No odor control locomotor activity) by a one-sample t-test.

Behavioral assessment of odor attraction

Using a one hole-board apparatus, we assessed odor attraction of the 4 odorants used for the enrichment (44,48,49). Odor attraction was measured in a new group of mice (n=23) using odor investigation time. A polypropylene swab impregnated with 60 mL of odorant was placed

at the bottom of the hole, under a grid covered with clean bedding. Animals were allowed to explore freely each of the 4 odorants and were also tested in a no odor condition (60 mL of mineral oil) for 2 min. As previously described, we used a computer-assisted one-hole-board apparatus fitted with sensors to automatically monitor the duration of nose poking into the central hole (44,49). Total duration of nose poking into the hole was used as a measure of odor attraction. The bedding was replaced after each trial. Each animal was tested on one odorant per day. Odorants were randomly presented and animals performed no more than 2 consecutive days of testing. After normality assessment using Kolmogorof Smirnov test, ANOVA for repeated measures followed by permutation tests (1 000 000 permutations) were used to assess odor hedonics.

Cell Analysis

Sacrifice. Five animals per group were randomly chosen for neuronal activity analysis. One hour after the Black/White Box test, mice were injected with ketamine anaesthetic (100 mg/kg) and then sacrificed using euthasol (400mg/kg) and intracardiac perfusion of 50 ml of fixative (PFA 4%, pH = 7.4). The 1-h delay has previously been shown to enable the expression of c-Fos in response to odorant stimulation (50,51). The brains were removed, post-fixed overnight, cryoprotected in sucrose (30%), frozen rapidly, and then stored at -20°C before sectioning with a cryostat (14 µm; 210 µm intervals).

Immunohistochemistry. A rabbit anti-c-Fos primary antibody was used (1: 5000; Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA) and combined to biotinylated goat anti-rabbit (1:200; Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA). Brain sections were then processed through an avidin–biotin–peroxidase complex (ABC Elite Kit, Vector Laboratories). Following dehydration in graded ethanol, sections were defatted in xylene and coverslipped in DPX (Fluka, Sigma).

Cellular Mapping. C-Fos immune-positive cells were quantified by using a mapping software (Mercator, Exploranova, LaRoche, France) coupled to a Zeiss microscope. We outlined the external contour of each right side of the brain section manually, and we drew the inter-hemispheric fissure in order to automatically align all brain sections along the dorsoventral axis later on. Positive cells were then automatically counted. All experimental brains were automatically registered into the Paxinos Atlas (« The mouse brain », Paxinos and Franklin's, 4th edition) using a matching software (52). Using this software, each labelled c-Fos+ cell is correctly located in the common Paxinos Atlas and is thus spatially assigned to one region or

sub-region. We then selected 20 regions of the olfactory system (32) and regions that were involved in the anxiety circuit (4) and extracted the density of labelled c-Fos positive cells in these brain circuits (Figure 2).

Statistics. All statistical analyses were performed using RStudio Team (2018) (RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/.software>). Kolmogorof Smirnof test and Bartlett test were used to assess the normality and variance of c-fos-positive cell density respectively. Considering the data distribution, non-parametric Kruskal Wallis tests were performed.

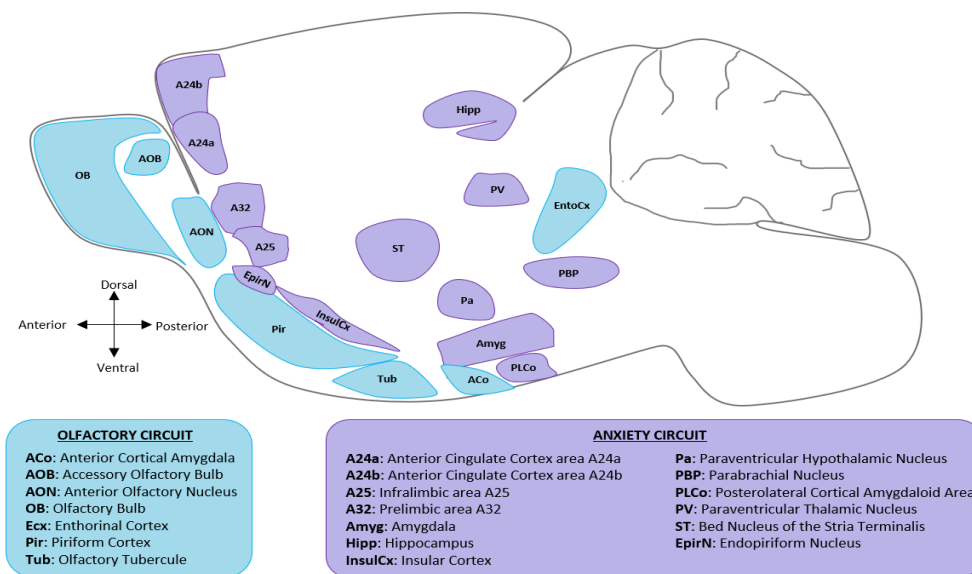


Figure 2. Schematic localization and systemic classification of the 20 studied brain structures.

Functional connectivity analysis. Within each of the three experimental groups (Non-enriched, enriched with pleasant odors, enriched with neutral odors), all pairwise correlations between c-Fos densities in the 20 regions were determined by computing Pearson's correlations (totaling 190 correlations). These correlations reflect the co-variation of the density of c-Fos positive cells in two regions across mice and are interpreted as functional connections between these two regions (53–56). Each set of correlations was displayed as color-coded correlation matrices using Matlab software (Mathworks, Natick, MA). In the network graphs representing all significant correlations, each region is represented by a point called a node. The size of the node represents the number of regions to which this node is connected (degree). The lines between the regions represent the correlations. The thickness of the lines the strength of the correlation.

In order to evaluate how functional connectivity changed as a function of odor hedonic enrichment, we calculated the percentage of significant correlations ($p \leq 0.005$ corresponding to $r \geq 0.83$, uncorrected for multiple comparisons) among the total number of all possible correlations for each experimental group and used t-test for comparison of proportions. To go further, we categorized our 20 regions into two major brain subdivisions (olfactory system and anxiety circuit) and after similar calculation we compared again the percentage of significant correlation between groups for each subregion.

Result

Odorants with positive hedonic value decrease anxiety-like behavior

The aim of the study was to investigate the neural basis of odor-reduced anxiety. We first hypothesized that pleasant odorants will be more efficient to reduce anxiety than neutral ones (16,17). Thus, in line with previous works, we selected 4 odorants, chosen to be unfamiliar and with no particular biological significance, known to be attractive (Lim and Cis3) or neutral (Bcaryo, Dodec) (44,49). We also had a control no-odor condition. We quantified the duration of odor investigation as a measure for odor attraction and found that odorants elicited diverse investigation times (Anova for repeated measures $F(4,60)=2.67$, $p=0.04$, [Supp Figure 1](#)). We confirmed that Lim and Cis3 have a positive hedonic value compared to control no odor (t-test Lim, $p=0.024$ and Cis, $p=0.035$ with permutation tests = 0.023 and 0.03 respectively for Lim and Cis3) ([Supp Figure 1](#)). No difference of investigation time was retrieved between dodec ($p=0.84$), Caryo ($p=0.44$) and the no odor condition ([Supp Figure 1](#)). When pleasant odorants were averaged and compared to neutral and no odor condition, we

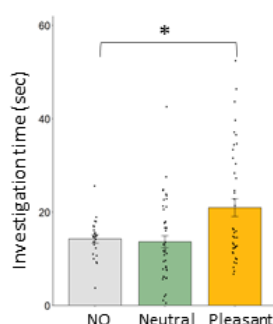


Figure 3. Mice displayed various levels of attraction for odorants. Investigation time was measured for 4 odorants (+Limonene, Lim; Cis-3-hexenol, Cis3; Caryophyllene, Caryo and Dodecanol, Dodec) and a control no odorant condition (NO). The level of investigation time was higher in response to odorants known to be pleasant (Lim, Cis3) compared to NO condition. This was not the case for odorants known to be neutral (Caryo, Dodec). Bars represent means of individual data points $\pm$ SEM. *: $p<0.05$.

confirmed a group effect (Anova, $F(2, 44)=7.4190$, $p=0.00167$) with a higher level of attraction for pleasant (attractive) odorants compared to NO condition (t-test $p=0.01$; permutation test $p=0.01$; **Figure 3**). This is not retrieved when neutral odorants were averaged and compared to NO condition (t-test $p=0.63$; **Figure 3**).

We then tested the level of anxiety using first the OpenField in pleasant versus neutral odor enriched groups. The group of mice enriched with pleasant odorants performed more entries in the centre of the OpenField leading to a higher score compared to control no-odor group ($p=0.0007$; **Figure 4A** and **Supp Figure 2A**). This result is not retrieved for neutral odorant enriched group ($p=0.51$; **Figure 4A** and **Supp Figure 2A**). This result was confirmed using the Black/White Box. Indeed, the group of mice enriched with pleasant but not neutral odorants spent more time in the white compartment compared to control no odor group (*Pleasant*: $p<0.0001$; *Neutral*: $p=0.79$; **Figure 4B** and **Supp Figure 2B**). These results indicate that, the level of anxiety differs based on hedonic value of the odorant used for the enrichment and the test and that pleasant odorants reduced anxiety-like behavior.

To ensure that this effect was not due to changes in locomotor activity, we assessed the average speed and covered distance of animals in the OpenField for the different groups and found no difference between enriched groups and no-odor condition (*Neutral*: $p = 0.23$ and $p=0.94$; *Pleasant*: $p = 0.11$ and $p=0.98$ for respectively average speed and covered distance; **Figure 4C and D** and **Supp Figure 2C and D**).

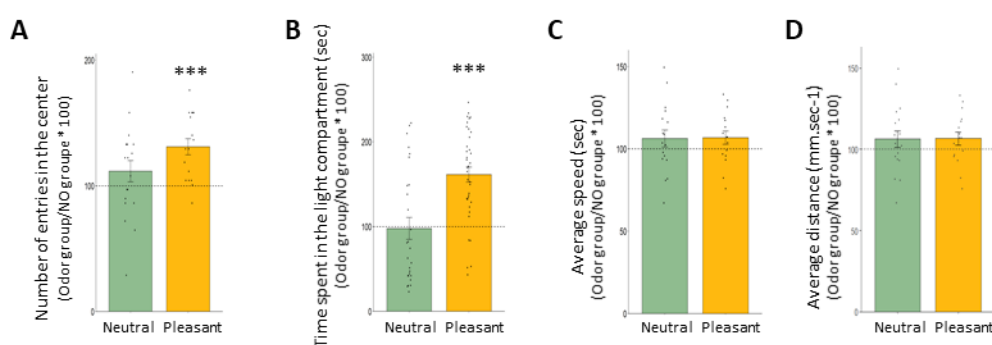


Figure 4. Anxiety-like behavior results. **A.** Results from the Openfield test. Enrichment pleasant odorants but not neutral ones increased the number of entries in the centre of the OpenField compared to control non-enriched animals. **B.** Results from the Black White Box test. Enrichment with pleasant odorants but not neutral ones increased the time spent in the light compartment of the Black White Box compared to control non-enriched animals. **C.** Enrichment using neutral or pleasant odorants has no effect on the average speed of mice. **D.** Enrichment using neutral or pleasant odorants has no effect on the average distance travelled per mice. Bars represent means of individual data points $\pm$ SEM. ***: $p<0.001$.

Brain activation pattern and network analysis

Neuronal activity was assessed in the three experimental groups (non-odor, enriched with pleasant odorant, enriched with neutral odorant) using the quantification of c-Fos expression after precise and automatic assignment of labelled cells to a brain structure (49,52). This method permits between group comparisons. We first measured the density of activated (c-Fos positive) neurons in 20 brain regions selected for their involvement in olfactory and emotional information processing in the three experimental groups. Our results showed that c-Fos positive cell density differed between brain regions (brain regions effect Kruskal-Wallis: $H(19, N= 440) = 181.7076$ $p < 0.0001$) with no difference between groups (group effect, Kruskal-Wallis : $H (2, N= 440) = 4,692376$ $p = 0.095$) (Figure 5). Similarly, no group effect was retrieved when analysing the mean density of c-Fos in individual sub-regions ($F(22,38) = 0.5729$, $p = 0.56$) nor in the 20 brain structures when averaged ($F(2, 19) = 0.25$, $p = 0.77$; Supp Figure 3A-B). This

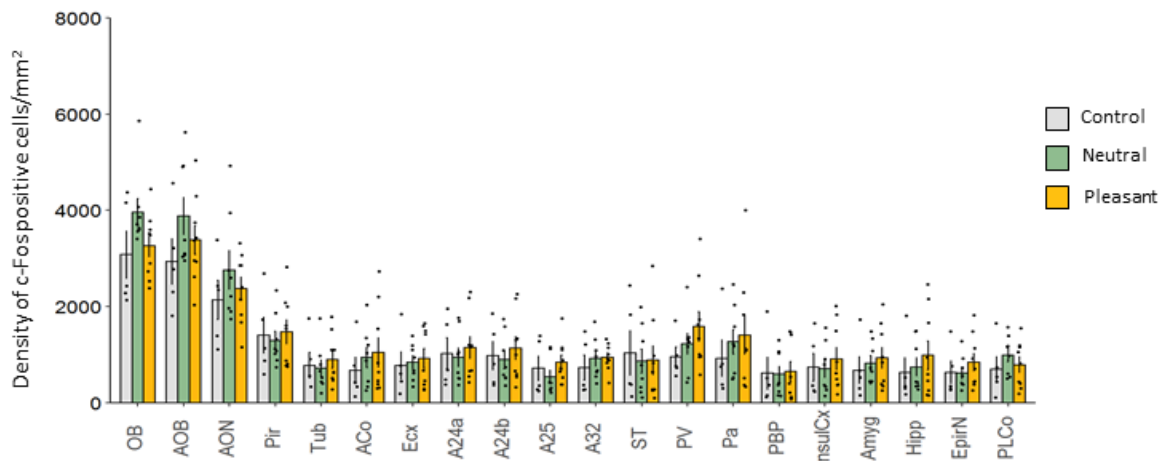


Figure 5. Density of c-Fos positive cells assessed in the 20 brain structures involved in olfactory and emotional information processing. Error bars represent the standard error of the mean. An effect of brain structure but not experimental group was observed indicating that the density of cFos-positive cells was similar between groups. Bars represent means of individual data points $\pm$ SEM.

suggests that the observed modulation of anxiety level using odor enrichment did not change the mean level of brain activity.

We then searched for modifications of brain connectivity because changes in emotional behavior is thought to involve the activation of multiple brain regions (57–61). Therefore, we examined how activity co-varied across regions (correlations) between groups with different level of anxiety evaluated during the black/white test. We thus generated for the three experimental groups, correlation matrices including all correlations and network graphs considering only highly significant correlations (Pearson's $r \geq 0.83$, $P < 0.005$) (Figure 6A-C). In

addition, correlation matrices and network graphs for each experimental group were generated using either more (Pearson's $r \geq 0.89$, $P < 0.001$) or less (Pearson's $r \geq 0.79$, $P < 0.01$) conservative thresholds in order to evaluate whether networks properties were stable across a range of conditions (Supp Figure 4A-B).

Interestingly, mice enriched with odor, regardless of the hedonic value of the odorants showed an increased connectivity compared to the control no odor group, indicating that odor enrichment did influence brain connectivity during the test. Importantly, the hedonic value of the enrichment odor also influenced changes in connectivity. Indeed, mice enriched with pleasant odorants displayed higher connectivity than mice enriched with neutral odorants (corrected t-test for comparisons of proportions, $p = 0.015$ Figure 6Di). When looking at the percentage of correlations in the olfactory versus the anxiety sub-systems, it appears that while no difference was observed between experimental groups of the olfactory sub-circuit (corrected t-test for comparisons of proportions, $p > 0.05$ Figure 6Dii), the percentage of connections of the sub-circuit of anxiety was significantly higher in pleasant compared to neutral odor enriched group (corrected t-test for comparisons of proportions, $p = 0.016$ Figure 6Diii).

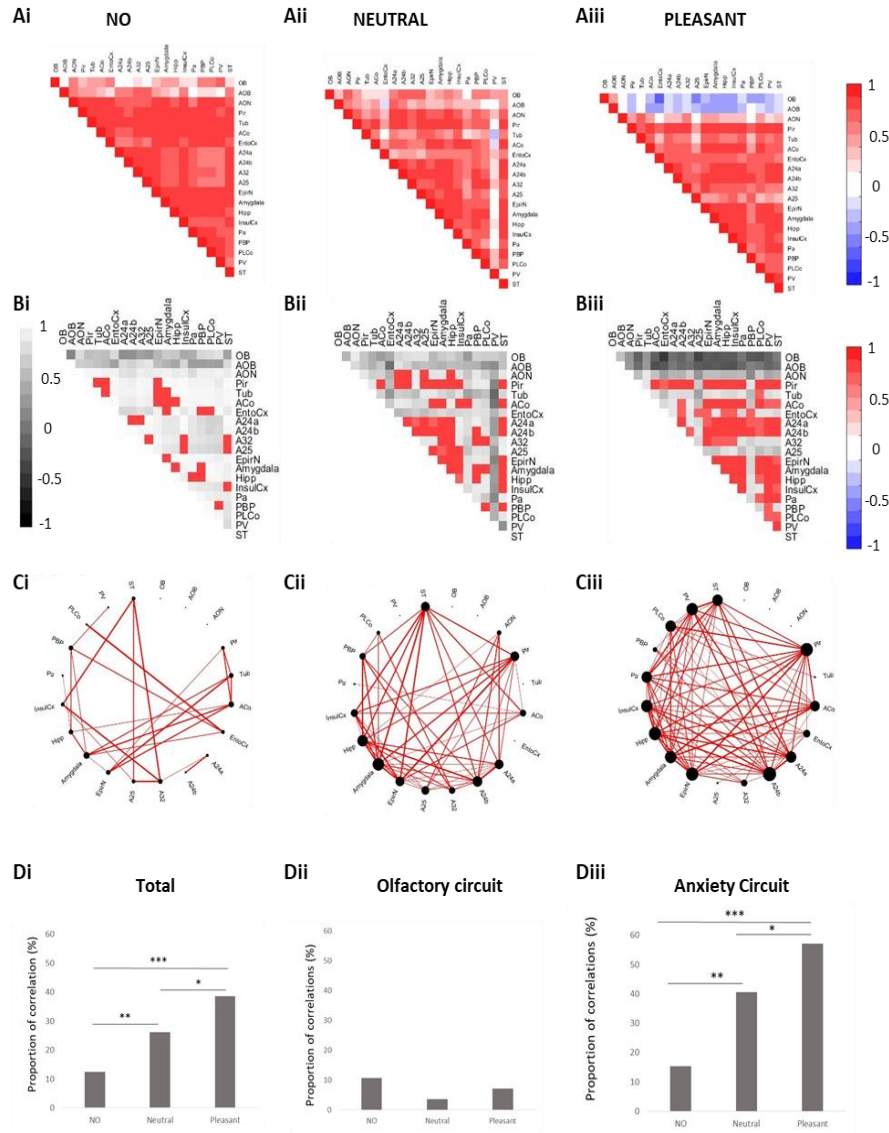


Figure 6. Enrichment specific functional connectivity in response to the Balck/White box test.

A. Color-coded matrix showing inter-regional correlations for cFos expression in the 20 selected brain regions for the (Ai) No odor (Aii) neutral and (Aiii) pleasant odor groups. **B.** Color-coded matrix constructed by thresholding inter-regional correlations with Pearson's $r > 0.83$, which correspond to significance level of $p < 0.005$ for the (Bi) No odor (Bii) neutral and (Biii) pleasant odor groups. **C.** Corresponding network graphs. The node size is proportional to the number of connections (degree) and the weight of the connection is proportional to the correlation strength. **D.** Percentage of significant correlations among all possible correlations in each group for (Di) the entire analyzed network (Dii) the olfactory and (Diii) anxiety circuit. Statistical analyses were assessed using bilateral corrected t-test for proportion. * $p < 0.05$; ** $p < 0.001$; *** $p < 0.0001$.

Our data suggest that odor-reduced anxiety is associated with enhanced coordinated activation of the anxiety network. Interestingly, the PV, Pa and PLCo were the brain structures that showed the strongest changes in the number of connections in attractive compared to neutral odor enriched mice (corrected one sample t-test for comparisons of proportions to

0%, PV, $p=0.002$; Pa, $p=0.01$ and PlCo, $p=0.036$; **Figure 7A**). Finally, we classified the brain regions based on the number of their connections (degree) and found different patterns between the 3 experimental groups (Chi Square Homogeneity test $p=0.000052$; **Figure 7B**). The control group showed a majority of brain regions (or nodes) with degrees <8 (**Figure 7Bi**), the group enriched with pleasant odorant showed a majority of nodes with degrees >12 degrees; **Figure 7Biii**) and the neutral group showed an intermediate pattern with an even distribution of degrees (**Figure 7Bii**).

Altogether these results indicate that odor-driven decrease in anxiety induced changes in functional connectivity, with an increased network coordination.

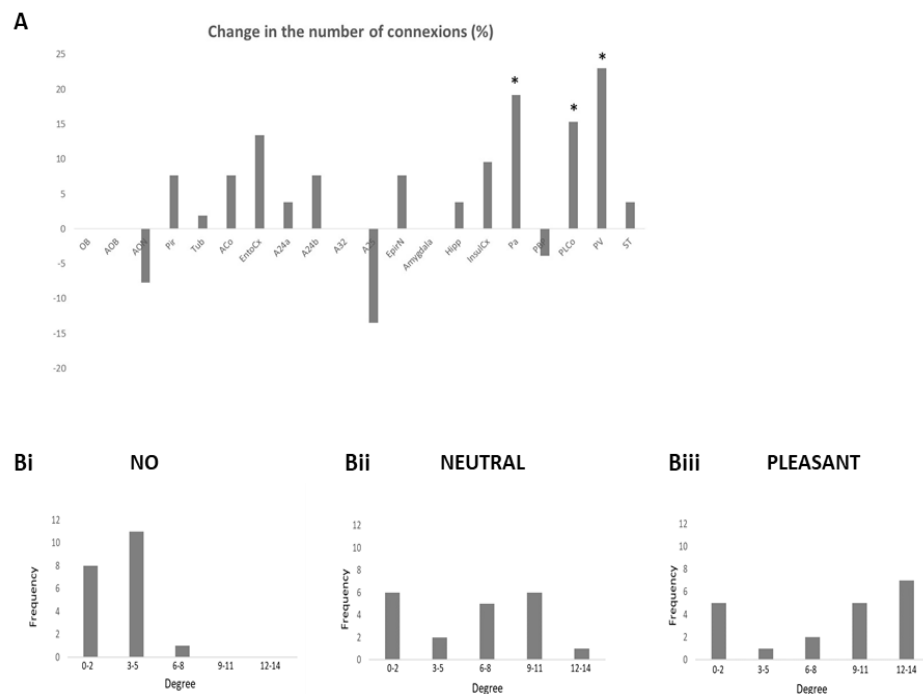


Figure 7. Network organisation in the different experimental groups.

A. Percentage of connection change for each structure between neutral and pleasant group. **B.** Histogram showing degree distribution for the olfactory and anxiety network corresponding to (Ai) No odor group, (Aii) neutral group and (Aiii) pleasant group.

Discussion

Here, we used cell mapping and functional connectivity analysis to investigate the neural network engaged in odor-reduced anxiety-like behavior in mice. In humans, Hummel and collaborators originally described that olfactory enrichment or training improves olfactory performance including threshold, discrimination and identification in patients with olfactory loss from different etiologies (62). Odorant training also improves emotional functioning in people with mild symptoms of depression (63,64) and has also the capacity to decrease

anxiety-related feelings and behaviors in humans (23,65–71). Several studies using rodent models have also successfully demonstrated odor-driven anxiolytic effects in a stressful context (19,21,23–25,27) or in an animal model of anxiety (20). Interestingly, while the use of odor enrichment or training to improve wellbeing on healthy individuals is widely spread in our societies, discrepancies subsist possibly due to differences in term of nature of odor composition, time of training or age of subjects between experiments regarding efficiency of such manipulations (63,72,73). In our study, we investigated the effect of olfactory enrichment in mice with no emotional or olfactory deficits. To optimize the benefices of olfactory enrichment, we assumed that odor hedonics was important in the determination of the emotional effect and, thus, we hypothesized that odorants perceived as attractive would induce positive moods in contrast to neutral ones (15–17). In accordance with this, we found that the efficiency of odor enrichment on emotional behavior differed between these two odor properties, with an anxiolytic effect observed only for pleasant odorants. These findings highlight the importance of the choice of the odorants used for enrichment. To go further, this choice could be even more personalized by considering individual variability and using odorants that are the most pleasant for each individual.

A main characteristic of many regions identified in anxiety regulation is their close connection to the regions involved in olfactory processing. The efficiency of odor-driven reduction in anxiety may rely on these interactions between chemosensory processing and regions involved in anxiety-related behaviors. A previous study revealed that different sub-regions of the olfactory bulb, the first central relay of the olfactory information, are recruited based on the hedonic value of odorants and these sub-regions exhibit different projection to (44). In addition, the solicitation of the olfactory tubercle is also different in response to odorants with different hedonic value (49). Our results showing that olfactory enrichment with pleasant but not neutral odorants reduced the level of anxiety in mice suggest that pleasant odorants that activate specific sub-circuits of the olfactory system may modulate more efficiently the anxiety circuit than neutral ones, to reduce anxiety-like behavior.

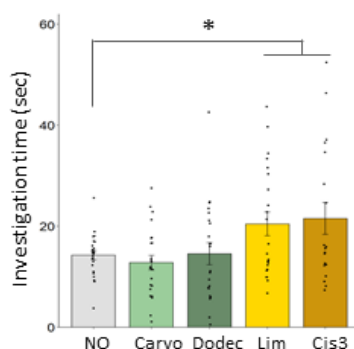
Interestingly, the odor enrichment anxiolytic effect is not accompanied by an overall change of brain activity even though some localized increases of c-Fos density (in the range of 15%) were observed in the main and accessory olfactory bulb in enriched (mean = 0.036 ± 0.0007) compared to the control group (mean = 0.030 ± 0.0001) which is in agreement with previous studies (48). Nevertheless, the decreased anxiety observed following enrichment with

pleasant odorants changed the neural network in a specific way increasing connectivity in the analysed network, compared to control no odor and neutral odorant enriched animals, by. This finding is consistent with studies in human reporting, that changes in anxiety can modify connectivity between the olfactory and the emotional networks (74). Olfactory training was also reported to extend functional connectivity in the olfactory networks (mostly that of the piriform cortex) in patients suffering from olfactory loss (75). Here, we found that while some substantial increase in the number of connections of the piriform cortex are observed in both enriched groups, however, the main modulations of brain connectivity are retrieved in the anxiety circuit. It should be noted that enrichment with neutral odorants, also increased, to a lesser extent, correlations between structures of anxiety circuit. This increase could reflect the activation by the passing of the test, while the difference between the neutral and the attractive odorant group may be linked to the reduction in anxiety observed only in animals enriched with pleasant odorants. This view is reinforced by the finding that some brain structures saw their connectivity specifically enhanced in the group enriched with pleasant odorant. Indeed, further analyses of connectivity indicated that the greater changes in the number of connections in pleasant compared to neutral enriched mice occurred in Pa, PV and PLCo. These three regions are involved in stress response and emotional regulations (76–82). Neuroanatomical studies revealed that the PLCo, considered as the olfactory amygdala, conveys chemosensory information and regulates odor-driven behaviors by receiving direct projections from the olfactory bulb and projecting to the ventral striatum, in particular the olfactory tubercle (83–85). The olfactory bulb and olfactory tubercle have been identified as key regions coding pleasant odorants (44,49). Our results are in line with a previous study showing changes in the resting state network based in odorant's hedonic values and that pleasant smell's responses spread from the amygdala to the ventral striatum (86). Altogether, the observed connectivity remodelling is likely to be a part of the neural signature of the reduced anxiety by pleasant odorants enrichment. Further work is needed to investigate whether this specificity of the anxiety circuit connectivity is specific to the treatment with pleasant odorants or always observed when anxiety is reduced by other means.

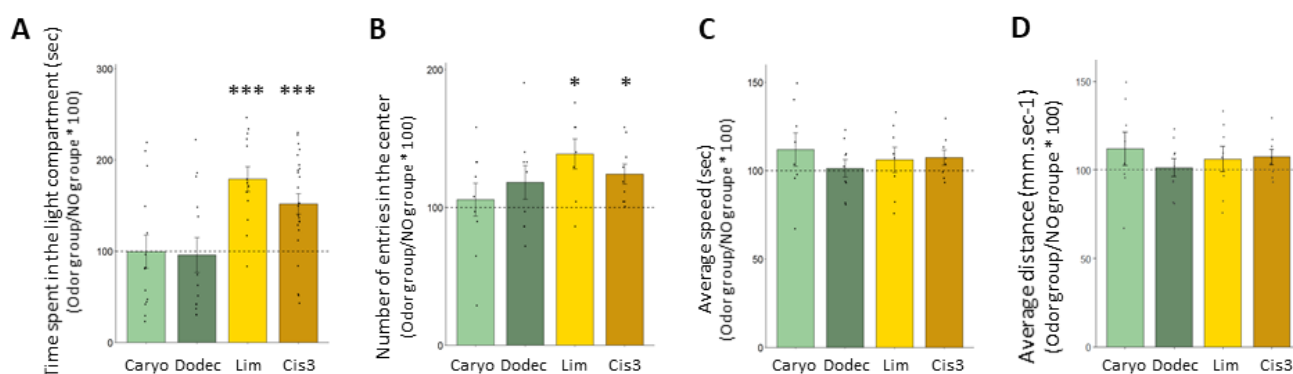
Interestingly, the olfactory system was described with “small-world” properties, allowing information processing in specialized circuits around highly connected hubs (87). Additionally, a direct association was found between the degree of network segregation and specific olfactory functions such as olfactory discrimination (84). Thus, enrichment with pleasant

odorants in our study seems to reinforce the evidence for plasticity of the olfactory system with both increased number of connections and highly-connected hubs enabling modulation of odor-driven emotions.

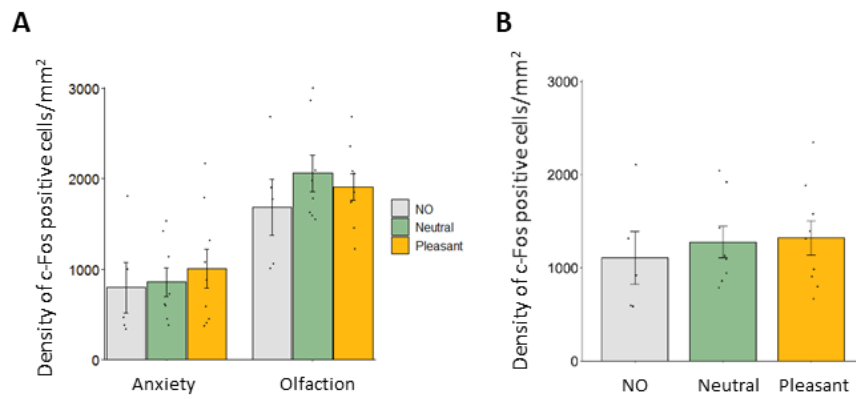
In conclusion, our findings revealed that olfactory enrichment is an efficient strategy to promote wellbeing. More particularly, we revealed that emotional behavior can be improved by pleasant-odorant enrichment and that is built upon coordinated activation of specific regions of the anxiety network.

Supplementary figures

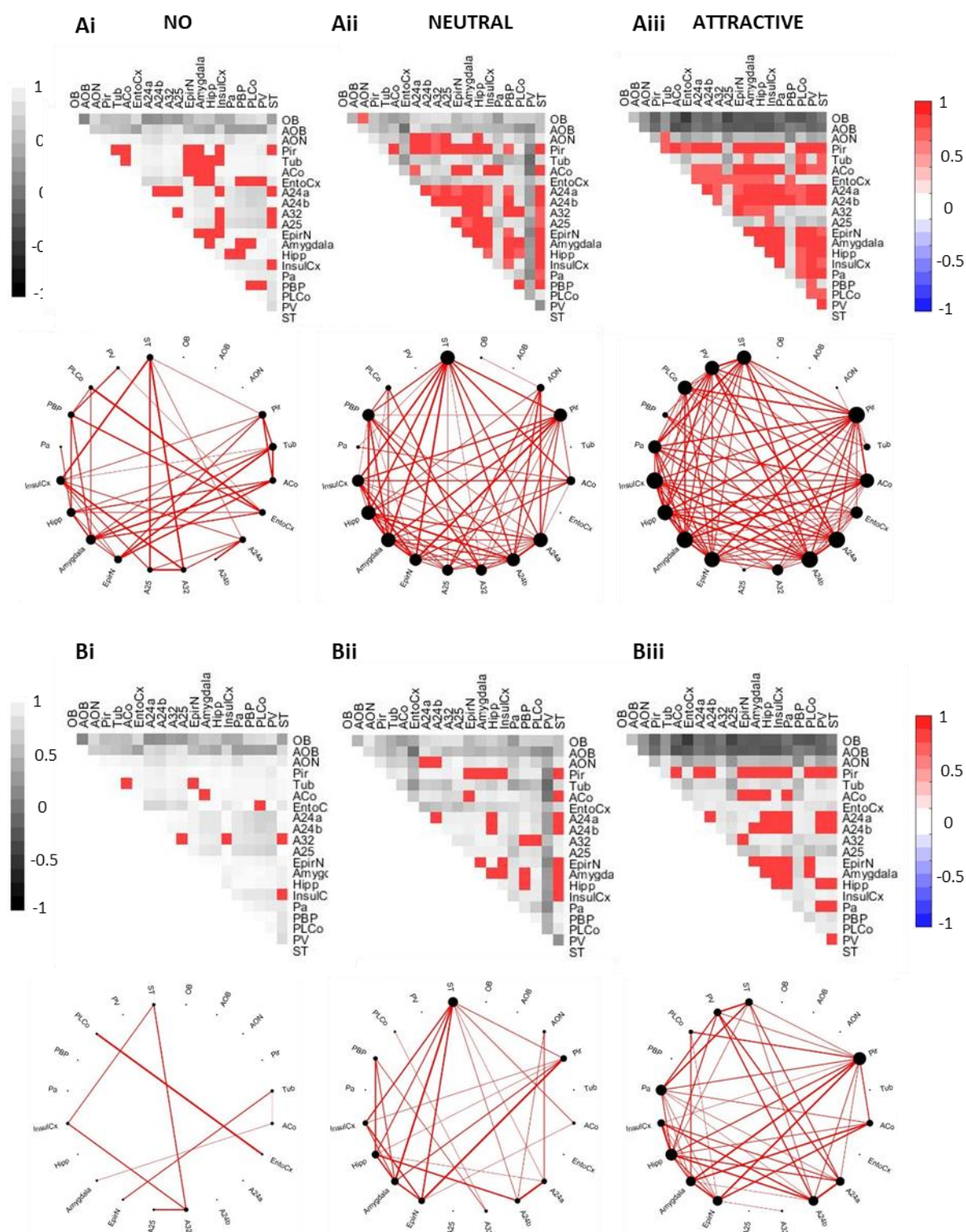
Supp Figure 1. Mice displayed various levels of attraction for odorants. Investigation time was measured for 4 odorants (+Limonene, Lim; Cis-3-hexenol, Cis3; Caryophyllene, Caryo and Dodecanol, Dodec) and a control no odorant condition (NO). A higher level of investigation time is observed in response to Lim and Cis3 compared to NO condition. This is not the case for Caryo and Dodec that show similar level of investigation time. Bars represent means of individual data points $\pm$ SEM. *: $p < 0.05$.



Supp Figure 2. Anxiety-like behavior results. **A.** Results from the Openfield test. Enrichment with Lim ($p=0.02$) and Cis3 ($p=0.01$) increased the number of entries in the centre of the OpenField compared to control non-enriched animals. This is not the case for Caryo ($p=0.89$) and Dodec ($p=0.33$). **B.** Results from the Black White Box test. Enrichment with Lim ($p<0.0001$) and Cis3 ($p<0.0001$) increased the time spent in the light compartment compared to control non-enriched animals. This is not the case for Caryo ($p=0.98$) and Dodec ($p=0.83$). **C-D.** Enrichment has no effect on the average speed nor distance of mice for any odorants (Lim: $p = 0.41$ and $p=0.71$; Cis3 $p=0.81$ and $p = 0.13$; Caryo: $p = 0.24$ and $p=0.92$; Dodec: $p = 0.79$ and $p=0.64$). Bars represent means of individual data points $\pm$ SEM. *: $p < 0.05$, ***: $p < 0.001$.

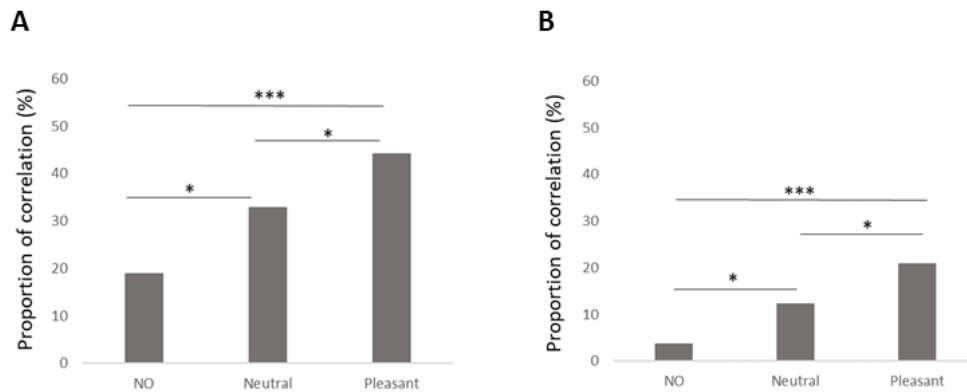


Supp Figure 3. Density of cFos-positive cells assessed in **A.** the olfactory and emotional circuits. An effect of sub-system was observed ($F(1,38)=32.42$, $p<0.0001$) with no group effect ($F(2,38)=0.57$, $p=0.56$) nor interaction ($F(2,38)=0.36$, $p=0.69$) and **B.** in the 20 brain structures ($F(2, 19)=0.25$, $p=0.77$) processing for the control no-odor, neutral and pleasant groups. Bars represent means of individual data points $\pm$ SEM.



Supp Figure 4. Functional connectivity with more or less conservative thresholds.

A. Color-coded matrix constructed by thresholding inter-regional correlations with Pearson's $r > 0.79$, which correspond to significance level of $p < 0.01$, for the (Ai) No odor (Aii) neutral and (Aiii) attractive odor groups (up) and their corresponding network graphs (down). **B.** Color-coded matrix constructed by thresholding inter-regional correlations with Pearson's $r > 0.89$, which correspond to significance level of $p < 0.001$ for the (Bi) No odor (Bii) neutral and (Biii) attractive odor groups (up) and their corresponding network graphs (down).



Supp Figure 5. Network organization based from different conservative thresholds. Percentage of significant correlations among all possible correlations calculated from matrices constructed by thresholding inter-regional correlations at $p < 0.01$ (A) ou at $p < 0.0001$ (B) for each group. Statistical analyses were assessed using bilateral corrected t-test for proportion. * $p < 0.05$; *** $p < 0.0001$.

References

1. Bandelow B, Michaelis S. Epidemiology of anxiety disorders in the 21st century. *Dialogues Clin Neurosci*. 2015 Sep;17(3):327–35.
2. Lépine JP. The epidemiology of anxiety disorders: prevalence and societal costs. *J Clin Psychiatry*. 2002;63 Suppl 14:4–8.
3. Martin P. The epidemiology of anxiety disorders: a review. *Dialogues Clin Neurosci*. 2003 Sep;5(3):281–98.
4. Ballanger B, Bath KG, Mandairon N. Odorants: a tool to provide nonpharmacological intervention to reduce anxiety during normal and pathological aging. *Neurobiol Aging*. 2019 Oct;82:18–29.
5. Walia N, Matas J, Turner A, Gonzalez S, Zoorob R. Yoga for Substance Use: A Systematic Review. *J Am Board Fam Med JABFM*. 2021;34(5):964–73.
6. Bystritsky A. Treatment-resistant anxiety disorders. *Mol Psychiatry*. 2006 Sep;11(9):805–14.
7. Amir N, Taylor CT. Interpretation training in individuals with generalized social anxiety disorder: a randomized controlled trial. *J Consult Clin Psychol*. 2012 Jun;80(3):497–511.
8. Liu X, Yi P, Ma L, Liu W, Deng W, Yang X, et al. Mindfulness-based interventions for social anxiety disorder: A systematic review and meta-analysis. *Psychiatry Res*. 2021 Jun;300:113935.
9. Li YN, Buys N, Ferguson S, Li ZJ, Sun J. Effectiveness of cognitive behavioral therapy-based interventions on health outcomes in patients with coronary heart disease: A meta-analysis. *World J Psychiatry*. 2021 Nov 19;11(11):1147–66.
10. Ehrlichman H, Bastone L. The use of odour in the study of emotion. In: *Fragrance: The psychology and biology of perfume*. New York, NY, US: Elsevier Applied Science Publishers/Elsevier Science Publishers; 1992. p. 143–59.
11. Herz RS, Schooler JW. A naturalistic study of autobiographical memories evoked by olfactory and visual cues: testing the Proustian hypothesis. *Am J Psychol*. 2002;115(1):21–32.
12. Zhang N, Yao L. Anxiolytic Effect of Essential Oils and Their Constituents: A Review. *J Agric Food Chem*. 2019 Dec 18;67(50):13790–808.
13. Goes TC, Antunes FD, Alves PB, Teixeira-Silva F. Effect of sweet orange aroma on experimental anxiety in humans. *J Altern Complement Med N Y N*. 2012 Aug;18(8):798–804.
14. McDermott K, Nash P, Boyington A, Planell LP, Joe S, Streifel K, et al. Effects of olfactory stimulus on group performance and individual stress responses in university students. *Physiol Behav*. 2022 Oct 1;254:113905.
15. Abriat A, Barkat S, Bensafi M, Rouby C, Fanchon C. Psychological and physiological evaluation of emotional effects of a perfume in menopausal women. *Int J Cosmet Sci*. 2007 Oct;29(5):399–408.

16. Schiffman SS, Suggs MS, Sattely-Miller EA. Effect of pleasant odors on mood of males at midlife: Comparison of African-American and European-American men. *Brain Res Bull.* 1995 Jan 1;36(1):31–7.
17. Schiffman SS, Sattely-Miller EA, Suggs MS, Graham BG. The effect of pleasant odors and hormone status on mood of women at midlife. *Brain Res Bull.* 1995 Jan 1;36(1):19–29.
18. Buchbauer G, Jirovetz L, Jäger W, Plank C, Dietrich H. Fragrance compounds and essential oils with sedative effects upon inhalation. *J Pharm Sci.* 1993 Jun;82(6):660–4.
19. Ceccarelli I, Lariviere WR, Fiorenzani P, Sacerdote P, Aloisi AM. Effects of long-term exposure of lemon essential oil odor on behavioral, hormonal and neuronal parameters in male and female rats. *Brain Res.* 2004 Mar 19;1001(1–2):78–86.
20. Cryan JF, Sweeney FF. The age of anxiety: role of animal models of anxiolytic action in drug discovery. *Br J Pharmacol.* 2011 Oct;164(4):1129–61.
21. de Almeida RN, Motta SC, de Brito Faturi C, Catallani B, Leite JR. Anxiolytic-like effects of rose oil inhalation on the elevated plus-maze test in rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 2004 Feb;77(2):361–4.
22. Souto-Maior FN, Carvalho FL de, Morais LCSL de, Netto SM, de Sousa DP, Almeida RN de. Anxiolytic-like effects of inhaled linalool oxide in experimental mouse anxiety models. *Pharmacol Biochem Behav.* 2011 Dec 1;100(2):259–63.
23. Linck VM, da Silva AL, Figueiró M, Caramão EB, Moreno PRH, Elisabetsky E. Effects of inhaled Linalool in anxiety, social interaction and aggressive behavior in mice. *Phytomedicine.* 2010 Jul 1;17(8):679–83.
24. Faturi CB, Leite JR, Alves PB, Canton AC, Teixeira-Silva F. Anxiolytic-like effect of sweet orange aroma in Wistar rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2010 May 30;34(4):605–9.
25. Umezu T. Anticonflict Effects of Plant-Derived Essential Oils. *Pharmacol Biochem Behav.* 1999 Sep 1;64(1):35–40.
26. Nakatomi Y, Yokoyama C, Kinoshita S, Masaki D, Tsuchida H, Onoe H, et al. Serotonergic mediation of the antidepressant-like effect of the green leaves odor in mice. *Neurosci Lett.* 2008 May 9;436(2):167–70.
27. Tokumo K, Tamura N, Hirai T, Nishio H. Effects of (Z)-3-hexenol, a major component of green odor, on anxiety-related behavior of the mouse in an elevated plus-maze test and biogenic amines and their metabolites in the brain. *Behav Brain Res.* 2006 Jan 30;166(2):247–52.
28. Rombolà L, Scuteri D, Watanabe C, Sakurada S, Hamamura K, Sakurada T, et al. Role of 5-HT_{1A} Receptor in the Anxiolytic-Relaxant Effects of Bergamot Essential Oil in Rodent. *Int J Mol Sci.* 2020 Apr 9;21(7):2597.
29. Harada H, Kashiwadani H, Kanmura Y, Kuwaki T. Linalool Odor-Induced Anxiolytic Effects in Mice. *Front Behav Neurosci* [Internet]. 2018 [cited 2022 Dec 16];12. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnbeh.2018.00241>

30. de Sousa DP, de Almeida Soares Hocayen P, Andrade LN, Andreatini R. A Systematic Review of the Anxiolytic-Like Effects of Essential Oils in Animal Models. *Mol Basel Switz*. 2015 Oct 14;20(10):18620–60.
31. Gm S. Synaptic organization of the mammalian olfactory bulb. *Physiol Rev* [Internet]. 1972 Oct [cited 2022 Dec 16];52(4). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4343762/>
32. Wilson DA, Sullivan RM. Cortical processing of odor objects. *Neuron*. 2011 Nov 17;72(4):506–19.
33. Courtiol E, Wilson DA. The olfactory thalamus: unanswered questions about the role of the mediodorsal thalamic nucleus in olfaction. *Front Neural Circuits*. 2015;9:49.
34. Xiong A, Wesson DW. Illustrated Review of the Ventral Striatum's Olfactory Tubercle. *Chem Senses*. 2016 Sep 1;41(7):549–55.
35. López-Cruz L, Carbó-Gas M, Pardo M, Bayarri P, Valverde O, Ledent C, et al. Adenosine A2A receptor deletion affects social behaviors and anxiety in mice: Involvement of anterior cingulate cortex and amygdala. *Behav Brain Res*. 2017 Mar 15;321:8–17.
36. Zhang N, Zhang L, Feng L, Yao L. Cananga odorata essential oil reverses the anxiety induced by 1-(3-chlorophenyl) piperazine through regulating the MAPK pathway and serotonin system in mice. *J Ethnopharmacol*. 2018 Jun 12;219:23–30.
37. Pérez-Gómez A, Bleyemehl K, Stein B, Pyrski M, Birnbaumer L, Munger SD, et al. Innate Predator Odor Aversion Driven by Parallel Olfactory Subsystems that Converge in the Ventromedial Hypothalamus. *Curr Biol CB*. 2015 May 18;25(10):1340–6.
38. Kontaris I, East BS, Wilson DA. Behavioral and Neurobiological Convergence of Odor, Mood and Emotion: A Review. *Front Behav Neurosci*. 2020;14:35.
39. Ito A, Miyoshi M, Ueki S, Fukada M, Komaki R, Watanabe T. 'Green odor' inhalation by rats down-regulates stress-induced increases in Fos expression in stress-related forebrain regions. *Neurosci Res*. 2009 Oct;65(2):166–74.
40. Nikaido Y, Nakashima T. Different patterns of neuronal activities in the infralimbic and prelimbic cortices and behavioral expression in response to two affective odors, 2,5-dihydro-2,4,5-trimethylthiazoline and a mixture of cis-3-hexenol and trans-2-hexenal, in the freely moving rat. *Behav Brain Res*. 2011 Mar 17;218(1):218–27.
41. Wang ME, Fraize NP, Yin L, Yuan RK, Petsagourakis D, Wann EG, et al. Differential roles of the dorsal and ventral hippocampus in predator odor contextual fear conditioning. *Hippocampus*. 2013 Jun;23(6):451–66.
42. Fukada M, Kaidoh T, Ito A, Yano T, Hayashibara C, Watanabe T. 'Green odor' inhalation reduces the skin-barrier disruption induced by chronic restraint stress in rats: physiological and histological examinations. *Chem Senses*. 2007 Jul;32(6):633–9.
43. Nikaido Y, Miyata S, Nakashima T. Mixture of cis-3-hexenol and trans-2-hexenal attenuates behavioral and stress responses induced by 2,5-dihydro-2,4,5-trimethylthiazoline and electric footshock stress in rats. *Physiol Behav*. 2011 Jul 6;103(5):547–56.

44. Kermen F, Midroit M, Kuczewski N, Forest J, Thévenet M, Sacquet J, et al. Topographical representation of odor hedonics in the olfactory bulb. *Nat Neurosci*. 2016 Jul;19(7):876–8.
45. Dieterich A, Srivastava P, Sharif A, Stech K, Floeder J, Yohn SE, et al. Chronic corticosterone administration induces negative valence and impairs positive valence behaviors in mice. *Transl Psychiatry*. 2019 Dec 10;9:337.
46. Hegoburu C, Sevelinges Y, Thévenet M, Gervais R, Parrot S, Mouly AM. Differential dynamics of amino acid release in the amygdala and olfactory cortex during odor fear acquisition as revealed with simultaneous high temporal resolution microdialysis. *Learn Mem Cold Spring Harb N*. 2009 Nov;16(11):687–97.
47. Richard S, Aguilera N, Thévenet M, Dkhissi-Benyahya O, Flamant F. Neuronal expression of a thyroid hormone receptor α mutation alters mouse behaviour. *Behav Brain Res*. 2017 Mar 15;321:18–27.
48. Mandairon N, Didier A, Linster C. Odor enrichment increases interneurons responsiveness in spatially defined regions of the olfactory bulb correlated with perception. *Neurobiol Learn Mem*. 2008 Jul;90(1):178–84.
49. Midroit M, Chalençon L, Renier N, Milton A, Thevenet M, Sacquet J, et al. Neural processing of the reward value of pleasant odorants. *Curr Biol CB*. 2021 Apr 26;31(8):1592-1605.e9.
50. Kovács KJ. Measurement of immediate-early gene activation- c-fos and beyond. *J Neuroendocrinol*. 2008 Jun;20(6):665–72.
51. Dielenberg RA, Hunt GE, McGregor IS. ‘When a rat smells a cat’: the distribution of Fos immunoreactivity in rat brain following exposure to a predatory odor. *Neuroscience*. 2001;104(4):1085–97.
52. Midroit M, Thevenet M, Fournel A, Sacquet J, Bensafi M, Breton M, et al. Non-imaged based method for matching brains in a common anatomical space for cellular imagery. *J Neurosci Methods*. 2018 Jul;304:136–45.
53. Horwitz B, McIntosh AR, Haxby JV, Grady CL. Network analysis of brain cognitive function using metabolic and blood flow data. *Behav Brain Res*. 1995 Jan 23;66(1):187–93.
54. Wheeler AL, Teixeira CM, Wang AH, Xiong X, Kovacevic N, Lerch JP, et al. Identification of a Functional Connectome for Long-Term Fear Memory in Mice. *PLOS Comput Biol*. 2013 Jan 3;9(1):e1002853.
55. Babayan BM, Watilliaux A, Viejo G, Paradis AL, Girard B, Rondi-Reig L. A hippocampo-cerebellar centred network for the learning and execution of sequence-based navigation. *Sci Rep*. 2017 Dec 19;7(1):17812.
56. Vetere G, Kenney JW, Tran LM, Xia F, Steadman PE, Parkinson J, et al. Chemogenetic Interrogation of a Brain-wide Fear Memory Network in Mice. *Neuron*. 2017 Apr 19;94(2):363-374.e4.
57. Catani M, Dell’acqua F, Thiebaut de Schotten M. A revised limbic system model for memory, emotion and behaviour. *Neurosci Biobehav Rev*. 2013 Sep;37(8):1724–37.

58. Calvi E, Quassolo U, Massaia M, Scandurra A, D'Aniello B, D'Amelio P. The scent of emotions: A systematic review of human intra- and interspecific chemical communication of emotions. *Brain Behav.* 2020 Mar 25;10(5):e01585.
59. Gainotti G. A historical review of investigations on laterality of emotions in the human brain. *J Hist Neurosci.* 2019;28(1):23–41.
60. Peper M. Imaging emotional brain functions: conceptual and methodological issues. *J Physiol Paris.* 2006 Jun;99(4–6):293–307.
61. Simonov PV. Brain mechanisms of emotions. *Neurosci Behav Physiol.* 1997;27(4):405–13.
62. Hummel T, Rissom K, Reden J, Hähner A, Weidenbecher M, Hüttenbrink KB. Effects of olfactory training in patients with olfactory loss. *The Laryngoscope.* 2009 Mar;119(3):496–9.
63. Pieniak M, Oleszkiewicz A, Avaro V, Calegari F, Hummel T. Olfactory training - Thirteen years of research reviewed. *Neurosci Biobehav Rev.* 2022 Oct;141:104853.
64. Birte-Antina W, Ilona C, Antje H, Thomas H. Olfactory training with older people. *Int J Geriatr Psychiatry.* 2018 Jan;33(1):212–20.
65. Diego MA, Jones NA, Field T, Hernandez-Reif M, Schanberg S, Kuhn C, et al. Aromatherapy positively affects mood, EEG patterns of alertness and math computations. *Int J Neurosci.* 1998 Dec;96(3–4):217–24.
66. Lehrner J, Eckersberger C, Walla P, Pötsch G, Deecke L. Ambient odor of orange in a dental office reduces anxiety and improves mood in female patients. *Physiol Behav.* 2000 Oct 1;71(1–2):83–6.
67. Lehrner J, Marwinski G, Lehr S, Jöhren P, Deecke L. Ambient odors of orange and lavender reduce anxiety and improve mood in a dental office. *Physiol Behav.* 2005 Sep 15;86(1–2):92–5.
68. Umezu T, Nagano K, Ito H, Kosakai K, Sakaniwa M, Morita M. Anticonflict effects of lavender oil and identification of its active constituents. *Pharmacol Biochem Behav.* 2006 Dec;85(4):713–21.
69. Kritsidima M, Newton T, Asimakopoulou K. The effects of lavender scent on dental patient anxiety levels: a cluster randomised-controlled trial. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2010 Feb;38(1):83–7.
70. Perry R, Terry R, Watson LK, Ernst E. Is lavender an anxiolytic drug? A systematic review of randomised clinical trials. *Phytomedicine.* 2012 Jun 15;19(8):825–35.
71. Tsang HWH, Ho TYC. A systematic review on the anxiolytic effects of aromatherapy on rodents under experimentally induced anxiety models. *Rev Neurosci.* 2010;21(2):141–52.
72. Oleszkiewicz A, Abriat A, Doelz G, Azema E, Hummel T. Beyond olfaction: Beneficial effects of olfactory training extend to aging-related cognitive decline. *Behav Neurosci.* 2021 Dec;135(6):732–40.

73. Oleszkiewicz A, Hanf S, Whitcroft KL, Haehner A, Hummel T. Examination of olfactory training effectiveness in relation to its complexity and the cause of olfactory loss. *The Laryngoscope*. 2018 Jul;128(7):1518–22.
74. Krusemark EA, Li W. Enhanced Olfactory Sensory Perception of Threat in Anxiety: An Event-Related fMRI Study. *Chemosens Percept*. 2012 Mar 1;5(1):37–45.
75. Kollndorfer K, Fischmeister FPhS, Kowalczyk K, Hoche E, Mueller CA, Trattinig S, et al. Olfactory training induces changes in regional functional connectivity in patients with long-term smell loss. *NeuroImage Clin*. 2015 Jan 1;9:401–10.
76. Kalsbeek A, Buijs RM. Chapter 4 - Organization of the neuroendocrine and autonomic hypothalamic paraventricular nucleus. In: Swaab DF, Kreier F, Lucassen PJ, Salehi A, Buijs RM, editors. *Handbook of Clinical Neurology* [Internet]. Elsevier; 2021 [cited 2022 Dec 16]. p. 45–63. (The Human Hypothalamus; vol. 180). Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128201077000045>
77. Li S, Kirouac GJ. Projections from the paraventricular nucleus of the thalamus to the forebrain, with special emphasis on the extended amygdala. *J Comp Neurol*. 2008;506(2):263–87.
78. Hsu DT, Kirouac GJ, Zubieta JK, Bhatnagar S. Contributions of the paraventricular thalamic nucleus in the regulation of stress, motivation, and mood. *Front Behav Neurosci*. 2014;8:73.
79. Zhou K, Zhu Y. The paraventricular thalamic nucleus: A key hub of neural circuits underlying drug addiction. *Pharmacol Res*. 2019 Apr 1;142:70–6.
80. Bhatnagar S, Kirouac GJ. Editorial: Advances in Understanding of the Functions of the Paraventricular Thalamic Nucleus. *Front Integr Neurosci* [Internet]. 2021 [cited 2022 Dec 16];15. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnint.2021.744147>
81. Penzo MA, Gao C. The paraventricular nucleus of the thalamus: an integrative node underlying homeostatic behavior. *Trends Neurosci*. 2021 Jul 1;44(7):538–49.
82. Vaz RP, Cardoso A, Sá SI, Pereira PA, Madeira MD. The integrity of the nucleus of the lateral olfactory tract is essential for the normal functioning of the olfactory system. *Brain Struct Funct*. 2017 Nov 1;222(8):3615–37.
83. Ubeda-Bañon I, Novejarque A, Mohedano-Moriano A, Pro-Sistiaga P, de la Rosa-Prieto C, Insausti R, et al. Projections from the posterolateral olfactory amygdala to the ventral striatum: neural basis for reinforcing properties of chemical stimuli. *BMC Neurosci*. 2007 Nov 29;8(1):103.
84. Novejarque A, Gutierrez-Castellanos N, Lanuza E, Martinez-Garcia F. Amygdaloid Projections to the Ventral Striatum in Mice: Direct and Indirect Chemosensory Inputs to the Brain Reward System. *Front Neuroanat* [Internet]. 2011 [cited 2022 Dec 16];5. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnana.2011.00054>
85. Root CM, Denny CA, Hen R, Axel R. The participation of cortical amygdala in innate, odour-driven behaviour. *Nature*. 2014 Nov;515(7526):269–73.

Annexe 1

86. Carlson H, Leitão J, Delplanque S, Cayeux I, Sander D, Vuilleumier P. Sustained effects of pleasant and unpleasant smells on resting state brain activity. *Cortex*. 2020 Nov;132:386–403.
87. Arnold TC, You Y, Ding M, Zuo XN, Araujo I de, Li W. Functional Connectome Analyses Reveal the Human Olfactory Network Organization. *eNeuro* [Internet]. 2020 Jul 1 [cited 2022 Dec 19];7(4). Available from: <https://www.eneuro.org/content/7/4/ENEURO.0551-19.2020>



Chapter 11

Annexe 2: Measuring Hedonic Behaviors to Food Odors in Children

Measuring Hedonic Behaviors to Food Odors in Children

Morgane Dantec, Laura Chalenc, on, Marc The´venet, Ines Adrar, Sylvie Baudino, Nathalie Mandaïron, and Moustafa Bensafi

Abstract

Olfaction is crucial for the hedonic appreciation of food. However, measuring hedonic value of food odors remains a challenge, especially in young children or in individuals with altered verbal abilities. The protocol described in this chapter consists of a method adapted to children and people with limited verbal abilities, and which combines subjective measures of the hedonic value of odors with the analysis of motor behavior in response to odors. This protocol provides a way to study the perception of hedonic value of smell for non-verbal population and allows studying the motivational components of smells.

Key words Olfaction, Food smell, Hedonic value, Subjective measurement, Behavioral response

1. Introduction

Olfaction plays a key role in the emotional food experience: odors can signal the presence of edible food even before it is visually recognizable and they can also signal the spoilage of food [1]. Since food flavor comes from the integration of olfactory, gustatory, and trigeminal sensations and that 80% of flavor perception may actually rely on olfaction [2], losing the sense of smell has significant impact on food behavior [3, 4].

Besides its link with food perception and behavior, olfaction has a special link with emotions. Experiments using verbal description of odors revealed that hedonic value is the first dimension used to categorize smells [5–8]. At the anatomical level, smells recruit olfactory areas (see [9] for a review) but also emotional areas [9–12] and the reward system [13].

Scientists in the field have long tried to develop the most reliable methods of measuring these hedonic responses to food and non-food odors. A direct approach to measure odor hedonic

The authors “Mandaïron N” and “Bensafi M” are co-last authors.

Moustafa Bensafi (ed.), Basic Protocols on Emotions, Senses, and Foods,

value consists of asking participants to evaluate pleasantness on visual scales [14]. These subjective ratings and declarative data are informative, but can be biased by differential use of the rating scale across participants because it relies on participant's subjective rating. Furthermore, this method limits the study of odors' hedonic value to participants with fluent verbal and reading abilities and thus does not include all young children with or without pathological conditions. Other methods have been investigated to measure hedonic value including electrodermal activity [15, 16], heart rate recording [15, 17], or motor nasal exploration of odorants [18]. These methods provide more objective measures of hedonic value but require placing sensors in contact with participants' bodies and/or faces and thus could hamper participants in their hedonic perception of odors. In other words, exploring hedonic responses to food and non-food odorants in an unbiased way, and especially in children, remains a methodological challenge. Moreover, progress has been made in past decades in understanding the neural basis of the reward system. New studies brought evidence to disentangle reward and affective response to stimuli with a distinction between the hedonic value (liking) and the incentive salience (wanting) of a stimulus [19]. This distinction needs to be taken into account in the study of the emotional response to smells.

Here, we present a protocol aimed at investigating hedonic responses and motivated behaviors to food odorants in children that circumvents the above issues. This protocol was first developed for adults and has been published in a dedicated paper [20]. We present in this chapter an adaptation of the same protocol for children aged 3–17 years. The protocol combines subjective evaluations of hedonic (odor liking) and motivational value of odorants (odor wanting), with implicit analysis of motor exploratory behavior of odorants. As the protocol is based on video analysis of behavior during olfactory exploration and does not require any sensors positioned on the participant's body or face, it is particularly well suited for children. The sections below outline the materials needed for this protocol and the procedure to follow when studying children.

2. Materials

2.1 Olfactory Stimuli

1. Selection of stimuli. The list of food odorants presented here is only an example (see Note 1). A total of six food olfactory stimuli are used: two monomolecular odorants and four aromas. The two monomolecular odorants are *cis*-3-hexenol (CID 5281167, "grass" odor) and butanoic acid (CID 264, "butter," or "cheese" odor). The four aromas include chocolate, mint, lemon, cotton candy (respective references: CH-L1, ME-120,

CI-08, BP-13; “La maison des chefs”, Cannes la Bocca, France). Another aroma is used as a training stimulus: strawberry (FR-466, “La maison des chefs,” Cannes la Bocca, France).

2. Preparation of stimuli. For each stimulus, 5 mL of odorous solutions is put in an opaque flask of 15 mL (opening diameter 1.7 cm, height 5.8 cm) (see Note 2). Preparation should take place under a hood and with gloves to be changed between each stimulus to avoid contamination between odorants. For cis-3-hexenol solution, add odorless mineral oil with a micropipette in the flask, and then using a new pipette tip, add 60 μ L of pure cis-3-hexenol to reach a total volume of 5 mL. Mix the solution with a vortex for at least 30 s. Then, put a porous polypropylene absorbent paper (3 cm $\times$ 7 cm; 3 M, Valley, NE, USA) into the flask (see Note 3). For butanoic acid solution, add odorless mineral oil with a micro-pipette in the flask, then 5.5 μ L of pure butanoic acid, and follow the same procedure as for cis-3-hexenol (vortex and polypropylene paper). For the four aromas, put 5 mL of each aroma in a flask, then mix it with a vortex, and put a porous polypropylene absorbent paper (the same dimension as for the other solutions).
3. Each flask is then closed with a black plastic cap.
4. Each solution is numbered with a 3-digit number printed on a white sticker stuck on the flask. Digit numbers are chosen randomly. The experimenter has a file with the identification key of each odorant.

2.2 Flask Support

1. Some children, depending on their age and/or developmental particularities, may put the flasks in their mouths or have difficulty holding them. To homogenize the olfactory exploration between these different subpopulations of children, and to allow a better grip of the flask, a cardboard box holder that meets these constraints can be used.
2. Cardboard holder dimensions: 20*20*5 cm (Fig. 1).
3. Make a small hole with scissors of the size of the flask in the center of the cardboard holder (10 cm from the edge).
4. Cover the box with plain and neutral-colored paper. Then, cover it with plastic protection to make it waterproof and cleanable to avoid odor contamination.

2.3 Video Camera

1. A standard camera with a minimum resolution of (1280 $\times$ 720 pixels) is used to record participant exploratory behavior (24 images/s). The camera is placed at 1 m on the side of the participants, in order to see the participant’s profile (see Note 4).

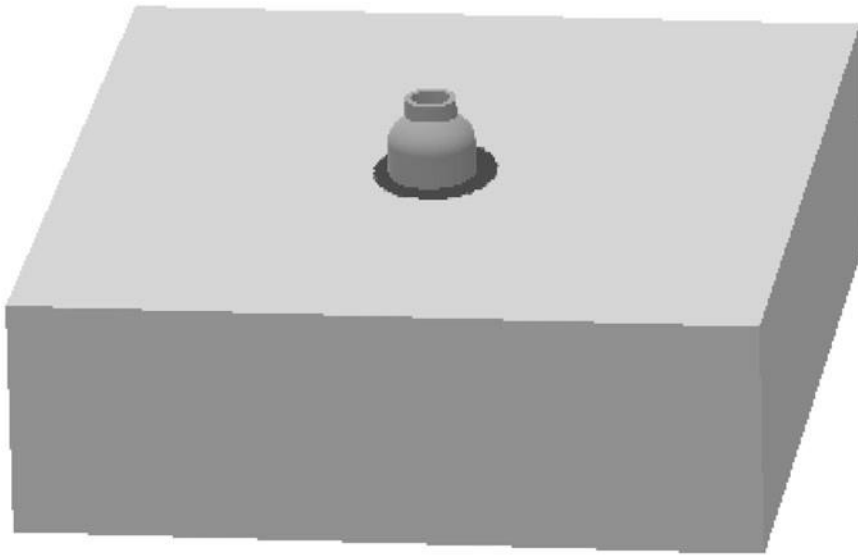


Fig. 1 Cardboard box holding the odors

2.4 Subjective Measures

2. The field of the camera must be wide enough to see the flask on the table, and the back, shoulders, and head of the participant when approaching the flask or moving back.
1. As young children may vary in their verbal and reading abilities, the material used to measure subjective evaluations of odors is adapted. In the present protocol, subjective evaluations consist of two types of tasks: odor-liking task and wanting task. If one wants to relate liking/wanting responses with the ability of the children to identify the odors, one can propose an odor identification task.
2. Liking/wanting task: In these tasks, children answer yes or no to the question “Do you like this odor?” (Liking question) and to the question “Do you want to smell this odor again?” (Wanting question). For these questions, non-verbal children can provide an answer with pictograms: the green smiling face for a yes (I like/I want), or the red unhappy face for a “no” (I dislike/I do not want) (Fig. 2).
3. Odor identification task (optional): a series of images is presented to the children. For each odor, four images are proposed: one of the pictures represents the odor source, and three pictures represent distractors.

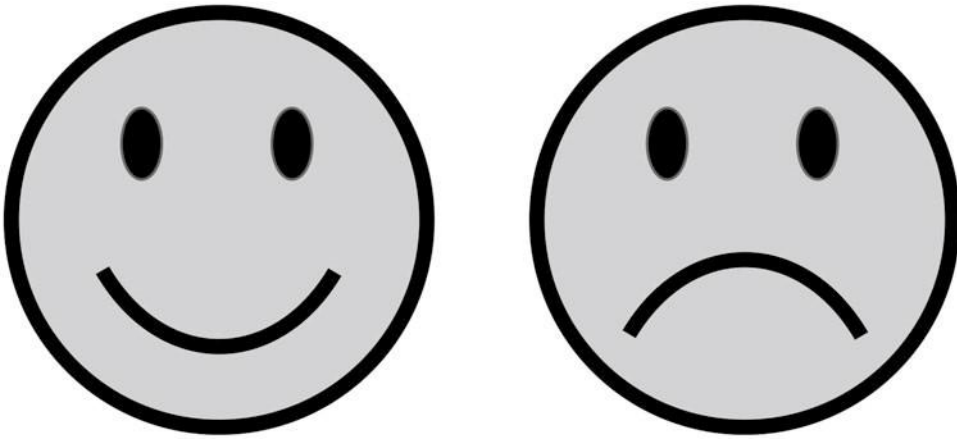


Fig. 2 Pictogram to answer the yes/no questions. The green pictogram for means a “yes” answer, and the red one means a “no” answer

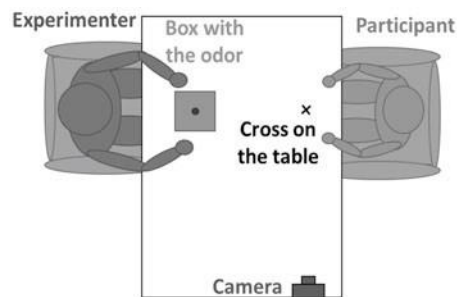


Fig. 3 Setting up the material and the participant

3. Methods

3.1 The Experimental Procedure

1. Information and consent forms. The protocol must be validated by an ethics committee for the protection of individuals and conform to the Declaration of Helsinki. At the very beginning of the session, children and parents are informed of the aim and procedure of the experiment, and if the child and parents agree to participate, the parents complete the consent form for her/him. Then, they fill out the inclusion questionnaire (children cannot participate if one of the non-inclusion criteria is met, see Note 5).
2. Participant installation. The participant sits down in front of a table and the experimenter sits in front of her/him. To ensure that the child can smell the odors easily, the size of the chair and of the table is adapted. The camera is put on the table, on the side of the participant. A specific mark on the table enables the experimenter to see where the odor cardboard has to be put (Fig. 3).

3. Once the installation is done, the experimenter turns the camera on a few seconds before the beginning of the experimental session.
4. To ensure that instructions are well understood by the child, the first trial is a training trial. Put the "training" odor (ex. strawberry in our case) in the cardboard box (see Note 6). The purpose of the practice trial is to familiarize the child with the test procedure. The surprise effect with the discovery of the protocol can modify the exploratory behavior of the child.
5. Put the box in front of the child (on the cross mark on the table) for a training trial (see Note 7).
6. Ask the child to smell the odor: "You can smell the odor now." (onset of the trial) (see Note 8).
7. The child has a maximum of 10 s to smell the odor and can smell the odor several times in the time window. After 10 s, the cardboard box is removed. If the child is still smelling it, explain that the time is up and ask the child to give the cardboard box back. To analyze odor exploration behavior, it is important to leave this phase of olfactory exploration completely free. During these 10 s, participants are free to smell the odor as many times as desired and for the desired duration. The child can approach their body to the flask, or grab the box and bring the flask closer to their nose.
8. After 10 s, remove the cardboard box.
9. Then, ask the child "Do you like this odor?" (Liking question).
10. Show the green and red pictograms. Explain to the child "Put your finger on the green smiling face if you like the odor or put your finger on the red unhappy face if you dislike the odor" (see Note 9).
11. Afterward, or after 1 min without any answer, ask the second question "Do you want to smell this odor again?" (Wanting question).
12. Again, show the green and red pictograms. Explain to the child "Put your finger on the green smiling face if you want to smell the odor again or put your finger on the red unhappy face if you do not want to smell it again."
13. If the participant says yes to the wanting question, present the odorant again. If participant says no (or after smelling the odor a second time), remove the cardboard box.
14. Then, let a resting period of 30 s to the child.
15. Present a new odorant, the first one of the six experimental trials. Follow exactly the same procedure as for the training trial. Note that the order of odor presentation is randomized between participants.

16. After the presentation of the six different stimuli, odorants are presented again for the identification task (optional). Instructions to the children are as follows “Thank you for your answers. Now, your next task will be to smell each odor again, and to identify it.”

17. Put the training odor in the cardboard box, put it in front of the child, and ask the child to smell it.
18. Show the four different images to the child (see Note 10).
19. Ask the child “Put your finger on the image that corresponds to the odor you just smelled.” The odorant is left to the child, who can smell it again if needed to identify it.
20. Remove the cardboard box once the child completed the task, or after 1 min (see Note 11).
21. Allow 30 s of rest for the child.
22. Present a new odorant. The first one on the list and follow the same procedure as for the training odor (see Note 12).
23. At the end of the session, explain that the test is over, thank the child, and escort the child to her/his parents.
24. At the end of the experimental session, remember to air the room.

3.2 Analysis of the Video to Extract Odor Exploration Behaviors

For each odorant and each participant, videos are analyzed to extract behavioral variables. Participant’s nose trajectory and top of the flask’s trajectory are drawn manually with Volcan software (A2V module) developed under LabView (National Instrument) [14, 21, 22]. These trajectories are then analyzed to extract motor behavior variables (see Note 13). For each odorant, children had the opportunity to smell the odor several times in the 10-s time window. A trajectory is drawn for each odor sampling, i.e., each time the participant brought the flask closer than 5 cm from the nose and then withdrew it more than 5 cm from the nose (or each time they approached their nose closer than 5 cm from the flask). The trajectory

drawing starts as soon as the participant begins to approach the odorant and ends when the participant stops moving away from the odor. The step-by-step procedure to analyze the video is developed below

1. File format. If needed, the video file should be converted with dedicated software (e.g., VLC, from VideoLan, version 3.0.6) to switch from MP4 video format to AVI format (WMV1 debit of 800 kb/s).
2. The video scale is calibrated by measuring a distance in the video and in real life (for example, the size of the support or the flask).

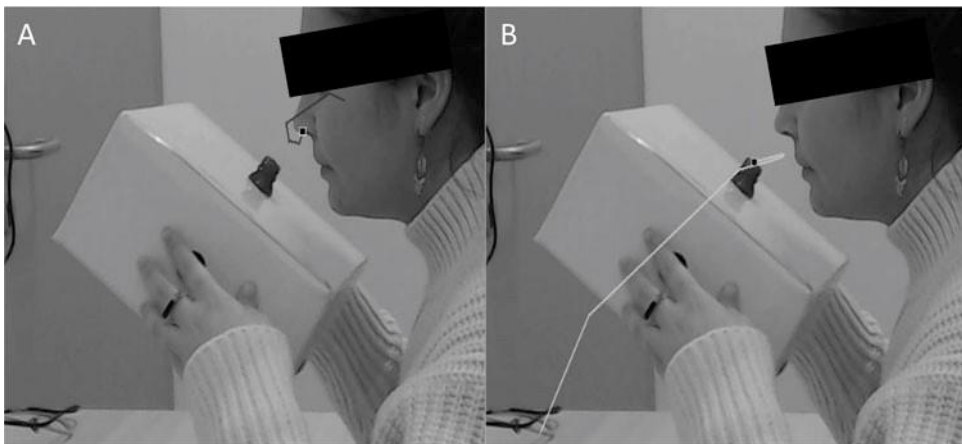


Fig. 4 Drawing of trajectories of the nose (a) and the flask (b)

3. For a given participant and odorant, watch the entire videotape. The analysis of the video begins when the experimenter asked the participant to smell the odor (trial onset) (see Note 14). Report the number of odor samplings. For each odor sampling, note the exact moment when the participant began to approach the odor, and when she/he ended moving away from the odor.
4. Then, begin the drawing of the nose's trajectory. Put a mark on the participant's tip of the nose by placing the mouse on the tip of the nose and clicking. After clicking, the video moves to the next recorded image (40 ms between each image). Click on the top of the nose again. Repeat it until the participant approaches and withdraws from the flask (Fig. 4). Then, save the trajectory (see Note 15).

5. If the participant smelled the odorant several times during the trial, do a trajectory for each odor sampling. The first trajectory stops when the participant ends up moving back from the flask (at more than 5 cm) and the second one starts when he begins to move forward again.
6. Then, do the trajectory for the top of the flask. As for the tip of the nose, draw one trajectory per odor sampling. Trajectories for the nose and the flask should have the same length (i.e., the same number of points) and should begin at the exact same moment on the video (when participants begin to approach the odor).
7. Based on tip of the nose and flask's trajectories, the relative distance between the tip of the nose and the top of the flask was calculated to extract the following behavioral variables: (1) nasal exploration duration (total period in which the nose remains within a 5 cm-distance to the flask), (2) minimum

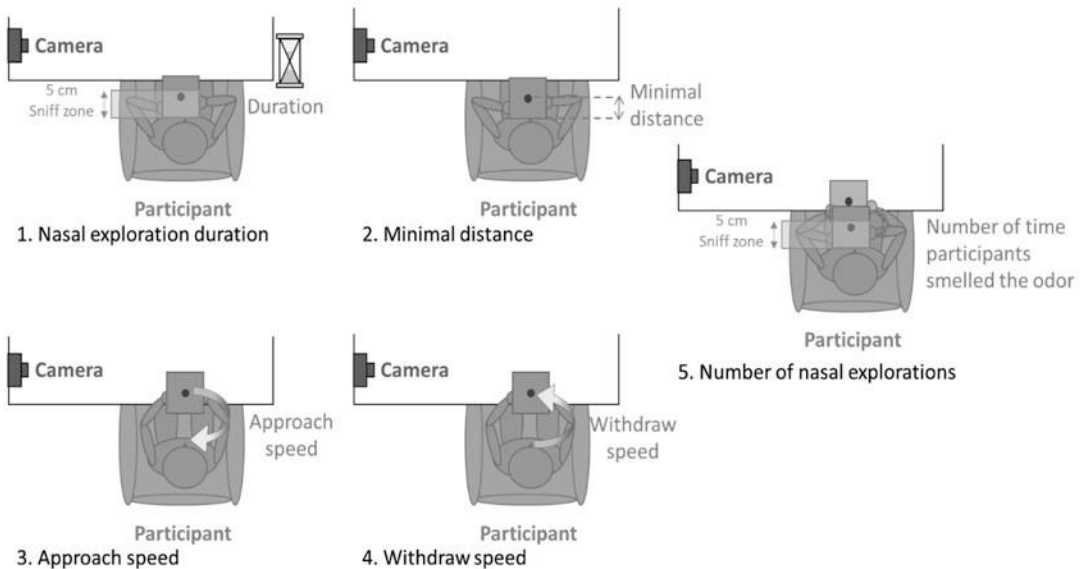


Fig. 5 Extracted behavioral variables from video analysis

distance between participant's nose and the flask, (3) average approach speed from the nose toward the flask, (4) average withdraw speed of the nose from the flask, and (5) the number of nasal explorations (i.e., number of time participants smelled the odor at less than 5 cm of the nose) (see Fig. 5). A script coded in MATLAB (MathWorks) extracts these variables into a dedicated file (see Note 16).

3.3 Statistical Analysis

1. For odor liking and wanting, convert the yes/no data into binary data (1 for yes, 0 for no). If the odor identification is performed, convert each response into binary data (1 for correct response, 0 for incorrect response). Statistical tests depend on the hypothesis, the number of odorants, and the number of subjects (Fig. 6 illustrates an example of results).
2. For behavioral data (nasal exploration duration, minimum distance, approach speed, withdraw speed, number of nasal explorations) depending on the number of participants and nature of data distribution (normality, etc.), inferential parametric or non-parametric statistics can be used (Fig. 6 illustrates an example of results).

Notes

1. Protocol can be adapted to different odorants (e.g., other monomolecular odorants or aromas, body odors, and naturally smelling objects), but take care to standardize the perceived

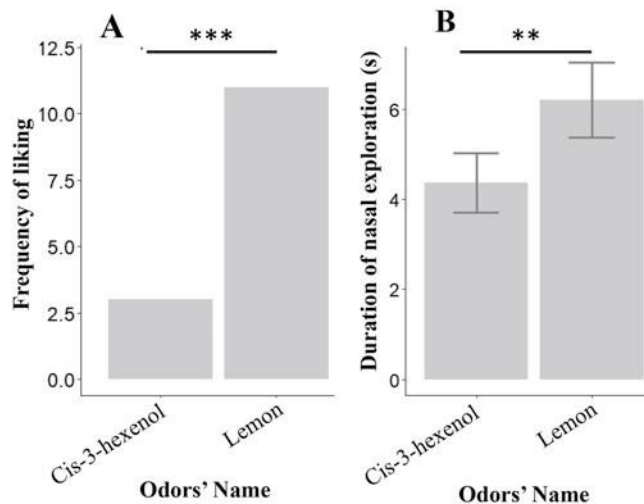


Fig. 6 Example of results from declarative data and behavioral data. Results from declarative data (a) show that the odor of lemon was liked by more participants ($N = 12$) than the cis-3-hexenol (liked by respectively 92% and 42% of participants, $\chi^2(1) = 11.0$, $p < 0.001$), and the results of the duration of nasal exploration (b) show that the lemon was also explored significantly longer than the cis-3-hexenol (respectively, $M = 6.2 \pm 2.9$ and $M = 4.4 \pm 2.3$, $t [11] = -3.85$, $p = 0.003$)

intensity of the odors if you are looking for the difference in hedonic value and not intensity. The quantity of odorants can also

be changed, but pay attention to habituation and olfactory fatigue that could impair smell perception.

2. Dilutions vary across olfactory stimuli in order to control for intensity differences.
3. The reasons for using polypropylene absorbent paper are twofold: (1) optimize contact between air and solution, and so the evaporation of volatile molecules and (2) avoid having a liquid solution in the flask that could tip over or be drunk by children. To put the paper into the flask, roll the paper thinly lengthwise and insert it into the flask. If the paper is stuck in the opening of the flask, gently tap the flask against the table, or push the paper with a pipette tip into the flask with a light tap. Be careful, the pipette tip should not touch the edges of the flask or the solution, just the top of the paper, to avoid odor contamination. Change pipette tip between each odorant.
4. It is possible to put a second camera in front of the participant to record and analyze facial expressions.
5. To allow the child and the parents a cooling-off period, it is recommended to inform them a few days before starting the test. To be included in our study, the child had to have no allergy to odors, no asthma, and be healthy on the day of the test (e.g., no stuffy nose or cough). Inclusion criteria are provided as examples, but other criteria can be added depending on the experiment and the target population.
6. For a study with an adult population, the flask can be put in front of the participant without the use of a cardboard box.
7. Odorants are presented one after the other in a randomized order. The order of odorant presentation for each participant is set before the beginning of the first inclusion of participants.
8. For study with children with autism spectrum disorder (ASD), questions are asked by a familiar adult, like a parent, a teacher, or an educator. Children with ASD can be disturbed by a change in their environment. To avoid inducing disturbances, (1) the experimenter should stay with the child for days before the experimental session in order to familiarize her/him with the experimenter, (2) the experimental session is performed in a familiar place (e.g., usual classroom), and (3) questions are asked by their usual teacher/educator (see [22] for further discussion on this point).
9. For children and adults with verbal abilities, they can respond verbally without the use of pictograms. It is also possible to use a visual scale to evaluate liking and wanting to improve rating accuracy.

10. For children and adults with verbal abilities, it is possible to provide a list of words with four choices for the odor identification task (one correct answer and three distractors).
11. Do not forget to record the answer.
12. You may follow the same order of presentation of odors as for the liking/wanting evaluation phase, but you can also use a different one if it is needed.
13. Other software is available in the market.
14. The training trial is recorded but not analyzed.
15. To avoid any confusion in the data, name your trajectory with the participant's code, odorant's code, number of trajectories (first one, a second one, etc.), and if it is the nose or flask trajectory.
16. The variables listed here are those that were used to analyze odor exploration behavior in this experiment. Other variables such as the maximum speed of approach or withdrawal, or the maximum distance between the nose and the flask can also be extracted and analyzed [21].

References

1. Stevenson RJ (2010) An initial evaluation of the functions of human olfaction. *Chem Senses* 35(1):3–20. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjp083>
2. Murphy C, Cain WS, Bartoshuk LM (1977) Mutual action of taste and olfaction. *Sens Processes* 1(3):204–211
3. Ferdenzi C, Bousquet C, Aguera P-E, Dantec M, Daude C, Fornoni L, Fournel A, Kassan A, Mantel M, Moranges M, Moussy E, Richard Ortego'n S, Rouby C, Bensafi M (2021) Recovery from COVID-19-related olfactory disorders and quality of life: insights from an observational online study. *Chem Senses* 46:bjab028. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjab028>
4. Manesse C, Ferdenzi C, Sabri M, Bessy M, Rouby C, Faure F, Bellil D, Jomain S, Landis BN, Hugentobler M, Cuevas M, Hummel T, Bensafi M (2017) Dysosmia-associated changes in eating behavior. *Chemosens Percept* 10(4):104–113. <https://doi.org/10.1007/s12078-017-9237-3>
5. Khan RM, Luk C-H, Flinker A, Aggarwal A, Lapid H, Haddad R, Sobel N (2007) Predicting odor pleasantness from odorant structure: pleasantness as a reflection of the physical world. *J Neurosci* 27(37):10015–10023. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1158-07.2007>
6. Licon CC, Manesse C, Dantec M, Fournel A, Bensafi M (2018) Pleasantness and trigeminal sensations as salient dimensions in organizing the semantic and physiological spaces of odors. *Sci Rep* 8(1):8444. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26510-5>
7. Midroit M, Chalenc, on L, Renier N, Milton A, Thevenet M, Sacquet J, Breton M, Forest J, Noury N, Richard M, Raineteau O, Ferdenzi C, Fournel A, Wesson D, Bensafi M, Didier A, Mandairon N (2020) Odorants as natural reward: behavioral evidence and underlying circuitry of odorant attraction from mice to humans. *SSRN Electron J.* <https://doi.org/10.2139/ssrn.3707269>
8. Schiffman S, Robinson DE, Erickson RP (1977) Multidimensional scaling of odorants: examination of psychological and physicochemical dimensions. *Chem Senses* 2(3): 375–390. <https://doi.org/10.1093/chemse/2.3.375>
9. Bensafi M, Iannilli E, Poncelet J, Seo H-S, Gerber J, Rouby C, Hummel T (2012) Dissociated representations of pleasant and unpleasant olfacto-trigeminal mixtures: an fMRI study. *PLoS One* 7(6):e38358. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038358>
10. Anderson AK, Christoff K, Stappen I, Panitz D, Ghahremani DG, Glover G, Gabrieli JDE, Sobel N (2003) Dissociated neural representations of intensity and valence in human olfaction. *Nat Neurosci* 6(2):196–202. <https://doi.org/10.1038/nn1001>
11. Bensafi M, Sobel N, Khan RM (2007) Hedonic-specific activity in piriform cortex during odor imagery mimics that during odor perception. *J Neurophysiol* 98(6):3254–3262. <https://doi.org/10.1152/jn.00349.2007>
12. Mantel M, Ferdenzi C, Roy J-M, Bensafi M (2019) Individual differences as a key factor to uncover the neural underpinnings of hedonic and social functions of human olfaction: current findings from PET and fMRI studies and future considerations. *Brain Topogr* 32(6):977–986. <https://doi.org/10.1007/s10548-019-00733-9>
13. Midroit M, Chalenc, on L, Renier N, Milton A, Thevenet M, Sacquet J, Breton M, Forest J, Noury N, Richard M, Raineteau O, Ferdenzi C, Fournel A, Wesson DW, Bensafi M, Didier A, Mandairon N (2021) Neural processing of the reward value of pleasant odorants. *Curr Biol* 31(8):1592–1605.e9. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2021.01.066>
14. Poncelet J, Rinck F, Bourgeat F, Schaal B, Rouby C, Bensafi M, Hummel T (2010) The effect of early experience on odor perception in humans: psychological and physiological correlates. *Behav Brain Res* 208(2):458–465. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.12.011>
15. Bensafi M (2002) Autonomic nervous system responses to odours: the role of pleasantness and arousal. *Chem Senses* 27(8):703–709. <https://doi.org/10.1093/chemse/27.8.703>
16. Brauchli P, Ru'egg PB, Etzweiler F, Zeier H (1995) Electrocutaneous and autonomic alteration by administration of a pleasant and an unpleasant odor. *Chem Senses* 20(5): 505–515. <https://doi.org/10.1093/chemse/20.5.505>
17. Alaoui-Ismaï'li O, Vernet-Maury E, Dittmar A, Delhomme G, Chanel J (1997) Odor hedonics: connection with emotional response estimated by autonomic parameters. *Chem Senses* 22(3):237–248. <https://doi.org/10.1093/chemse/22.3.237>
18. Ferdenzi C, Fournel A, Thevenet M, Coppin G, Bensafi M (2015) Viewing olfactory affective responses through the sniff prism: effect of perceptual dimensions and age on olfactomotor responses to odors. *Front Psychol* 6:1776. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2015.01776>
19. Berridge KC, Robinson TE, Aldridge JW (2009) Dissecting components of reward: «liking», «wanting», and learning. *Curr Opin Pharmacol* 9(1):65–73. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2008.12.014>
20. Chalenc, on L, Thevenet M, Noury N, Bensafi M, Mandairon N (2022) Identification of new behavioral parameters to assess odorant hedonic value in humans: a naturalistic approach. *J Neurosci Methods* 366:109422. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2021.109422>

Annexe 2

21. Rinck F, Barkat-Defradas M, Chakirian A, Jossain P, Bourgeat F, The'venet M, Rouby C, Bensafi M (2011) Ontogeny of odor liking during childhood and its relation to language development. *Chem Senses* 36(1): 83–91. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjq101>
22. Luisier A-C, Petitpierre G, Ferdenzi C, Clerc Be'rod A, Giboreau A, Rouby C, Bensafi M (2015) Odor perception in children with autism spectrum disorder and its relationship to food neophobia. *Front Psychol* 6:1830. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2015.01830>