



**HAL**  
open science

# Analyse des réponses et de la mémoire de l'Hortensia (*Hydrangea macrophylla* L.) à des spectres lumineux et des stimulations mécaniques, potentiels traitements alternatifs aux retardateurs de croissance chimiques

Béra Ley-Ngardigal

## ► To cite this version:

Béra Ley-Ngardigal. Analyse des réponses et de la mémoire de l'Hortensia (*Hydrangea macrophylla* L.) à des spectres lumineux et des stimulations mécaniques, potentiels traitements alternatifs aux retardateurs de croissance chimiques. Sciences agricoles. Université d'Angers, 2023. Français. NNT : 2023ANGE0057 . tel-04518167

**HAL Id: tel-04518167**

**<https://theses.hal.science/tel-04518167>**

Submitted on 23 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.

# THESE DE DOCTORAT

DE  
L'UNIVERSITÉ D'ANGERS

SOUS LE SCEAU DE

LA COMUE ANGERS – LE MANS

ECOLE DOCTORALE N° 642

*Ecole doctorale Végétal, Animal, Aliment, Mer, Environnement*

Spécialité : Biologie et physiologie végétales et animales

Par

**Béra LEY-NGARDIGAL**

**Analyse des réponses et de la mémoire de l'Hortensia (*Hydrangea macrophylla* L.) à des spectres lumineux et des stimulations mécaniques, potentiels traitements alternatifs aux retardateurs de croissance chimiques**

Thèse présentée et soutenue à Angers, le 13 Décembre 2023

Unité de recherche : UMR 1345 – IRHS, 42 rue Georges Morel 49070 Beaucouzé

## Rapporteurs avant soutenance :

Catherine RAMEAU	Directrice de Recherche, INRAE
Jean-Louis JULIEN	Professeur, Université Clermont Auvergne

## Composition du Jury :

Président :	David MACHEREL	Professeur, Université d'Angers
Examineurs :	Annabelle DÉJARDIN	Chargée de Recherche, INRAE
	Didier COMBES	Ingénieur de Recherche, INRAE
Dir. de thèse :	Nathalie LEDUC	Professeure, Université d'Angers
Co-dir. de thèse :	Hanaé ROMAN	Responsable R&D, Hortensia France
	Vincent GUÉRIN	Ingénieur de Recherche, INRAE







## Remerciements

La rédaction de ces remerciements annonce pour moi la fin de longues heures passées à mesurer et à broyer les tiges d'hortensia, la fin des expériences dans le container dernier cri d'Hortensia France (HF) et avec la merveilleuse table de thigmo de Clermont-Ferrand. Ces remerciements annoncent également la fin de mes recherches sur l'hortensia, une plante de grands-mères pour certains mais un fabuleux modèle d'étude pour moi.

Je tiens tout d'abord à remercier Catherine Rameau et Jean-Louis Julien d'avoir accepté d'être rapporteurs de cette thèse, ainsi qu'Annabelle Dejardin, Didier Combes et David Macherel d'avoir accepté d'être mes examinateurs.

Mes remerciements les plus sincères à mon équipe encadrante, ma directrice de thèse Nathalie Leduc, mes co-encadrants de thèse Hanaé Roman et Vincent Guérin, et à ma co-encadrante de thèse officieuse, Lydie Huché-Thélier, qui est pour moi une co-encadrante officielle. Merci à vous de m'avoir fait confiance, merci pour tout ce que vous m'avez appris, et j'en ai appris des choses ! Un immense merci à toi Nathalie, d'apparence dure mais aussi douce que ton blanc manger coco, tout simplement merci pour tout, même pour ton exigence qui fera de moi, j'espère, une pas trop mauvaise chercheuse. Merci Hanaé d'avoir été là bien avant le début de ma thèse, merci d'avoir été mon binôme pendant la période Covid, merci pour les sessions squats chez Gajyflor, pour les sessions diverses et variées à HF et surtout pour les sessions notations, nettoyage et arrachage de cheveux dans le container. Merci à toi Vincent pour les nombreux conseils et discussions autour du jardinage et du bricolage. Hâte que tu sois à la retraite pour que tu puisses enfin ouvrir les ateliers « Bricolez malin avec Guérin ! ». Merci à toi Lydie pour tes précieux conseils, ton dynamisme et ton humour incroyable. Merci à vous de m'avoir fait rire, je me souviendrais encore longtemps de vous trois (Nathalie, Lydie et Hanaé) en train de tourner dans le manège du jardin des plantes... Du fond du cœur, un énorme merci à vous quatre !

Je tiens également à vous remercier, Nathalie Leblanc-Fournier et Stéphane Maury, d'avoir accepté d'être membres de mon Comité de Suivi Individuel, pour tous vos conseils et nos discussions enrichissantes à parler flexions de tiges, gènes et chromatine.

À présent je remercie mon laboratoire d'accueil, que je pourrais qualifier de résidence secondaire, l'Institut de Recherche en Horticulture et Semences Institut (IRHS),

sous la direction de Marie-Agnès Jacques. Je vous remercie chaleureusement Marie-Agnès pour votre écoute et vos mots d'encouragement qui sont toujours venus à point nommé.

Un énorme merci aux personnes de mon étage, le R+1, merci pour tous ces moments passés ensemble à parler de tout et de rien à la cafétéria, dans les laboratoires, les bureaux, les salles congélos et les couloirs, vraiment The place to be ! Un énorme merci aux membres de mon équipe STREMHo, (Allan, Alain, Anne-Laure, Florent (ex membre), Hanaé, Lydie, Nathalie B., Nathalie L., Vincent) pour vos conseils et tous les instants que nous avons partagés. Un immense merci aux membres de l'équipe GDO et à leur humour plus que tordant (Annie, Fabrice, Laurence, Sophie, Tatiana, Vanessa, Youenn). Un grand merci également aux membres de l'équipe PHENOTIC (Claude, Christine, Daniel, Rémy), QuaRVeg (Anita, Cécile, Emmanuel, Latifa, Sébastien) et STRAGENE (Camille, José, Laurent, Loly, Lydie, Sabine, Soulaïman).

Des remerciements tout particuliers à Sandra Pelletier et à Jean-Pierre Renou de l'équipe BIDEFI, pour avoir pris le temps de m'expliquer et de m'avoir guidé dans les analyses transcriptomiques. Encore merci Sandra pour ta douceur, tes précieux conseils d'experte en bioinfo et tes fabuleuses astuces excel.

Une mention particulière à Laurent Crespel et Camille Lebras, merci d'avoir été là pour moi, merci pour ces moments passés ensemble à rire et à refaire le monde, merci pour vos encouragements et votre soutien sans faille. Un énorme merci à ma Loly, tu sais déjà tout, ton soutien et tes encouragements m'ont été d'une grande aide. Un énorme merci également à Laurent Ogé (aussi appelé l'homme indispensable) et Christophe Vilfroy, un énorme merci à vous d'avoir toujours été là pour moi et mes galères, merci pour votre générosité et votre grand cœur. Ah oui, et merci Laurent de croire en l'avenir et de faire en sorte que le monde et les mentalités évoluent. Bien évidemment, un grand merci à tous les doctorants, post-docs, stagiaires, CDD que j'ai pu croiser. Nous avons partagé des moments agréables ensemble, que ce soit à la paillasse, au bureau, ou même autour d'une bière. Un grand merci aussi aux premières stagiaires que j'ai encadrées, Isabel et Cassandra, ça a été un plaisir de travailler avec vous. J'espère vous avoir transmis le goût pour la recherche et les qPCR ! Je vous souhaite pleins de bonnes choses pour la suite. Une mention très spéciale à tous mes (ex) collègues de bureau, de couloir et de bâtiments (Alexis, Andréa, Berline, Clovis, Dorinne, Eduardo, Étienne, Goeffroy, Laurine, Louisa, Masoud, Maxime, Julie, Patricia, Skander), merci pour tous ces incroyables moments passés ensemble à rire ou à en

pleurer, merci pour toutes ces journées passées au labo, ces promenades, ces soirées délirantes au Héron ou ailleurs, ces midis à la cafét ou au RU, ces sessions sports, ces longues discussions à parler de nos vies, de sciences, de politique ou de nourriture (la base). Tout simplement, merci d'avoir été là pour moi ! Ne changez pas, vous êtes géniaux !

Je te tiens également à remercier très chaleureusement les membres des plateaux techniques de la SFR QuaSaV. Merci à toi Muriel (plateau ANAN) pour ta bonne humeur, ton écoute, ton soutien et tes bons conseils. Merci à vous, Aurélia et Fabienne (aussi appelées les dames du plateau IMAC). J'ai passé de supers bons moments avec vous sur le plateau dans le noir ou à la lumière. Merci à vous d'être aussi bienveillantes, merci de m'avoir autant soutenue durant ces trois années, et encore merci à vous pour tous vos précieux conseils qui me sont/seront d'une grande utilité dans la vie.

Un immense merci à l'entreprise Hortensia France, de m'avoir si chaleureusement accueillie et d'avoir accepté de financer une partie de ma thèse malgré les tensions financières liées à la crise du Covid. Un grand merci à Thomas Eveleens pour ta disponibilité et pour m'avoir montré que les compétences authentiques d'un leader vont bien au-delà des limites d'un bureau. Mes remerciements les plus chaleureux à Karl Storf et l'équipe de Brain (Antoine, François, Sandrine), pour avoir pris soin de mes plantes avec tant d'attention et d'égard. Merci à vous pour votre bonne humeur (même toi François), votre aide et vos conseils divers et variés.

Naturellement, je souhaite exprimer ma gratitude envers ma famille et mes amis qui ont été un soutien inestimable, en particulier durant ces trois années de thèse. Votre confiance inébranlable, votre bienveillance et vos encouragements ont été des facteurs déterminants dans mon parcours, et je vous en remercie du fond du cœur. Des remerciements tout particuliers à toi mon Loup, merci pour tout ce que tu as fait pour moi, merci de croire en moi, je t'aime (tu vois je sais être soft). Et pour finir, un merci à mon Ginkgo, merci d'être un super chat !





*À mes parents,  
à mes Sœurs avec un grand S,  
et à mon Loup.*



## Table des matières

<b>Remerciements.....</b>	<b>1</b>
<b>Table des matières .....</b>	<b>7</b>
<b>Liste des abréviations .....</b>	<b>11</b>
<b>Contexte de la thèse .....</b>	<b>13</b>
<b>Introduction générale .....</b>	<b>15</b>
1. L'importance du contrôle de la croissance et du développement des plantes en horticulture ornementale.....	15
1.1 Contexte général .....	15
1.2 L'optimisation des cultures végétales par les régulateurs de croissance .....	17
1.3 La gestion de la croissance des plantes par les retardateurs de croissance chimiques..	21
1.4 Les effets négatifs des régulateurs de croissance chimiques.....	25
1.5 Rôles des hormones végétales dans la croissance et le développement des tiges.....	26
2. Des méthodes alternatives aux régulateurs de croissance pour la préservation de l'Environnement et de l'Homme .....	69
2.1 Stimulation mécanique et thigmomorphogenèse.....	69
2.2 Lumière et photomorphogenèse .....	85
3. Présentation du modèle d'étude : <i>Hydrangea macrophylla</i> .....	93
3.1 Classification et caractéristiques du genre <i>Hydrangea</i> .....	93
3.2 L'hortensia et l'Anjou : plus de 100 ans d'histoire.....	94
3.3 L'entreprise Hortensia France.....	96
4. Objectifs de recherche.....	101
4.1 Questions de recherche .....	101
4.1 Stratégie de recherche.....	103
<b>Chapitre 1 : L'effet de la stimulation mécanique sur <i>Hydrangea macrophylla</i> .....</b>	<b>105</b>
1. Introduction de l'étude .....	105
2. Impact of mechanical stimulation on <i>Hydrangea macrophylla</i> .....	107
3. Conclusions générales.....	119
<b>Chapitre 2 : Des flexions symétriques récurrentes provoquent le nanisme chez l'hortensia à travers la régulation spatiale et moléculaire des parois cellulaires du xylème.....</b>	<b>121</b>
1. Contexte de l'étude .....	121
2. Recurrent symmetrical bending causes dwarfing in <i>Hydrangea</i> through spatial, molecular regulation of xylem cell walls .....	123

3. Effet de la stimulation mécanique sur le débourrement des bourgeons axillaires des tiges d'hortensia .....	168
3.1 Contexte de l'étude.....	168
3.2 Matériel et méthodes.....	170
3.3 Résultats.....	171
3.4 Conclusions.....	175
4. Conclusions générales.....	176

### **Chapitre 3 : La mémoire d'*Hydrangea macrophylla* à la stimulation mécanique .....179**

1. Étude de la croissance diamétrale des tiges .....	179
1.1 Contexte de l'étude.....	179
1.2 Matériel et méthodes.....	179
1.3 Effet d'1 ou 12 flexions par jour pendant 3 semaines (1 <sup>ère</sup> expérimentation).....	181
1.4 Effet d'1 ou 12 flexions par jour pendant 5 semaines (2 <sup>ème</sup> expérimentation).....	182
1.5 Effet d'1 ou 12 flexions 5j/7j ou 7j/7j (3 <sup>ème</sup> expérimentation).....	183
1.6 Conclusions.....	184
2. Étude de la compaction de l'ADN .....	185
2.1 Contexte de l'étude.....	185
2.2 Matériel et méthodes.....	185
2.3 Résultats.....	186
2.4 Conclusions.....	187
3. Conclusions générales.....	188

### **Chapitre 4 : Étude des réponses à la stimulation mécanique chez *Hydrangea macrophylla* au travers un profilage transcriptomique et métabolomique .....189**

1. Contexte de l'étude .....	189
2. Décryptage de la réponse transcriptomique de la tige d' <i>Hydrangea macrophylla</i> à la stimulation mécanique : assemblage <i>de novo</i> et annotation fonctionnelle.....	191
3. Étude de l'effet de 12 flexions symétriques successives sur l'hortensia : approche transcriptomique et métabolomique .....	203
3.1 Effet de stimulation mécanique sur le métabolisme et la signalisation de l'acide jasmonique .....	204
3.2 Effet de stimulation mécanique sur la signalisation de l'acide salicylique .....	207
3.3 Effet de la stimulation mécanique sur le métabolisme et la signalisation de l'acide abscissique .....	210
3.4 Effet de la stimulation mécanique sur le métabolisme et la signalisation des gibbérellines .....	213

3.5	<i>Effet de la stimulation mécanique sur le métabolisme et la signalisation des cytokinines</i>	216
3.6	<i>Effet de la stimulation mécanique sur le métabolisme et la signalisation de l'auxine..</i>	220
3.7	<i>Effet de la stimulation mécanique sur le métabolisme et la signalisation des brassinostéroïdes .....</i>	223
3.8	<i>Effet de la stimulation mécanique sur le métabolisme et la signalisation des strigolactones</i>	225
3.9	<i>Effet de la stimulation mécanique sur le métabolisme et la signalisation de l'éthylène</i>	228
4.	Conclusions générales.....	231
	<b>Chapitre 5 : La modulation de la qualité lumineuse augmente la compacité chez l'hortensia .....</b>	<b>233</b>
1.	Contexte de l'étude .....	233
2.	Supplemental lighting with red or blue wavelengths induces dwarfism in <i>Hydrangea macrophylla</i> .....	235
3.	Conclusions générales.....	273
	<b>Discussion générale et perspectives .....</b>	<b>275</b>
	<b>Annexes .....</b>	<b>284</b>
	ANNEXE I : Chapitre 2 – Les flexions symétriques récurrentes provoquent le nanisme chez l'hortensia à travers la régulation spatiale et moléculaire des parois cellulaires du xylème	284
	ANNEXE II : Chapitre 3 – La mémoire d' <i>Hydrangea macrophylla</i> à la stimulation mécanique.....	291
	ANNEXE III : Chapitre 5 – La modulation de la qualité lumineuse augmente la compacité chez l'hortensia.....	293
	ANNEXE IV : Liste des communications pendant la thèse.....	297
	ANNEXE V : Liste des publications pendant la thèse .....	298
	ANNEXE VI : Liste des formations dispensées pendant la thèse.....	299
	<b>Références.....</b>	<b>301</b>



## Liste des abréviations

### Liste non exhaustive

ABA	Acide abscissique	FLA	Fasciclin-Like Arabinogalactan-protein
ACC	1-aminocyclopropane-1-carboxylique	FW	Flewure Wood
ACO	1-aminocyclopropane-1-carboxylique oxygénase	G	Guaiacyl
ACS	1-aminocyclopropane-1-carboxylique synthétase	GAox	Gibbérelline oxidase
AGPs	Arabinogalactan proteins	GAI	GA-Insensitive
AUX	Auxines	GAs	Gibbérellines
BRC1	Branched 1	H	p-hydroxyphényl
BRI1	Brassinosteroid Insensitive 1	IAA	Acide indol-3-acétique
BRs	Brassinostéroïdes	iP	Isopentényladénine
BZR1	Brassinazole-Resistant 1	JA	Acide jasmonique / Jasmonate
CAD	Cinnamyl alcool deshydrogenase	JAZ	Jasmonate ZIM-Domain
CCD	Carotenoid Cleavage Dioxygenases	LAC	Laccases
CDK	Cyclin-Dependent Kinases	LEDs	Light-Emitting Diodes
CESA	Cellulose Synthase	LOX	Lipoxygenases
CKs	Cytokinines	MAX2	More Axillary Growth 2
CKX	Cytokinins Oxidases/Dehydrogenases	NCED	9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase
CRY	Cryptochromes	PAL	Phenylalanine ammonia-lyase
CS	Castastérone	PE	Pectinases
CT	Cathastérone	PHOT	Phototropines
CW	Compression Wood	PHY	Phytochromes
CYC	Cyclines	PL	Pectate lyases
CYP	Cytochrome Monooxygenase P450	PLG	Polygalacturonases
cZ	cis-zéatine	PME	Pectin methylesterases
DZ	Dihydrozéatine	POX	Peroxidase
ERF	Ethylene Response Factor	PPAM	Plantes à parfum, aromatiques et médicinales
ERS1	Ethylene Response Sensor 1	Rc	Rouge sombre
EXP	Expansines	RGA	Repressor of ga1-3
EXT	Extensines	RGL	RGA-like 1
FTs	Facteurs de transcription	ROS	Reactive Oxygen Species
		Rs	Rouge clair



S	Syringyl
SA	Acide salicylique / Salicylate
SAM	Shoot Apical Meristem
SAMS	S-Adenosyl Methionine Synthetase
SAS	Shade Avoidance Syndrome
SLs	Strigolactones
SMAX1	Suppressor Of MAX2 1
SMXL	SMAX1-Like
TCH	Touch
TE	Teastérone
TW	Tension Wood
TY	Typhastérol
tZ	<i>trans</i> -zéatine
XET/XTH	Xyloglucanes endotransglycosylases/hydrolases
YUC	Yucca
$\beta$ -GLU	$\beta$ -Glucosidases

## Contexte de la thèse

Les plantes ornementales sont principalement cultivées pour leur attrait visuel qui offre de nombreux avantages pour le bien-être mental et physique de l'Homme. Le contrôle de la compacité des plantes joue un rôle essentiel dans le maintien de la forme et de la taille souhaitées, améliorant ainsi leur attrait pour les consommateurs. De plus, en contrôlant la taille des plantes, les producteurs maximisent la rentabilité des espaces cultivées. L'uniformité des dimensions et de la morphologie des plantes est aussi cruciale pour faciliter leur transport car les spécimens plus grands posent des défis d'emballage et de manipulation mais aussi pour réduire les coûts de transport. Le contrôle de la taille des plantes permet également de réaliser des économies, car des plantes plus grandes nécessitent plus de ressources (eaux, nutriments, ...). L'ombre portée de grandes plantes peut aussi nuire à la croissance des plantes voisines plus petites et provoquer un étiolement. Les pratiques de contrôle de la hauteur des plantes renforcent également la santé des plantes et réduisent l'utilisation d'agents phytosanitaires. En effet, principalement en raison de la circulation d'air réduite et de l'humidité accrue au sein de la canopée, les plantes de grandes dimensions et touffues sont plus sensibles au pourrissement et aux agents phytopathogènes.

Pour produire des plantes ornementales à la fois esthétiques et robustes, les horticulteurs utilisent des régulateurs de croissance, particulièrement des retardateurs de croissance, issus de la chimie de synthèse. Toutefois, compte tenu des préoccupations liées à la santé humaine et à l'environnement, la législation française et européenne supprime nombre de ces molécules de la liste des produits autorisées en agriculture et horticulture, et encourage la recherche de méthodes alternatives respectueuses de l'environnement.

Dans une démarche éco-responsable, l'entreprise Hortensia France (HF), le 1<sup>er</sup> producteur français d'hortensias et le 3<sup>ème</sup> européen, adhère depuis 2007 au label MPS (Milieu Programma Sierteelt), une accréditation d'origine néerlandaise conçue pour quantifier l'impact environnemental des activités en production horticole. En février 2019, HF a établi une collaboration avec l'Institut de Recherche en Horticulture et Semences (IRHS, Université d'Angers, Institut National de Recherche pour l'Agriculture, l'Alimentation et l'Environnement (INRAE), L'Institut Agro Rennes-Angers) avec le soutien financier de l'Agence National de la Recherche (ANR). Un laboratoire commun dénommé « LabCom **MATCH** » : **M**éthodes **A**lternatives aux **T**raitements **C**himiques sur

Hortensia a ainsi été créée en 2019 pour 5 ans. Au sein de ce laboratoire, trois axes de R&D sont développés : (1) développement de méthodes alternatives aux fongicides, (2) développement de méthodes alternatives aux nanifiants et (3) ajustement des apports de fertilisants et de sulfate d'alumine sur la culture d'hortensias.

La thèse portant sur les réponses et la mémoire de l'hortensia à la lumière et à la stimulation mécanique présentée dans ce mémoire, s'inscrit dans l'axe 2 du LabCom MATCH. La bourse de thèse associée à ce projet a été conjointement financée par l'Université d'Angers et l'entreprise Hortensia France (HF). Cette thèse a été menée dans l'équipe STREMHo (Stress, Epigenetic, Memory of Horticultural plants), dont les membres sont experts dans la compréhension des mécanismes sous-jacents à l'établissement de l'architecture des plantes d'ornement, en particulier le rosier (*Rosa* 'Radrazz') et le pétunia (*Petunia hybrida*) et leurs réponses aux facteurs abiotiques (lumière et stress hydrique). Cette thèse a débuté le 1<sup>er</sup> octobre 2020 et a été proposée et supervisée par Nathalie Leduc (Professeure, Université d'Angers), Hanaé Roman (Dr., Responsable R&D, Hortensia France) et Vincent Guérin (Dr., Ingénieur de Recherche, INRAE). Lydie Huché-Thélier, Ingénieure de Recherche dans l'équipe STREMHo, a aussi participé de près à l'encadrement.

Dans un contexte axé sur la préservation de la santé humaine et de l'environnement, l'objectif principal de cette thèse a été d'étudier les effets de la stimulation mécanique et de la modulation du spectre lumineux sur le développement, la croissance et les processus de mémorisation de l'hortensia (*Hydrangea macrophylla*) et d'évaluer le potentiel de ces traitements comme alternatives aux traitements chimiques nanifiants.

## Introduction générale

### **1. L'importance du contrôle de la croissance et du développement des plantes en horticulture ornementale**

#### 1.1 Contexte général

Le secteur du végétal englobe un large éventail de production telles que les grandes cultures, la viticulture, l'arboriculture, le maraîchage, la culture des plantes à parfum, aromatiques et médicinales (PPAM) et l'horticulture ornementale. Dans ce paysage diversifié, chacune de ces filières a ses propres contraintes et pratiques culturelles. Néanmoins, la gestion de la croissance et du développement des plantes est un impératif pour tous les producteurs, étant donné leurs influences directes sur les rendements (Andersen and Andersen, 2000; Megersa et al., 2018). La croissance et le développement des plantes sont profondément influencés par le patrimoine génétique, les conditions environnementales, les pratiques culturelles, ainsi que leurs interactions (van Eeuwijk et al., 2019; Crespel et al., 2020).

Dans les années 1960, le développement de variétés modernes à haut potentiel de rendement, l'irrigation automatisée des cultures, l'utilisation d'engrais synthétiques et la lutte contre les ravageurs et les maladies, ont joué un rôle prépondérant dans la production alimentaire mondiale (Evenson and Gollin, 2003; Gray, 2004). Cette « révolution verte » (1960-2000) a permis de lutter de manière spectaculaire contre les pénuries alimentaires et a considérablement contribué à l'amélioration du niveau de vie de millions de personnes (Evenson and Gollin, 2003; Armanda et al., 2019). La révolution verte a également eu une influence sur la production des plantes non destinées à l'alimentation, telles que les plantes ornementales. Les horticulteurs ont bénéficié des avancées scientifiques et technologiques de l'après-guerre qui ont contribué au développement de nouvelles variétés sélectionnées pour leur attrait visuel (couleur et forme des fleurs et du feuillage, forme globale des plantes) et leurs résistances à diverses contraintes biotiques et abiotiques (Chandler and Sanchez, 2012; Mekapogu et al., 2022; De et al., 2023).

L'utilisation massive de pesticides, d'engrais chimiques et de produits phytopharmaceutiques après la Seconde Guerre mondiale a permis d'assurer une sécurité alimentaire, mais a également engendré de nombreux problèmes pour la santé humaine, l'environnement et la durabilité à long terme de l'agriculture (Wezel et al., 2018b; Armanda

et al., 2019). L'exposition aux produits chimiques agricoles a exposé les travailleurs et les populations vivant près des zones agricoles à différents problèmes de santé, allant des intoxications aiguës aux cancers, aux troubles neurologiques et aux problèmes de reproduction (Sorensen and Danielsen, 2006; Hassaan and El Nemr, 2020; John and Babu, 2021). Les produits issus de l'industrie agrochimique ont également contaminé les sols, les cours d'eau, les lacs et les nappes phréatiques, entraînant la perte de biodiversité et la dégradation des écosystèmes terrestres et aquatiques (Halstead et al., 2014; Tyagi, 2016; Wezel et al., 2018b). De manière paradoxale, l'utilisation excessive de produits phytosanitaires a favorisé l'émergence de résistances chez de nombreux organismes nuisibles (insectes, champignons, adventices, ...), qui ont développé des mécanismes de résistance aux produits chimiques, obligeant ainsi à recourir à des doses de plus en plus élevées et à des produits chimiques de plus en plus puissants pour maintenir leur efficacité (John and Babu, 2021).

Face à ces défis, l'utilisation intensive de produits chimiques agricoles n'est plus viable dans un environnement en constante détérioration, en particulier avec le changement climatique. Des alternatives existent pour favoriser la croissance économique, augmenter les rendements et réduire les impacts environnementaux (John and Babu, 2021). Par exemple, l'agriculture intégrée, incluant la rotation des cultures et le biocontrôle avec des organismes bénéfiques, s'avère efficace pour la gestion des ravageurs et des maladies des productions végétales (Hendrickson et al., 2008; Wezel et al., 2018a; Holtappels et al., 2021). L'agriculture moderne profite également des avancées technologiques, telles que l'intelligence artificielle, les robots et les capteurs pour surveiller en temps réel les besoins des plantes en fonction des conditions environnementales (Klerkx and Rose, 2020; Lezoche et al., 2020). De plus, les méthodes alternatives utilisant les facteurs environnementaux, tels que la lumière, la température, les restrictions en eau et en éléments minéraux pour contrôler la croissance des plantes, gagnent en importance (Bergstrand, 2017). Par exemple, l'utilisation de lampes HPS (High Pressure Sodium) et de LEDs (Light-Emitting Diodes) pour moduler l'environnement lumineux, ainsi que des contraintes hydriques contrôlées pour limiter la croissance des plantes, réduit la nécessité d'utiliser des produits chimiques phytosanitaires ou des agents de croissance chimiques (Alem et al., 2015; Bantis et al., 2018). Toutes ces alternatives représentent des approches responsables et durables à long terme.

## 1.2 L'optimisation des cultures végétales par les régulateurs de croissance

Les régulateurs de croissance ou PGRs, de l'anglais Plants Growth Regulators, sont des analogues synthétiques des phytohormones issus de l'industrie agrochimique et qui modifient l'équilibre naturel des hormones végétales (Santner et al., 2009; Sajjad, 2017; Dias, 2019; Pal, 2019; Collado and Hernández, 2021). Ils constituent un outil permettant aux producteurs de contrôler rapidement et efficacement la croissance et le développement des plantes en fonction de la demande du marché, du calendrier saisonnier et des objectifs spécifiques des différentes filières végétales (Rademacher, 2017).

Les PGRs agissent sur différents processus physiologiques du développement ainsi que sur les mécanismes de défense et d'acclimatation des plantes en conditions de stress (**Tableau I**) (Davies, 2004; Gupta et al., 2017; Jamwal et al., 2018). Les PGRs agissent à des concentrations infimes et induisent des réponses physiologiques transitoires également dépendantes des conditions environnementales et du patrimoine génétique des plantes (Harms and Oplinger, 1988; Bailey and Clark, 1992; Santner et al., 2009; Zhang et al., 2017). Les PGRs sont appliqués de manière exogène sur les plantes par pulvérisation, par trempage de la partie racinaire, par immersion totale ou par chimigation à travers l'eau d'irrigation (Latimer and Whipker, 2013). Une fois la dissipation des effets du traitement, les plantes ont naturellement tendance à revenir à leur mode de croissance spécifique ce qui nécessite une surveillance continue des cultures (Latimer and Whipker, 2013). Par ailleurs, l'efficacité des PGRs dépend d'un grand nombre de facteurs tels que le mode et le nombre d'applications, le temps d'exposition aux substances actives et les propriétés physico-chimiques des PGRs (Latimer and Whipker, 2013; Wróblewska and Debicz, 2013; Sajjad, 2017; Desta and Amare, 2021).

**Tableau I.** Quelques exemples des effets induits par les Plants Growth Regulators (PGRs) sur différents processus physiologiques.

Processus physiologiques	Espèces végétales	PGRs utilisés et le mode d'action	Effets des PGRs sur le processus	Références
Développement racinaire	<i>Portulaca umbraticola</i> Kunth	<ul style="list-style-type: none"> <li>Acide N-acétylaspartique (NAA) : analogue de l'acide indole-3-acétique</li> <li>6-Benzylaminopurine (BAP) : appartient à la famille des cytokinines</li> </ul>	Stimulant	(Wróblewska and Debicz, 2013)
Élongation des racines	<i>Avena sativa</i> L. <i>Hordeum vulgare</i> L. <i>Triticum vulgare</i> L	<ul style="list-style-type: none"> <li>Chlorméquat &amp; trinexapac-éthyl (TE) : inhibe la synthèse des gibbérellines (GAs)</li> </ul>	Inhibiteur	(Rajala et al., 2002)
Élongation des tiges et des entrenœuds	<i>Lolium perenne</i> L.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Solution d'acide gibbérellique</li> </ul>	Stimulant	(Głąb et al., 2021)
	<i>Zea mays</i> L.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Pacloubutrazol : inhibe la synthèse des GAs</li> </ul>	Inhibiteur	(Zhang et al., 2020)
		<ul style="list-style-type: none"> <li>Éthéphon : libération d'éthylène</li> </ul>		(Kamran et al., 2018)
	<i>Zinnia elegans</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Pacloubutrazol, daminozide &amp; chlorméquat : inhibe la synthèse des GAs</li> </ul>	Inhibiteur	(Pinto et al., 2005)
	<i>Euphorbia pulcherrima</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Daminozide : inhibe la synthèse des gibbérellines</li> </ul>		(Lewis et al., 2004)
<i>Lilium</i> cv. 'Arcachon'	<ul style="list-style-type: none"> <li>Solution d'acide gibbérellique</li> </ul>	Aucun effet	(Torres-Pio et al., 2021)	
Développement foliaire	<i>Lactuca sativa</i> L. <i>Eruca sativa</i> L.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Solution d'acide gibbérellique</li> </ul>	Stimulant	(Miceli et al., 2019)

**Tableau I.** Quelques exemples des effets induits par les Plants Growth Regulators (PGRs) sur différents processus physiologiques (*suite*).

Processus physiologiques	Espèces végétales	PGRs utilisés et le mode d'action	Effets des PGRs	Références
Fructification	<i>Prunus avium</i> L.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Glycine bétaine (GB) : osmoprotectant</li> <li>• Solution d'acides gibbérellique et salicylique</li> </ul>	Stimulant	(Correia et al., 2019)
	<i>Fragaria × ananassa</i> Duch.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Solution d'acide gibbérellique</li> </ul>		(Rathod et al., 2020)
Germination	<i>Koelreuteria paniculata</i> Laxm.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Solution d'acide gibbérellique</li> </ul>	Stimulant	(Rehman and Park, 2000)
	<i>Ceratoides lanata</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Éthéphon : libération d'éthylène</li> </ul>		(Khan et al., 2004)
Phytoremédiation	<i>Arabidopsis thaliana</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Acide N-acétylaspartique (NAA) : analogue de l'acide indole-3-acétique (IAA), famille des auxines (AUX)</li> </ul>	Stimulant	(Zhu et al., 2013b)
Ramification	<i>Hosta</i> sp.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Solution d'acide gibbérellique</li> <li>• 6-Benzylaminopurine (BAP) : appartient à la famille des cytokinines</li> </ul>	Stimulant	(Witomska et al., 2010)
Régénération de tissus <i>in Vitro</i>	<i>Mentha piperita</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 6-Benzylaminopurine (BAP) : appartient à la famille des cytokinines</li> <li>• Acide 1H-indole-3-butanoïque (IBA) : appartient à la famille des AUX</li> </ul>	Stimulant	(Santoro et al., 2013)
Floraison	<i>Camellia sinensis</i> L.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Chlorméquat &amp; paclobutrazol : inhibe la synthèse des GAs</li> <li>• Éthéphon : libération d'éthylène</li> </ul>	Inhibiteur	(Tian et al., 2021)



**Tableau I.** Quelques exemples des effets induits par les Plants Growth Regulators (PGRs) sur différents processus physiologiques (*suite*).

Processus physiologiques		Espèces végétales	PGRs utilisés et le mode d'action	Effets des PGRs	Références
Résistance aux stress abiotiques et biotiques	Conditions d'ombrage (faible intensité lumineuse)	<i>Paspalum vaginatum</i>	• Paclobutrazol & trinexapac-éthyl (TE) : inhibe la synthèse des GAs	Stimulant	(Hussein et al., 2012)
	Stress hydrique	<i>Brassica napus</i> L.	• Solution d'acide salicylique		(Ullah et al., 2012)
		<i>Petunia x hybrida</i>			(Saber et al., 2015)
	Stress salin	<i>Catharanthus roseus</i> L.		(Idrees et al., 2011)	
	Infection à l'oïdium	<i>Vitis vinifera</i>	• Solution de méthyl jasmonate	Stimulant	(Belhadj et al., 2006)
Sénescence		<i>Vitis</i> spp.	• Paclobutrazol : inhibe la synthèse des GAs	Inhibiteur	(Hunter and Proctor, 1992)
		<i>Vaccinium ashei</i> <i>Reade</i> cv. 'Tifblue'			(Basiouny, 1994)
		<i>Bougainvillea buttiana</i> Wild. cv. 'Taipei Red'	• Solution de tétraméthylène diamine : molécule appartenant à la famille des polyamines		(Lin et al., 2021)

### 1.3 La gestion de la croissance des plantes par les retardateurs de croissance chimiques

Les retardateurs de croissance (en anglais « growth retardant »), aussi appelés nanifiants, constituent une importante classe de PGRs qui permet de réduire l'élongation des tiges et de stimuler la ramification augmentant ainsi leur compacité, et le nombre de fruits, de fleurs ou d'inflorescences portés par la plante (Andersen, 1979; Meijón et al., 2009; Rademacher, 2015).

En horticulture ornementale, la compacité est un critère de qualité recherché par les professionnels et les consommateurs (Boumaza et al., 2010; Crespel et al., 2018; Megersa et al., 2018). Outre l'aspect esthétique qu'elle accroît, la compacité des plantes permet également de réduire les surfaces de stockage des plantes ainsi que les coûts de transports lors de la commercialisation des produits (Bergstrand, 2017). Un avantage important de la réduction globale de la taille des plantes cultivées est aussi la diminution de leurs besoins en eau (Andersen, 1979; Shekoofa and Emam, 2008a). Toutes ces caractéristiques avantageuses font des retardateurs de croissance les principaux PGRs utilisés dans les différentes filières de production végétale dont l'horticulture (Grossmann, 1992).

De nombreuses études ont montré que les hormones végétales et les nanifiants jouent des rôles antagonistes et/ou redondants au cours du développement des plantes (Lee et al., 1998; Cerny-Koenig et al., 2005; Na et al., 2011; Sun et al., 2015). Ainsi, la caractérisation du mode d'action de ces composés a permis de les classer en deux sous-groupes ; les nanifiants libérant de l'éthylène et les nanifiants inhibiteurs de la voie de biosynthèse des gibbérellines (Rademacher, 2000). Le dernier groupe représente approximativement 40% du marché mondial des PGRs (Rademacher, 2017).

#### *1.3.1 Les composés libérant de l'éthylène*

L'éthylène (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>) est une hormone végétale gazeuse largement connue pour son implication dans les processus de maturation des fruits, d'abscission, de sénescence et de la mise en place des réponses induites par des stress biotiques et abiotiques (Davies, 2004; Gray, 2004; Lin et al., 2009). Ainsi, l'utilisation de composés libérant ou induisant la production d'éthylène est largement répandue en production végétale (Gianfagna, 1995; Rademacher, 2000).

Par exemple, l'acide 2-chloroéthylphosphonique ( $C_2H_6ClO_3P$ ), couramment désigné sous la dénomination d'éthéphon ou d'éthrel, se décompose en éthylène inhibant l'élongation cellulaire des entre-nœuds de tiges (Rajala et al., 2002; Głąb et al., 2021; Miller et al., 2022). En grande culture, l'éthéphon est utilisé pour réduire l'élongation et stimuler l'épaississement des tiges des plantes afin de limiter les risques de verse (Dahnous et al., 1982; Shekoofa and Emam, 2008b; Shekoofa and Emam, 2008a). En horticulture ornementale, l'éthrel est utilisé pour réduire l'élongation des tiges par exemple chez l'hortensia. Chez le rosier, il est utilisé pour stimuler la ramification (Latché et al., 1995; Cochran and Fulcher, 2013).

L'éthéphon est un composé qui est transporté dans les plantes à travers les vaisseaux conducteurs de xylème et qui mène à la libération d'éthylène, de phosphate et de chlorure (Abeles et al., 2012; Miller et al., 2022). Le mode d'action de l'éthéphon n'est pas encore très clair mais les travaux de Sun et al., (2015) ont montré chez *Ipomoea cairica* que l'éthéphon induisait l'accumulation d'acide abscissique (ABA) et d'ACC synthase (1-Aminocyclopropane-1-carboxylate synthase), une enzyme clé de la voie de biosynthèse de l'éthylène (Sun et al., 2015). D'autres études ont également montré que l'application d'éthrel chez le haricot induisait une production d'ABA et une forte accumulation d'auxine inhibant avec l'éthylène l'élongation des entre-nœuds (Erner and Jaffe, 1983).

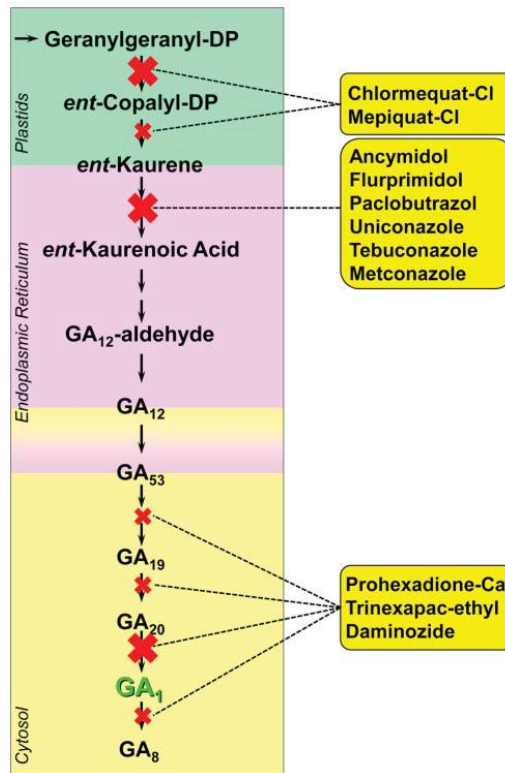
### 1.3.2 Les inhibiteurs de la voie de biosynthèse des gibbérellines

Les gibbérellines (GAs) sont des hormones principalement impliquées dans les processus d'élongation et de division cellulaires au cours de la croissance des plantes, et contrôlent également la germination des graines et la durée de floraison des plantes (Davies, 2004; Yamaguchi, 2008). La caractérisation du mode d'action des nanifiants inhibant la synthèse des GAs a montré que la plupart d'entre eux interviennent au cours des étapes précoces et tardives de la voie de biosynthèse des GAs (**Figure 1**) (Rademacher, 2015; Rademacher, 2017).

Le chlorure de chlorméquat, ou chlorure de chlorocholine (CCC), et le chlorure de mépiquat interviennent très en amont de la voie de biosynthèse des GAs en inhibant l'action des cyclases qui mènent à la formation du *ent*-kaurène. Les substances composées d'un hétérocycle contenant de l'azote telles que le paclobutrazol et l'unicolazole, sont des inhibiteurs des monooxygénases du cytochrome P450 qui catalysent les étapes oxydatives

du *ent*-kaurène en acide *ent*-kaurénoïque (**Figure 1**). Le daminozide et le prohexadione-calcium sont des composés lipidiques ayant une structure chimique similaire à celles de l'acide alpha-cétoglutarique, un co-substrat nécessaire à l'activité des dioxygénases (Rademacher, 2015). Ainsi, ils agissent à l'étape finale de la voie de biosynthèse des GAs en inactivant les 3 $\beta$ -hydroxylases, une classe d'enzymes qui appartient à la famille des GA3-dioxygénases et qui permet la synthèse de GAs sous forme active (Brown et al., 1997; Rademacher, 2000).

Les inhibiteurs de GAs tels que le CCC, l'unicolazole, le paclobutrazol ou le daminozide, constituent les nanifiants les plus utilisés en production car ils permettent de contrôler la croissance en hauteur d'un grand nombre d'espèces (Roberts and Hooley, 1988; Gibson and Whipker, 2001; Latimer and Whipker, 2013; Rademacher, 2015). Par exemple, chez *Zinnia elegans* l'application de CCC, de paclobutrazol ou de daminozide réduit significativement la hauteur des plantes ainsi que la longueur des branches latérales (Pinto et al., 2005). Chez le blé, le CCC diminue la hauteur des plantes limitant ainsi les risques de verse (Shekoofa and Emam, 2008b). L'application seul ou d'un mélange de daminozide et de CCC inhibe l'élongation des tiges chez *Odontonema callistachyum* (Rezazadeh and Harkess, 2015). Dans la culture de l'hortensia, l'utilisation du daminozide permet d'améliorer la qualité visuelle des plantes les rendant plus compactes et plus ramifiées (Dilta et al., 2015).



**Figure 1.** Principales cibles des nanifiants chimiques ciblant la synthèse des gibbérellines (GA) (Rademacher, 2017). Les croix rouges correspondent aux enzymes dont l'action est inhibée par les nanifiants chimiques (encadrés jaunes). La GA<sub>1</sub> (en vert) correspond à une GA bioactive.

#### 1.4 Les effets négatifs des régulateurs de croissance chimiques

Les régulateurs de croissance chimiques, tels que les nanifiants, facilitent la production de plantes répondant aux exigences des producteurs et du marché (Lurie, 2010; Bergstrand, 2017). Cependant, leurs utilisations ont de lourdes conséquences économiques et environnementales (McMichael et al., 2007; Mazoyer, 2008; Bergstrand, 2017). L'utilisation de ces produits engendre un surcoût non négligeable pour les producteurs, en particulier pour ceux qui ont de petites exploitations. Ces surcoûts englobent non seulement l'achat des produits eux-mêmes, mais également l'acquisition d'équipements nécessaires à leur application et le temps d'application par le personnel. De plus, les producteurs doivent se conformer à des réglementations rigoureuses concernant l'utilisation des régulateurs de croissance chimiques, ce qui peut engendrer des contraintes administratives et des frais de mise en conformité.

D'un point de vue environnemental, plusieurs études ont montré que certains retardateurs de croissance tel que le chlormequat chloride avaient un effet délétère sur la reproduction de plusieurs espèces de mammifères (Hjollund, 2004; Sorensen and Danielsen, 2006). Par ailleurs, l'utilisation de nanifiants chimiques peut engendrer la pollution de l'eau, la contamination des sols, et la diminution de la biodiversité. Face à ces dangers et à la pression sociétale pour les bannir, plusieurs plans d'action à l'échelle mondiale, européenne ou nationale ont été mis en place par les autorités afin de promouvoir une agriculture plus durable et moins dépendante de l'industrie phytopharmaceutique (Wezel et al., 2018b; Ulian et al., 2020). Ainsi, certains produits chimiques tel que le daminozide, un inhibiteur de la voie des GAs cité précédemment, ont été interdits dans les cultures maraîchères aux USA dès 1989 (Sparke and Wünsche, 2020). La France a lancé depuis 2009 plusieurs plans Ecophyto successifs qui ont pour objectif une diminution de 50% de l'usage des produits phytopharmaceutiques dans les productions végétales d'ici 2025 (Guichard et al., 2017).

En raison de ces préoccupations environnementales, un intérêt croissant s'est développé pour la recherche de méthodes alternatives aux retardateurs de croissance chimiques en vue de promouvoir une agriculture plus durable et d'optimiser les pratiques agricoles. L'exploration et le développement de ces alternatives conduit aussi à une compréhension plus approfondie de la croissance et du développement des plantes, ainsi que du rôle des hormones dans ces processus.

## 1.5 Rôles des hormones végétales dans la croissance et le développement des tiges

L'exploration des rôles des hormones végétales dans la croissance et le développement des tiges est essentielle pour la compréhension des mécanismes biologiques qui sous-tendent la compacité des plantes et la recherche de méthodes alternatives aux nanifiants chimiques. Au sein de la plante, la tige assume des fonctions essentielles, notamment le transport des photosynthétats et des éléments minéraux par le biais des tissus conducteurs de sèves. Elle joue également un rôle crucial dans le maintien de la structure des parties aériennes de la plante, assurant ainsi une disposition optimale des feuilles pour l'absorption de la lumière. De plus, elle sert de lieu de stockage pour les réserves (Gartner, 1995; Givnish, 1995). Les tiges jouent aussi un rôle crucial en tant qu'intégrateurs des signaux de l'environnement. En effet, à travers des mécanismes de régulation hormonale, les plantes ajustent la croissance et l'orientation de leurs tiges en réponse à divers stimuli, tels que la lumière (phototropisme) et la gravité (gravitropisme) (Gartner, 1995). Par conséquent, la régulation de la croissance et du développement des tiges médiée par les hormones végétales apparaît fondamentale pour assurer la vigueur et la survie des plantes dans un environnement fluctuant. Les sections suivantes se consacrent à l'exploration des interactions complexes entre les hormones végétales et leurs influences sur la croissance des tiges végétales.

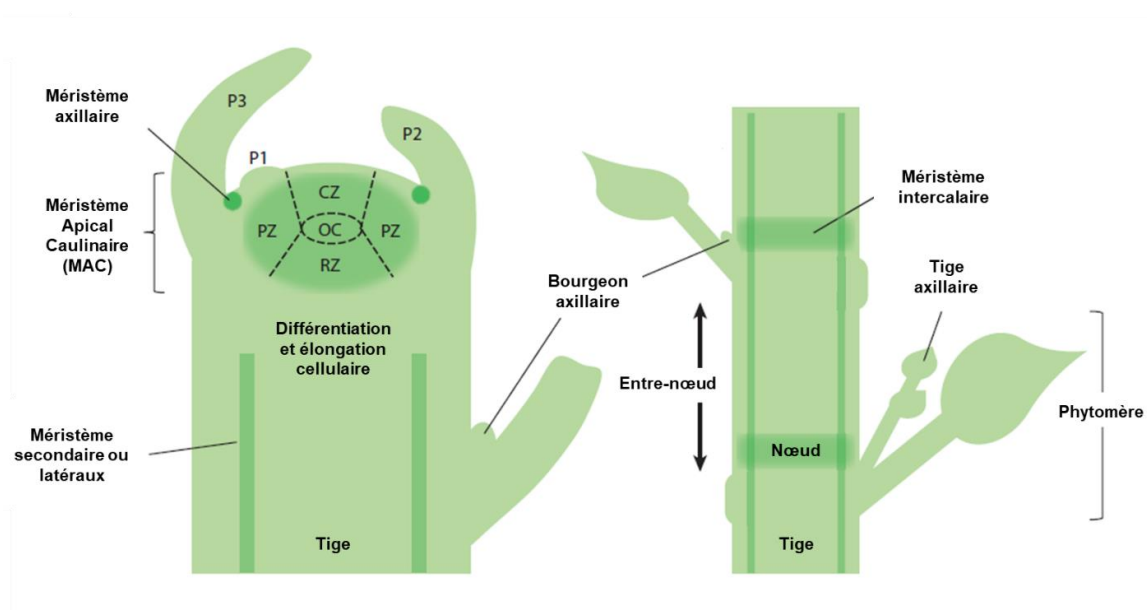
### 1.5.1 *La tige : organe clé de l'architecture des plantes*

#### 1.5.1.1 **La croissance en longueur des tiges**

L'elongation de la tige que l'on appelle aussi croissance primaire découle de l'activité du méristème apical caulinaire (MAC) qui est une zone de croissance et de différenciation des nouveaux phytomères située à l'apex de la tige et composée de cellules indifférenciées (Wang et al., 2018). Le MAC est constitué de plusieurs zones distinctes dont la **zone centrale** (CZ) qui contient les cellules souches du MAC, la **zone périphérique** ou initiale (PZ ou Zi) où sont formés les primordia de phytomères et la **zone médullaire** (rib zone ; RZ) qui produit spécifiquement la partie interne de la tige (**Figure 2**) (Vernoux et al., 2010; Wang et al., 2018). Le **centre organisateur** (OZ) du MAC régule la prolifération cellulaire de la CZ et la différenciation des cellules de la PZ (Wang et al., 2018). Ainsi, l'activité organogénétique du MAC permet l'émergence d'unités répétitives appelées phytomères qui sont composés d'un nœud, d'un entre-nœud et d'une feuille et dont la succession constitue

la tige (**Figure 2**) (Wang et al., 2018). Le MAC permet également la production de bourgeons axillaires à l'aisselle de chaque feuille (Vernoux et al., 2010). En débourrant, ces bourgeons produiront des axes secondaires, puis tertiaires formant l'architecture de la plante (Rameau et al., 2015; Teichmann and Muhr, 2015a; Roman et al., 2016).

Au cours de l'allongement des tiges, le procambium, dont les cellules se différencient au niveau des ébauches et des sous-basements foliaires, donne naissance aux tissus conducteurs primaires (I) des entre-nœuds de tiges et des feuilles. Le **phloème I** permet le transport de la sève élaborée des parties aériennes vers les autres parties de la plante, et est principalement composée de sucres (saccharose le plus généralement) mais aussi d'acides aminés, de protéines, d'hormones, d'ARN messagers. Ce tissu formé de cellules aux parois cellulosesiques est composé de tubes criblés associés à des cellules compagnes, de parenchyme phloémien et éventuellement de fibres. Le **xylème I** permet lui le transport de la sève brute des racines vers les parties aériennes de la plante et contient de l'eau, des minéraux, mais parfois aussi des sucres, et des hormones. Les éléments conducteurs (trachéides ou éléments de vaisseaux) sont formés de cellules aux parois lignifiées. Dans les tiges, ces tissus conducteurs I forment les faisceaux cribro-vasculaires (**Figure 3**).

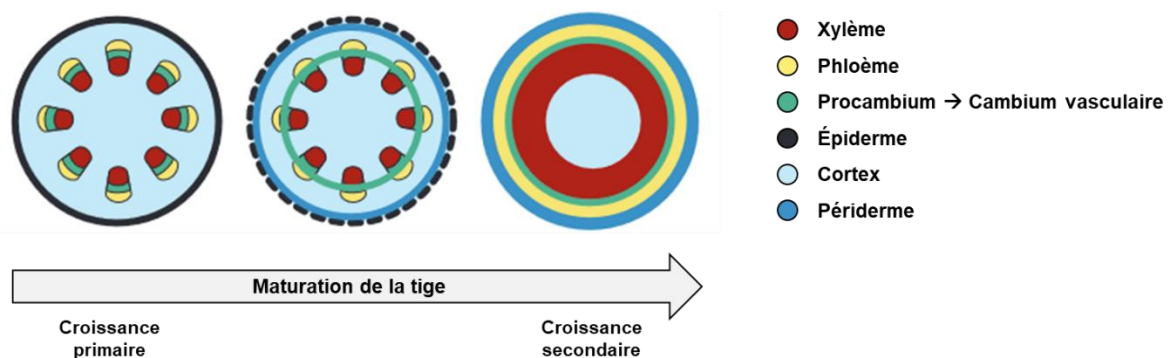


**Figure 2.** Organisation et développement de la tige à partir du méristème apical caulinaire (MAC) (D'après Wang et al., 2018). Les primordia foliaires correspondent à P1, P2 et P3. Le MAC est segmenté en plusieurs zones distinctes comprenant la zone centrale (CZ), la zone périphérique (PZ), le centre organisateur (OC) et la zone médullaire (RZ : rib zone).



### 1.5.1.2 La croissance en épaisseur des tiges

La croissance en épaisseur ou la croissance secondaire est un processus essentiel qui prédomine principalement chez les plantes ligneuses, telles que les gymnospermes et les angiospermes dicotylédones, mais peut également intervenir de manière plus limitée chez certaines plantes herbacées. Chez l'arabette (*Arabidopsis thaliana*) la croissance secondaire semble au moins en partie être contrôlée par des processus similaires à ceux rencontrés chez les plantes ligneuses offrant ainsi un modèle d'étude plus simple pour les analyses moléculaires (Miyashima et al., 2012; Wang et al., 2018). La croissance secondaire correspond à l'augmentation, par des divisions et élongations cellulaires successives du diamètre des tiges et des racines des plantes. Ce processus intervient plus tardivement au cours du développement des végétaux (d'où le nom de croissance secondaire) et résulte de l'activité des méristèmes secondaires (II) ou latéraux, notamment le cambium et le phellogène (Wang et al., 2018; Serra et al., 2022). Le cambium ou zone génératrice libéro-ligneuse est responsable de la formation du **xylème II** (ou bois) vers l'intérieur de la tige. Le cambium permet également la formation du **phloème II** (ou liber) vers l'extérieur de la tige (Elo et al., 2009). Le cambium dérive du procambium au sein des faisceaux libéro-ligneux et de parenchyme inter-fasciculaire (**Figure 3**) (Miyashima et al., 2012). Le phellogène ou suber est composé de cellules subérifiées et du phelloderme composé de cellules aux parois cellulósiques. L'ensemble de ces deux tissus forment le périderme et assure un rôle protecteur en remplaçant l'épiderme de la jeune tige (Serra et al., 2022).

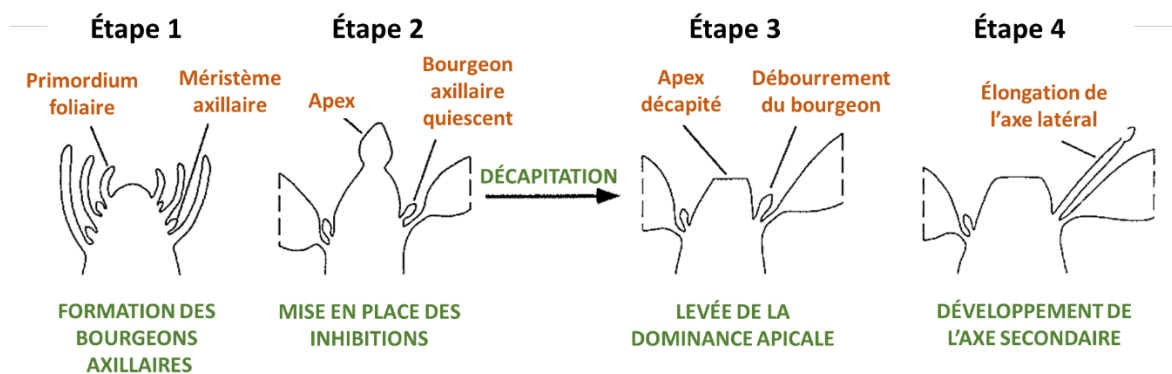


**Figure 3.** Organisation et développement des principaux tissus de la tige au cours des croissances primaire et secondaire des plantes (D'après Serra et al., 2022).

### 1.5.1.3 La formation de nouvelles tiges

Comme mentionné précédemment, l'activité du MAC est essentielle pour stimuler la formation de bourgeons axillaires, qui, lorsqu'ils se développent, donnent naissance à de nouvelles tiges. Cependant, la régulation du débourrement des bourgeons est un processus complexe qui dépend d'une régulation spatio-temporelle soigneusement orchestrée le long de la tige principale de la plante (Rameau et al., 2015; Barbier et al., 2019). La régulation du débourrement est influencée par divers facteurs, notamment la lumière, les phytohormones, telles que l'AUX, les CKs et les SLs (cf. 1.5.12), et même par des mécanismes de compétition entre les bourgeons axillaires adjacents.

D'après les travaux de Cline (1997), le débourrement des bourgeons axillaires peut être décrit en quatre étapes successives (**Figure 4**). Les deux premières étapes sont caractérisées par la formation des bourgeons axillaires, suivie de l'inhibition de leur croissance, déclenchée par des processus de dormance. Durant cette période, la croissance des bourgeons est considérablement réduite, voire absente, indépendamment de leur activité métabolique (Barbier et al., 2019). La décapitation du bourgeon apical de la tige principale est une stratégie permettant d'induire la croissance des bourgeons axillaires, ce qui conduit au développement de nouveaux axes de ramification (**Figure 4**). Dans le règne végétal, deux types de bourgeons sont distingués : les bourgeons sylleptiques, qui, après avoir rompu leur période de dormance, donnent directement naissance à un nouvel axe de croissance, et les bourgeons proleptiques, qui demeurent en dormance, ne se développant pas immédiatement.



**Figure 4.** Les grandes étapes du processus de débourrement d'un bourgeon dans un contexte de dominance apicale (D'après Cline, 1997).

L'inhibition du débourrement des bourgeons axillaires due à la dominance apicale correspond à un type de dormance appelé paradormance (Beveridge et al., 2023). Cette forme de dormance est imposée par les organes environnants en croissance, qui influencent la croissance des bourgeons axillaires (Barbier et al., 2019; Yang et al., 2021). Un autre type de dormance, l'endodormance, est caractérisé par un état de dormance profond (Barbier et al., 2019). Il est contrôlé par des mécanismes internes aux bourgeons eux-mêmes et n'est levé qu'après que les bourgeons aient accumulé une certaine quantité de froid, un processus connu sous le nom de stratification froide (Lang et al., 1987; Fu et al., 2014). Enfin, l'écodormance est un type de dormance imposé aux bourgeons en réponse à des conditions environnementales défavorables (Yang et al., 2021).

#### **1.5.1.4 Les parois cellulaires des tiges**

Toutes les cellules végétales sont composées d'une paroi I et, dans certains cas, d'une paroi II. La paroi I est la paroi initiale de la jeune cellule et qui entoure la membrane plasmique de la cellule. Elle est principalement composée de cellulose (15-40%), d'hémicelluloses (20-30%) et de pectines (30-50%), ainsi qu'en moindre proportion, de protéines pariétales (**Table II**) (Cosgrove, 2005; Cosgrove and Jarvis, 2012). La paroi I est de ce fait extensible et flexible, ce qui permet à la cellule de s'allonger pendant la croissance.

Une paroi II est parfois synthétisée par la cellule contre la paroi I (Cosgrove, 2018a). Elle peut être aussi de nature cellulosique conférant ainsi un soutien plus fort tout en gardant une certaine souplesse de l'organe ; c'est le cas du collenchyme. Dans d'autres cas, de la lignine est déposée dans la paroi II (Kumar et al., 2016). La paroi perd alors sa perméabilité et son extensibilité. Elle devient plus rigide, conférant ainsi une résistance supplémentaire à la cellule face, par exemple, aux contraintes de compression (**Table II**) (Cosgrove and Jarvis, 2012; Cosgrove, 2018a). La paroi II est souvent associée aux cellules spécialisées, telles que les cellules du sclérenchyme et des éléments conducteurs du xylème (Cosgrove, 2018a; Meents et al., 2018).

Les parois cellulaires végétales remplissent une multitude de fonctions dans la tige. Les parois cellulosiques accompagnent la croissance de la tige grâce à un relâchement temporaire et réversible des fibres cellulosiques (Passardi et al., 2004). Ce mécanisme subtil permet l'expansion des cellules sans risquer leur rupture. De plus, les parois cellulosiques grâce à leur perméabilité permettent la circulation intercellulaire de l'eau et de nutriments

(voie apoplastique) indispensable à l’approvisionnement des cellules en métabolites et au maintien de la pression de turgescence qui accompagne la croissance cellulaire (Höfte and Voxeur, 2017; Zhong et al., 2019). Ces parois apportent un soutien mécanique essentiel pour soutenir son propre poids, ainsi que celui des feuilles, fleurs et fruits qu’elle porte (Höfte and Voxeur, 2017). Enfin, il convient de noter que les parois cellulaires, par leur épaisseur et leur rigidité, offrent une protection physique contre un spectre varié de contraintes biotiques et abiotiques (Malinovsky et al., 2014). Ainsi, toutes les cellules végétales sont composées d’une paroi primaire et, dans certains cas, d’une paroi secondaire.

**Table II.** Les principaux composants et acteurs moléculaires impliqués dans l'assemblage et la modification des parois primaire (I) et secondaire (II) des cellules végétales (Passardi, 2004; Cosgrove, 2005; Zhong and Ye, 2015; Cosgrove, 2018; Meents et al., 2018; Zhong et al., 2019).

Composants		Principales caractéristiques	Principaux acteurs moléculaires (gènes)
Polysaccharides pariétaux	<b>Cellulose</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Polysaccharide homogène sous forme de microfibrilles composées de chaînes linéaires de glucose</li> <li>- Réseau de microfibrilles enchevêtrée qui confère rigidité et résistance à la paroi</li> <li>- Localisée dans la paroi I et II</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Cellulose synthase (CESA)</i></li> <li>- Endoglucanases: <i>korrigan (KOR)</i></li> <li>- <i>CESA-Like (CSL)</i></li> <li>- <i>Companion of CESA (CC)</i></li> </ul>
	<b>Hémicelluloses</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Principaux polysaccharides hétérogènes :               <ul style="list-style-type: none"> <li>- xyloglucanes, arabinoxylanes principalement localisées dans la paroi I</li> <li>- xylanes, mannanes principalement localisées dans la paroi II</li> <li>- <math>\beta</math>-glucanes</li> </ul> </li> <li>- Entourent les microfibrilles de cellulose et contribuent à l'ancrage et à la cohésion de la paroi en liant les différents composants</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Xyloglucan endotransglycosylases (XET)</i></li> <li>- <i>Irregular xylem (IRX)</i></li> <li>- Spécifiques <i>CSL</i></li> <li>- <i>Glycosyltransferases (GT)</i></li> </ul>
	<b>Pectines</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Principaux polysaccharides homo- et hétérogènes : homogalacturonanes, rhamnogalacturan I, rhamnogalacturonan-II</li> <li>- Jouent le rôle de ciment pour lier les cellules entre elles</li> <li>- Impliquées dans la régulation de la perméabilité de la paroi</li> <li>- Localisées dans la paroi I</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Pectin methylesterases (PME)</i></li> <li>- <i>Polygalacturonases (PG)</i></li> <li>- <i>Pectate lyases (PL)</i></li> <li>- <i>Pectinases (PE)</i></li> </ul>

**Table II.** Les principaux composants et acteurs moléculaires impliqués dans l'assemblage et la modification des parois primaire (I) et secondaire (II) des cellules végétales (*suite*) (Passardi, 2004; Cosgrove, 2005; Cabane, 2012; Zhong and Ye, 2015; Cosgrove, 2018; Meents et al., 2018; Zhong et al., 2019).

Composants		Principales caractéristiques	Principaux acteurs moléculaires (gènes)
Protéines pariétales	Protéines structurales	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Composées de 3 classes principales :               <ul style="list-style-type: none"> <li>- extensines</li> <li>- protéines riches en glycine (GRPs)</li> <li>- hydroxyproline/protéines riches en proline (H/PRPs) : arabinogalactanes-protéines (AGPs)</li> </ul> </li> <li>- Rôle dans la régulation de l'extensibilité de la paroi, dans la signalisation cellulaire et la défense contre les stress biotiques et abiotiques</li> <li>- Localisées dans la paroi I et II</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Extensins (EXT)</i></li> <li>- <i>Fasciclin-like AGPs (FLA)</i></li> </ul>
	Protéines non structurales	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Composées de plusieurs familles :               <ul style="list-style-type: none"> <li>- <math>\alpha</math>- et <math>\beta</math>-expansines, hydrolases (cellulases, xylanases), transférases, lyases, oxydo-réductases</li> </ul> </li> <li>- Protéines impliquées dans la modification pariétale des parois I et II et dans la régulation de l'élongation cellulaire</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <math>\alpha</math>-<i>EXP</i>, <math>\beta</math>-<i>EXP</i>, <i>XET/XTH</i></li> <li>- <i>Pectin methylesterases (PME)</i></li> <li>- <i>Polygalacturonases (PLG)</i></li> <li>- <i>Peroxidases (POX)</i></li> <li>- <i>Laccases (LAC)</i></li> </ul>
Lignines		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Composées de 3 principaux monolignols :               <ul style="list-style-type: none"> <li>- alcool paracoumarylique, appelé unité H (hydroxyphényle)</li> <li>- alcool coniférylique, appelé unité G (guaïacyle)</li> <li>- alcool sinapylique, appelé unité S (syringyle)</li> </ul> </li> <li>- Confèrent une rigidité supplémentaire à la paroi cellulaire II en formant une matrice avec les hémicelluloses</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Phenylalanine ammonia-lyase (PAL)</i></li> <li>- <i>Cinnamyl alcool deshydrogenase (CAD)</i></li> </ul>

### **1.5.1.5 Les principaux acteurs moléculaires impliqués dans l'expansion cellulaire**

Le relâchement et l'extensibilité pariétal qui accompagnent la croissance des tiges sont des processus dynamiques finement régulés par une combinaison complexe d'enzymes, de polysaccharides et de protéines pariétales (**Table II**).

La synthèse de la paroi cellulaire commence par la production des polysaccharides de base qui la composent, notamment la cellulose, les hémicelluloses et les pectines. La cellulose est synthétisée par des complexes enzymatiques appelés cellulose synthases (*CESA*) dans la membrane plasmique, tandis que les hémicelluloses et les pectines sont produites par des enzymes spécifiques dans l'appareil de Golgi (**Table II**) (Cosgrove, 2005; Meents et al., 2018). Une fois synthétisés, ces polysaccharides sont transportés et sécrétés à la surface des parois cellulaires par le biais de vésicules de transport (Cosgrove, 2005). En parallèle, l'élongation cellulaire engendre une augmentation irréversible du volume cellulaire, principalement grâce à l'apport d'eau, ce qui entraîne une augmentation de la pression turgescence. Ce mécanisme de pression turgescence induit le relâchement de la paroi cellulaire et permet aux polysaccharides de s'intégrer plus aisément dans la paroi cellulaire (Cosgrove, 2005; Zhong et al., 2019). Plusieurs mécanismes enzymatiques sont impliqués dans ce relâchement, notamment les xyloglucanes endotransglycosylases (XET), qui clivent et réassemblent les polymères de xyloglucanes, contribuant ainsi à la modification de la paroi cellulaire (Cosgrove, 2001; Passardi et al., 2004; Cosgrove and Jarvis, 2012). Les expansines (EXP) sont également essentielles dans ce processus, car elles altèrent les liaisons hydrogène entre la cellulose et les xyloglucanes, favorisant ainsi l'assouplissement pariétal. Dans certaines parois secondaires, la lignine peut être déposée pour accroître davantage la rigidité cellulaire (Cabane et al., 2012; Cosgrove, 2018a). L'ensemble de ces processus est étroitement régulé par les hormones végétales (Didi et al., 2015; Gupta et al., 2017). Dans les sections suivantes, nous explorerons en détail l'influence des phytohormones sur la régulation des processus de croissance des tiges.

### **1.5.1.6 Les principaux acteurs moléculaires impliqués dans la division cellulaire**

La croissance et le développement des tiges dépendent de l'interaction coordonnée entre le cycle cellulaire mitotique et l'expansion cellulaire. Le cycle cellulaire des plantes se divise en quatre phases distinctes : la phase de synthèse de l'ADN (S), la phase de mitose

(M), la phase post-mitotique (G1), et la phase pré-mitotique (G2) (Sablowski and Gutierrez, 2022).

La progression et la régulation du cycle cellulaire sont orchestrées par les cyclines (CYC), qui agissent comme sous-unités régulatrices, et les kinases dépendantes des cyclines (CDK), qui constituent la sous-unité catalytique du complexe CDK-cycline (Shimotohno et al., 2021; Sablowski and Gutierrez, 2022). Pour que les cellules puissent entrer dans le cycle cellulaire et progresser, il est nécessaire que la sous-unité régulatrice se lie aux CDK, favorisant ainsi ces processus.

Chez *Arabidopsis thaliana*, on a identifié huit classes de CDK, allant de CDK-A à CDK-G, ainsi que les CKL (CDK-Like) (Shimotohno et al., 2021). Les classes A et B jouent un rôle central dans la régulation du cycle cellulaire (Vandepoele et al., 2002). De plus, on compte plus d'une cinquantaine de gènes codant différents types de cyclines, réparties dans les groupes A, B, C, D, H, L, T, U, SDS, et CYCJ18 (Shimotohno et al., 2021). Les cyclines de type D sont responsables de la régulation de la transition de la phase G1 vers la phase S, tandis que les cyclines de type A contrôlent la progression de la phase S vers la phase M, et les cyclines de type B jouent un rôle dans la régulation de la transition de la phase G2 vers la phase M (Qi and Zhang, 2020).

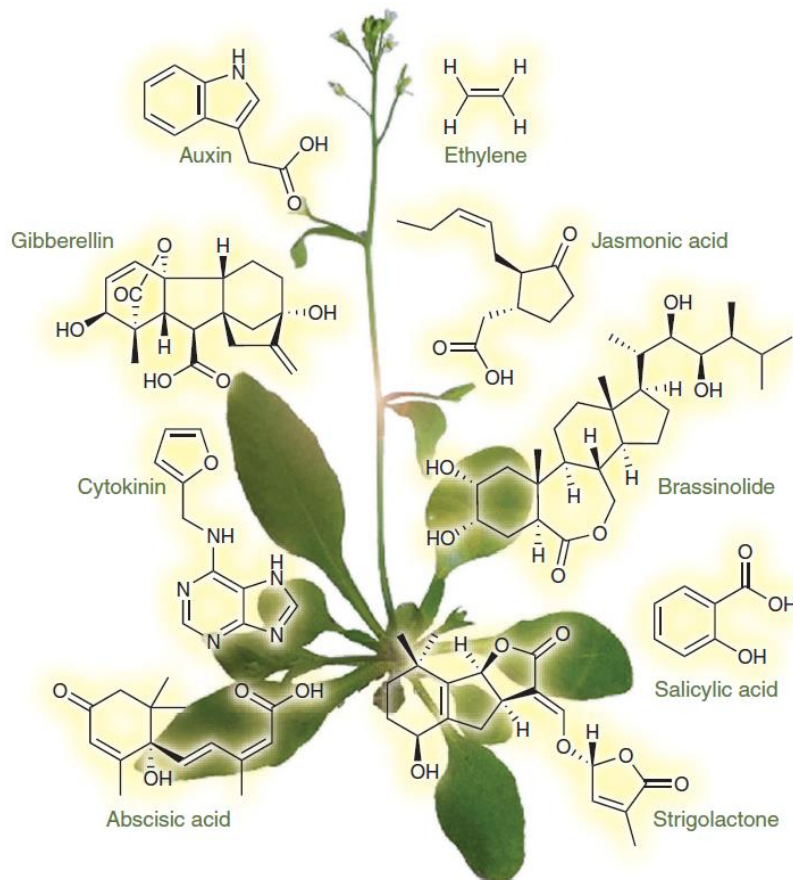
Certaines cyclines et CDK jouent également un rôle important dans la régulation du méristème et le développement des tiges (Carneiro et al., 2021). Par exemple, chez *Populus trichocarpa*, la surexpression de *PtoCYCD3;3* a conduit à l'augmentation de l'élongation des tiges et à l'accroissement de leur diamètre, ainsi qu'à une stimulation de la ramification des tiges (Guan et al., 2021). Récemment, les travaux de Zheng et al. (2023) ont montré chez le peuplier hybride (*Populus simonii* × *P. nigra*) que l'expression de *PsnCYCD1;1* accélérât le processus de division cellulaire et participait à la croissance secondaire des faisceaux vasculaires. Dans le cas du mutant *cdkg;2* chez *Arabidopsis thaliana*, les auteurs ont observé un retard dans la régénération des pousses par rapport à la plante de type sauvage, entraînant un phénotype de nanisme (Żabicki et al., 2013).



### 1.5.2 Rôles des hormones végétales dans la croissance des tiges

Les plantes possèdent 9 grandes familles d'hormones : les auxines (AUX), les gibbérellines (GAs), les brassinostéroïdes (BRs), l'acide abscissique (ABA), les cytokinines (CKs), l'acide jasmonique ou jasmonate (JA), l'acide salicylique ou salicylate (SA), les strigolactones (SLs) et l'éthylène (Figure 4) (Santner et al., 2009). Ces hormones occupent une position centrale dans la régulation complexe des processus de croissance et de développement des plantes mais ont toutefois des rôles bien distincts (Bari and Jones, 2009; Santner et al., 2009; Ali et al., 2020).

L'équilibre délicat qui régit les interactions entre les différentes hormones végétales revêt une importance fondamentale pour assurer la croissance harmonieuse des plantes d'ornement. Les sections suivantes de ce chapitre sont consacrées à la présentation des voies métaboliques des neuf familles hormonales et à l'exploration du rôle joué par les hormones dans la régulation de l'élongation et la croissance radiale des tiges, les deux processus de croissance étudiés dans cette thèse.



**Figure 4.** Les 9 familles hormonales impliquées dans la croissance et le développement des plantes (Santner et al., 2009).

### 1.5.3 L'auxine

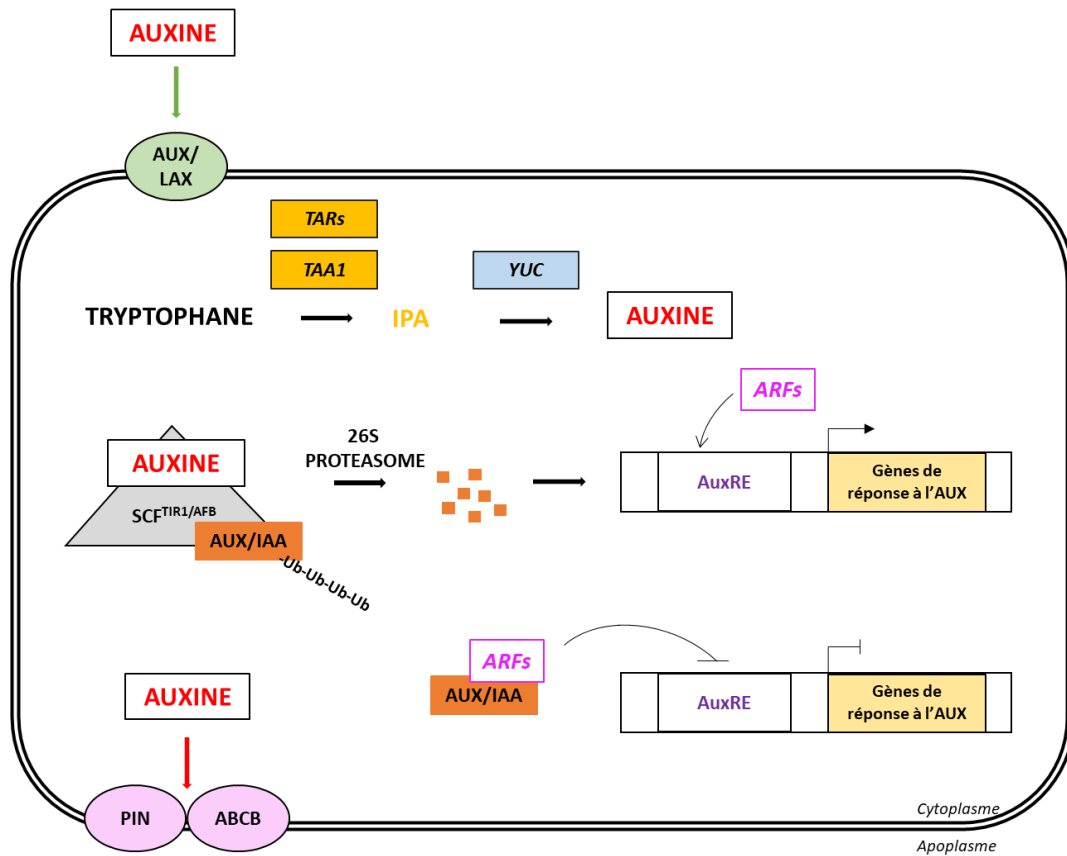
#### 1.5.3.1 Métabolisme et signalisation auxinique

Chez les plantes, l'AUX est majoritairement présente sous la forme d'acide indol-3-acétique (IAA). Il existe plusieurs voies métaboliques menant à la synthèse de l'IAA dont les précurseurs sont dérivés de la voie du Shikimate ; voie métabolique conduisant à la synthèse de certains acides aminés aromatiques (Herrmann and Weaver, 1999). À partir du L-Tryptophane (L-Trp), quatre voies de biosynthèse de l'IAA ont été identifiées ; la voie de la tryptamine, la voie du 3-indole acetamide (IAM), la voie du 3-indole acetaldoxime (IAOx) et la voie de l'acide 3-indole pyruvique (IPyA) qui est la principale (**Figure 5**) (Cao et al., 2019). Chez *Arabidopsis thaliana*, le L-Trp est catalysé en indole-3-pyruvate (IPA) par des enzymes appartenant à la famille des Tryptophan Aminotransferase Of Arabidopsis 1 (TAA1) et des Tryptophan Aminotransferase-Related (TARs). L'IPA est à son tour converti en IAA à partir des enzymes de la famille des flavines monooxygénases Yucca (YUC) (Casanova-Sáez et al., 2021).

Une fois synthétisé, l'IAA peut être inactivé/dégradé par divers mécanismes conduisant à la formation de métabolites ou de molécules conjuguées. La conjugaison de l'IAA peut se faire avec des acides aminés, des peptides et des glucides qui mène à la synthèse de formes biologiquement inactives qui ont un rôle de stockage et de maintien de l'homéostasie hormonale (Cao et al., 2019). Chez les plantes vasculaires et non-vasculaires, la famille des gènes d' amino synthases *GH3* (*Gretchen Hagen 3*) sont d'importants acteurs moléculaires contrôlant la concentration d'AUX à travers les tissus de la plante (Casanova-Sáez et al., 2021). À l'inverse, les gènes impliqués dans la dégradation de l'AUX ne sont pas encore identifiés. Toutefois, les produits de dégradation ont été caractérisés et sont majoritairement présents sous la forme d'acide 2-oxoindole-3acétique (oxIAA) et d'oxIAA-glucose (Novák et al., 2012).

Le transport de l'IAA peut s'effectuer de manière non-polaire, des régions apicales en provenance des organes « sources » vers les régions basales à destination des organes « puits », à travers les tubes criblés du phloème (Petrášek and Friml, 2009; Zhou and Luo, 2018; Cao et al., 2019). L'IAA peut également être transporté de manière polaire à partir d'un système de transports membranaires sophistiqué composé de transporteurs cellulaires d'influx, appartenant à la famille des Auxine Resistance 1/Like AUX1 (AUX/LAX), et

d'efflux appartenant aux groupes des ATP-Binding Cassette Subfamily B (ABCB) et des PIN-Formed (PIN) (Zhou and Luo, 2018).



**Figure 5.** Voie de biosynthèse et de signalisation de l’auxine. Abréviations : **TAA1** : Tryptophan Aminotransferase Of Arabidopsis 1, **TARs** : Tryptophan Aminotransferase-Related, **YUC** : Yucca, **AUX/IAA** : Auxin/Indole-3-Acetic Acid, **Ub** : ubiquitine, **TIR1/AFB** : Transport Inhibitor Response 1/Auxin Signaling F-Box Protein, **SCF** : Skp1/Cullin/F-box, **AUX/LAX** : Auxine Resistance 1/Like AUX 1, **ABCB** : ATP-Binding Cassette Subfamily B, **PIN** : PIN-Formed, **ARFs** : Auxin Response Factors, **AuxRE** : éléments de réponse à l’auxine.

La voie de signalisation de l'auxine fait intervenir plusieurs acteurs dont les principaux sont les co-récepteurs de l'auxine F-box Transport Inhibitor Response 1/Auxin Signaling F-Box Protein (TIR1/AFB), les répresseurs transcriptionnels Auxin/Indole-3-Acetic Acid (AUX/IAA) et les facteurs de transcriptions Auxin Response Factor (ARF) (**Figure 5**) (Lavy and Estelle, 2016). En absence d'auxine, les répresseurs AUX/IAA se lient aux ARFs et répriment leur activité (Kou et al., 2022). À l'inverse, la présence d'auxine permet l'interaction entre les récepteurs TIR1/AFB et les répresseurs AUX/IAA. À partir du complexe SCF<sup>TIR1/AFB</sup>, une E3 ubiquitine (Ub) ligase (Skp1/Cullin/F-box), les répresseurs AUX/IAA sont polyubiquitinylés et se retrouvent dégradés par le protéasome 26S (Mockaitis and Estelle, 2008; Kou et al., 2022). Cette dégradation entraîne l'activation des ARFs qui vont à leur tour se lier sur les éléments de réponse à l'auxine (AuxRE) dans la région promotrice des gènes de réponse à l'auxine pour ainsi réguler leur expression (Kou et al., 2022).

### 1.5.3.2 Le rôle de l'auxine dans la croissance des tiges

L'AUX joue un rôle majeur dans le contrôle de la division et de l'élongation cellulaire qui accompagnent la croissance des tiges (Teale et al., 2006). Certaines études ont mis en évidence l'accumulation d'AUX dans les zones de division cellulaire, telles que les méristèmes, où elle joue un rôle essentiel dans la promotion de la croissance et du développement des organes (Santner et al., 2009; Vernoux et al., 2010; Braybrook and Peaucelle, 2013). L'étude de mutants qui sur-expriment des gènes impliqués dans la synthèse et la signalisation de l'AUX, entraînant ainsi une déficience en AUX, a révélé une répression de gènes majeurs impliqués dans l'élongation cellulaire. Parmi ces gènes, on compte notamment les *expansines* (*EXP*), les *xyloglucan endotransglycosylases/hydrolases* (*XET/XTH*) et les *pectines méthylestérases* (*PME*) (Overvoorde et al., 2005). Il est également important de noter que chez *Oryza sativa* et *A. thaliana*, de tels mutants induisent un phénotype de nanisme ainsi que des malformations des organes (Sato and Yamamoto, 2008; Du et al., 2012; Li et al., 2018b). L'AUX est aussi impliquée dans la croissance radiale des tiges en stimulant l'activité du cambium vasculaire. L'AUX stimule la division cellulaire et la différenciation des cellules procambiales en éléments spécialisés du xylème tels que les vaisseaux et les fibres du xylème (Bishopp et al., 2011; Fàbregas et al., 2015).

L'AUX agit en modifiant la plasticité des parois cellulaires végétales qui sont principalement composées de cellulose, d'hémicellulose et de pectine (Catala et al., 1997; Cosgrove, 2001). En présence d'AUX, les pompes d'efflux H<sup>+</sup>-ATPase de la membrane plasmique sont stimulées ce qui diminue le pH de l'apoplasme et induit la production d'espèces réactives de l'oxygène (Reactive Oxygen Species ; ROS) tel que le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (Teale et al., 2006). Cette acidification du milieu induit l'activation de certaines enzymes telles que les EXP, les XET/XTH, les PME, les peroxydases (POX), les hydrolases, les β-glucosidases (β-GLU), les extensines (EXT) et les pectinases (PE) (Brownleader et al., 2000; Passardi et al., 2004; Cosgrove, 2005; Majda and Robert, 2018). Ces enzymes vont donc dégrader les liaisons entre les polysaccharides de la paroi cellulaire et vont permettre l'élongation des cellules par l'incorporation de nouveaux éléments pariétaux (Cosgrove, 2001).

Le relâchement pariétal induit par l'AUX module également l'activité de la membrane plasmique en favorisant l'absorption d'eau par les cellules. L'entrée d'eau dans les cellules crée une pression de turgescence qui est beaucoup plus importante dans les cellules en présence d'auxine (Cosgrove, 2001). Cette pression de turgescence sur les parois permet l'extension de la paroi et l'élongation cellulaire.

Enfin, l'AUX joue un rôle dans le phototropisme qui est une réponse adaptative des plantes leur permettant de croître vers la lumière (Whippo and Hangarter, 2006). En réponse à la lumière, l'AUX est redistribuée dans la tige ce qui provoque une croissance plus rapide des cellules du côté non éclairé de la tige, entraînant ainsi la courbure de la plante vers la source lumineuse (Ding et al., 2011).

L'AUX, en interaction avec les CKs et les SLs, ont également un rôle majeur dans les processus de débourrements des bourgeons axillaires (cf. **1.5.12**).

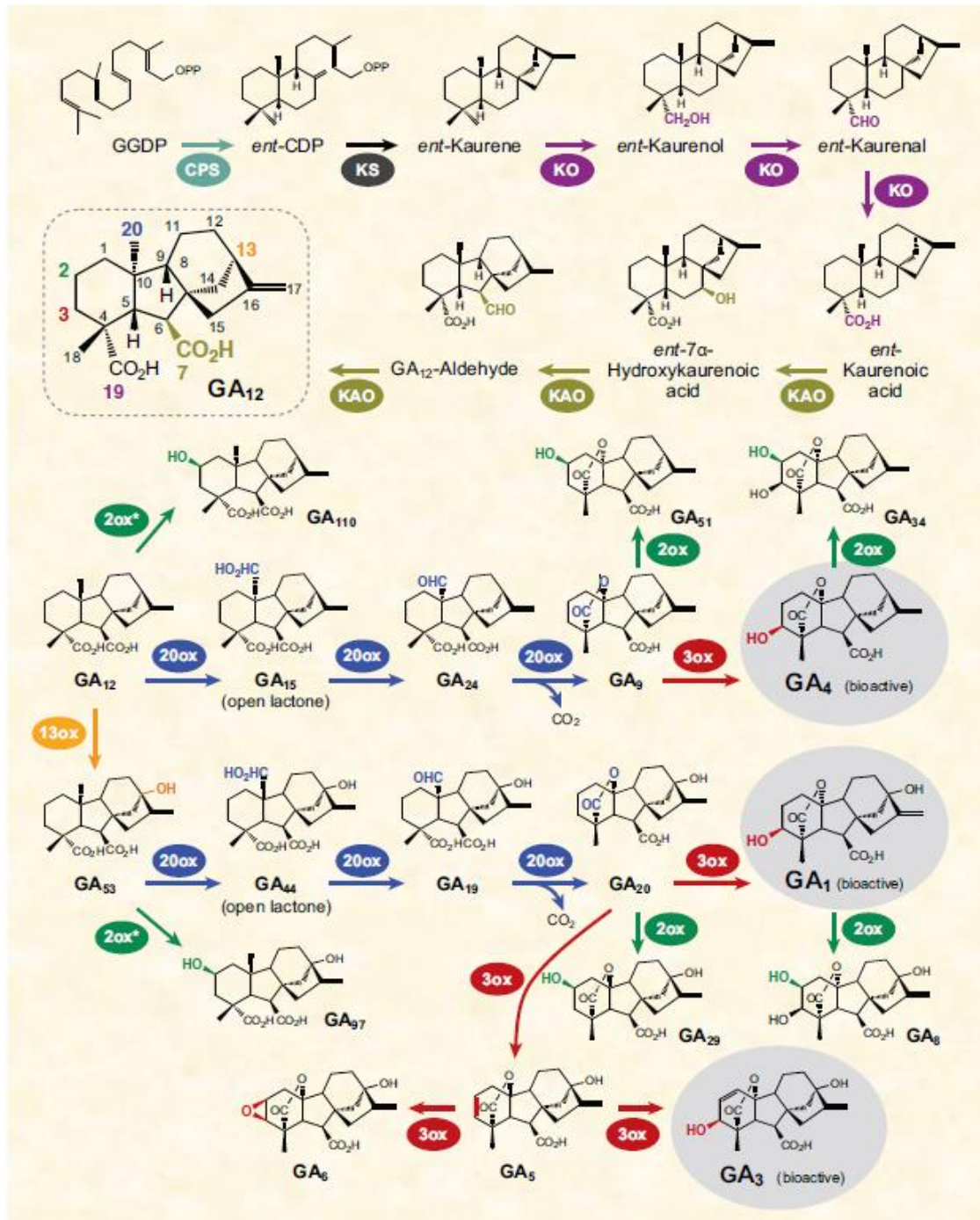
#### 1.5.4 Les gibbérellines

##### 1.5.4.1 Métabolisme et signalisation gibbérellique

Les GAs sont des hormones diterpéniques tétracycliques dont plus de 130 formes ont été caractérisées chez les plantes (Lange and Pimenta Lange, 2020). La biosynthèse des GAs se déroule en trois étapes distinctes faisant intervenir une classe d'enzymes spécifiques (**Figure 6**) (Sun, 2008; Yamaguchi, 2008; Hedden and Thomas, 2012).

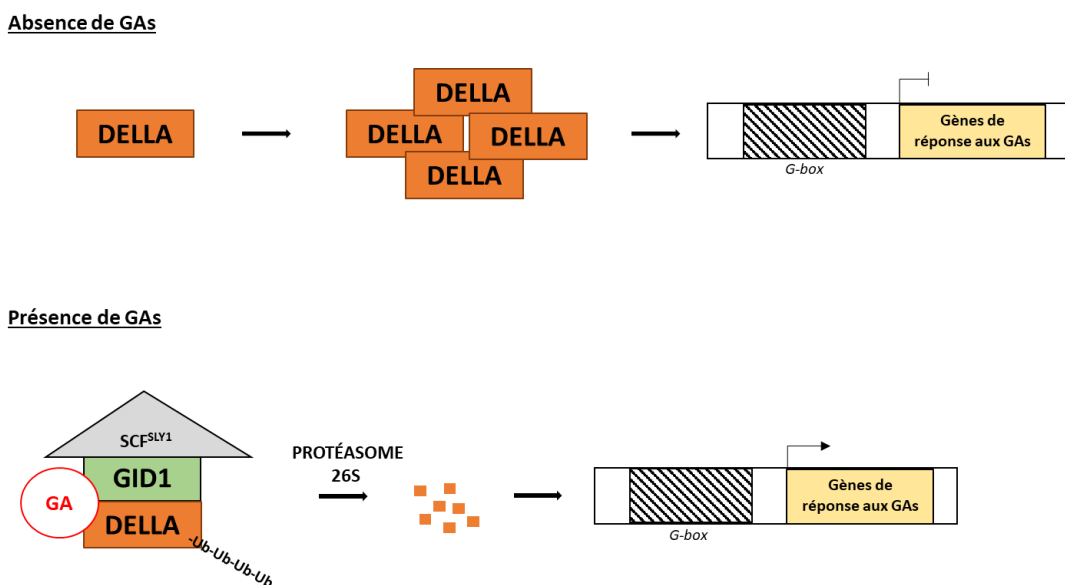
La première étape débute à partir d'une molécule de géranylgéranyl diphosphate (GGPP) principalement issue de la voie du méthylérythritol phosphate (Kasahara et al., 2002). Le GGPP subit deux étapes successives de cyclisation à partir de deux terpènes synthases afin d'obtenir une molécule finale d'*ent*-kaurène. La seconde étape fait intervenir deux monooxygénases du cytochrome P450 appartenant à la sous-famille des CYP701A (la *ent*-kaurène-19-oxydase ; KO et l'acide *ent*-kaurénoïque oxydase ; KAO). Les différentes étapes d'oxydation du *ent*-kaurène conduisent à la formation d'une GA<sub>12</sub>. La troisième étape consiste en une série d'oxydations à partir d'une molécule de GA<sub>12</sub> jusqu'à la synthèse des différentes formes de GAs. À l'inverse des deux étapes précédentes, la dernière étape de biosynthèse des GAs fait intervenir des familles multigéniques (Lange and Pimenta Lange, 2020). Les dioxygénases GA20-oxidases (GA20ox) et les GA13-oxidases (GA13ox) produisent des GAs inactives à partir de GA<sub>12</sub> (Yamaguchi, 2008). Puis, ces GAs inactives sont activées par l'action des GA3-oxidases (GA3ox) (Sun, 2008). Ces enzymes ont la particularité de posséder une activité 3β-hydroxylase (ajout d'un groupement -OH sur le C3 en position β) pour convertir une GA inactive en une GA bioactive (**Figure 5**) (Sponsel and Hedden, 2010). Parmi les 4 GAs bioactives synthétisées ; GA<sub>1</sub>, GA<sub>3</sub>, GA<sub>4</sub> et GA<sub>7</sub>, les formes GA<sub>1</sub> et GA<sub>4</sub> sont prédominantes chez les plantes (Yamaguchi, 2008; Ayano et al., 2014).

Une autre famille de dioxygénases, les GA2-oxidases (GA2ox), intervient dans le métabolisme des GAs et est impliquée dans la désactivation des GAs bioactives. Contrairement aux GA3-oxidases, les GA2-oxidases possèdent une activité 2β-hydroxylase qui permet de réguler la concentration des GAs bioactives en les rendant inactives (Sponsel and Hedden, 2010). La concentration en GAs bioactives dépend donc de l'activité catalytique des GA2-oxidases mais également des oxydases impliquées dans la synthèse de GAs (Sun, 2008).



**Figure 6.** Voie de biosynthèse et de dégradation des gibbérellines (GAs) (Yamaguchi, 2008). Les flèches de couleur rouge indiquent les étapes de synthèse des GAs bioactives et les flèches vertes les étapes de dégradation des GAs. Toutes les flèches des autres couleurs correspondent aux étapes de synthèse des GAs. Abréviations : GGPP : géranylgeranyl diphosphate, CDP : copalyl diphosphate, CPS : *ent*-copalyl diphosphate synthase, KS : *ent*-kaurène synthase, KO : *ent*-kaurène-19-oxydase, KAO : acide *ent*-kaurénoïque oxydase.

Les réponses physiologiques induites par les GAs impliquent la signalisation via les récepteurs de GAs, *GID1* (GA Insensitive Dwarf 1) et des protéines spécifiques appelées *DELLA* appartenant à la famille des régulateurs transcriptionnels GRAS (Gibberellic Acid Insensitive Repressor Of *gal-3* Scarecrow) (**Figure 7**) (Vera-Sirera et al., 2016; Takehara and Ueguchi-Tanaka, 2018). La transmission du signal des GAs implique également la présence de protéines *DELLA* qui sont des répresseurs de croissance. En absence de GAs bioactives, les protéines *DELLA* s'accumulent dans le noyau et inhibent l'élongation et les divisions cellulaires (Hedden, 2020). En présence de GAs bioactives, la formation du complexe *GID1-GA-DELLA* stimule les interactions entre les protéines *DELLA* et le complexe *SCF<sup>Sly1</sup>*, une E3 ubiquitine (Ub) ligase (*Skp1/Cullin/F-box*) contenant la protéine *F-box SLY1* (Sleepy 1), qui va permettre de polyubiquitinyler les protéines *DELLA*. L'ensemble de ces interactions permettent la dégradation des protéines *DELLA* par le protéasome 26S ce qui induit la croissance et le développement des plantes (**Figure 7**) (Ueguchi-Tanaka et al., 2007). Chez *Arabidopsis thaliana*, 5 gènes codant des protéines *DELLA* ont été caractérisés : *GAI* (GA-Insensitive), *RGA* (Repressor of *gal-3*), *RGL1* (RGA-like 1), *RGL2* et *RGL3* (Wild et al., 2012). La présence ou l'absence des protéines *DELLA* et la formation du complexe *GID1-GA-DELLA* contribuent ainsi de manière importante à la régulation de la voie de biosynthèse et de signalisation des GAs (Ueguchi-Tanaka et al., 2007; Takehara and Ueguchi-Tanaka, 2018).



**Figure 7.** Voie de signalisation simplifiée des gibbérellines (GAs). Abréviations : **GID1** : GA Insensitive Dwarf 1, **SCF** : Skp1/Cullin/F-box, **Sly1** : Sleepy 1, **Ub** : ubiquitine.



#### 1.5.4.2 Le rôle des gibbérellines dans la croissance des tiges

Au cours du développement et de la croissance des tiges, l'AUX et les GAs agissent en synergie pour favoriser l'élongation et les divisions cellulaires en influençant l'activité des méristèmes primaires (Shani et al., 2006; Veit, 2009). Lorsque l'AUX favorise le relâchement pariétal, les GAs vont activer l'expression de gènes codant des protéines pariétales telles que les EXP, les PME et les XET/XTH (Caderas et al., 2000; Chen et al., 2002; Ogawa et al., 2003; Kou et al., 2021). Chez le pois, l'AUX induit l'élongation des entre-nœuds en régulant la production de GAs bioactives (Ross et al., 2000; Ross et al., 2003). Les travaux de Kou et al. (2021) ont montré que les GAs contrôlaient partiellement la voie de signalisation de l'AUX qui est constitutivement induite au cours de l'élongation des pédoncules floraux du chou chinois. Chez *Arabidopsis thaliana*, le phénotype d'hypocotyle long conféré par la surexpression d'un gène de synthèse d'AUX, *YUCCA1*, est supprimé par l'ajout de paclobutrazol, un inhibiteur de la voie de biosynthèse des GAs (Frigerio et al., 2006). Ainsi, les GAs sont nécessaires à la croissance de l'hypocotyle dépendante de l'AUX (Frigerio et al., 2006). Ces résultats sont en accord avec le modèle selon lequel l'augmentation de la concentration d'AUX favorise l'augmentation de la concentration des GAs (Chapman et al., 2012).

L'utilisation de mutants de biosynthèse, de dégradation et de signalisation, a permis de mettre en évidence le rôle des GAs dans le contrôle de l'élongation des tiges chez différentes espèces (Peng et al., 1999; Harberd et al., 2009; Colebrook et al., 2014; Wang et al., 2017). De manière générale, le phénotype « nain » est observé chez les plantes sous-exprimant les GA20-oxidases (*GA20ox*) et les GA3-oxidases (*GA3ox*) ; deux importantes familles de dioxygénases intervenant dans la biosynthèse des GAs bioactives (Wang et al., 2017). La sous-expression de ces gènes induit alors une diminution de la teneur en GAs, et inversement, leur surexpression conduit à une croissance plus rapide et plus importante des organes aériens (Eriksson et al., 2000; Israelsson et al., 2004). Autre exemple, des travaux conduits chez *Arabidopsis thaliana* ont montré que la surexpression des gènes de dégradation des GAs bioactives, les GA2-oxidase (*GA2ox*), induit un phénotype d'hypocotyle étioilé (Li et al., 2019a).

### 1.5.5 Les brassinostéroïdes

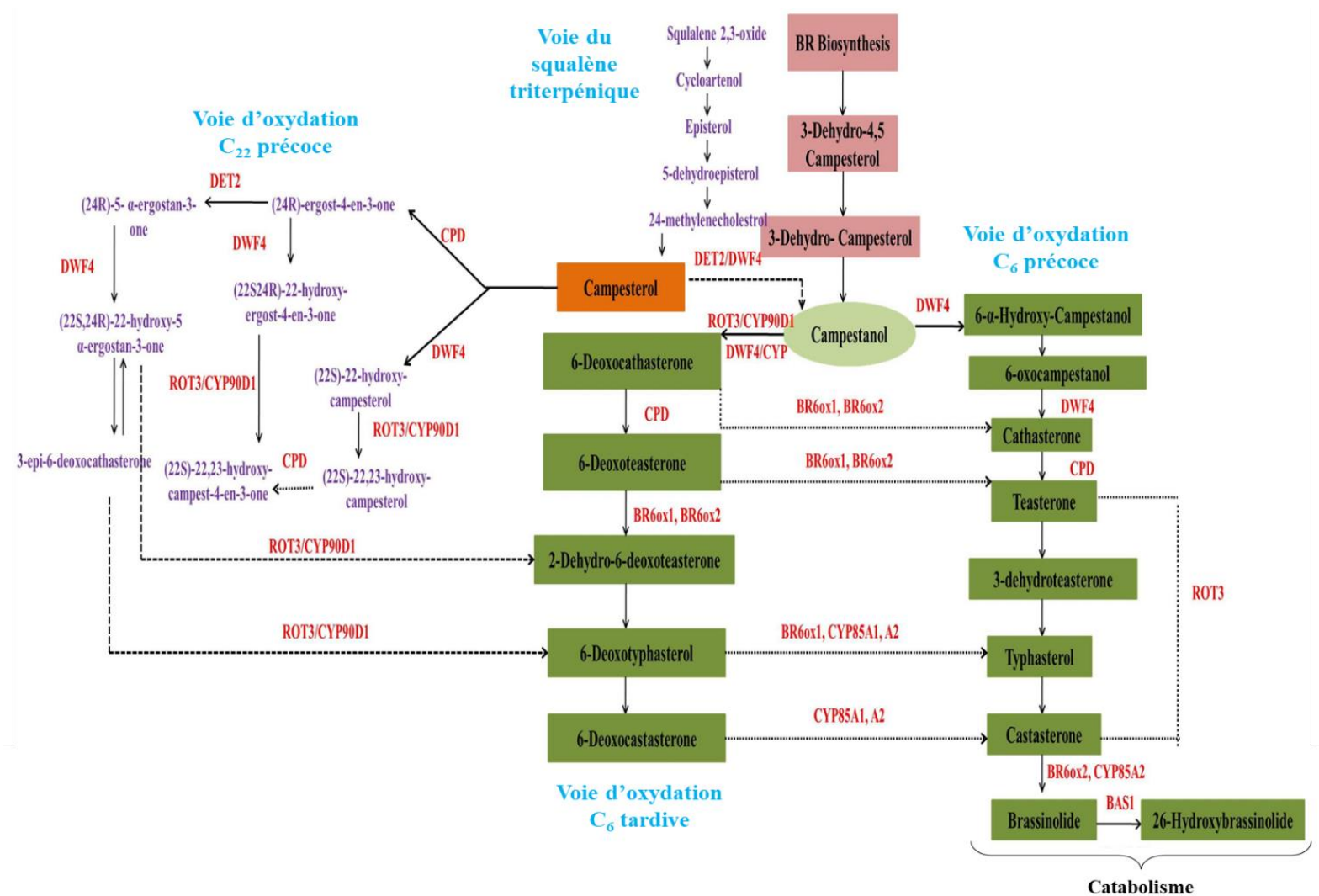
#### 1.5.5.1 Métabolisme et signalisation des brassinostéroïdes

Les BRs constituent une famille de près de 70 composés dont la biosynthèse débute à partir du campestérol (CR), un phytostérol similaire aux stéroïdes des animaux et des insectes, qui constitue ainsi le principal précurseur de la voie de biosynthèse des BRs (Fujioka and Sakurai, 1997; Bajguz, 2007; Kour et al., 2021). La biosynthèse des BRs est caractérisée par quatre voies métaboliques : la voie d'oxydation C<sub>6</sub> précoce, la voie d'oxydation C<sub>6</sub> tardive, la voie d'oxydation C<sub>22</sub> précoce et la voie du squalène triterpénique (**Figure 8**) (Sakurai, 1999; Fujioka and Yokota, 2003; Kour et al., 2021).

La première étape de biosynthèse des BRs consiste en la conversion du CR en campestanol (CN). Dans la voie d'oxydation C<sub>6</sub> précoce, une succession de réactions oxydatives complexes conduisent à la formation de plusieurs composés dont les principaux sont le 6-oxocampestanol (6-oxoCN), le cathastérone (CT), le teastérone (TE), le typhastérol (TY) et le castastérone (CS) (**Figure 8**) (Nishant Bhanu, 2019).

Les voies d'oxydation C<sub>6</sub> tardive et C<sub>22</sub> précoce mènent à la formation du 6-deoxocastastérone (6-deoxoCS), précurseur nécessaire à la synthèse du CS et de brassinolide (BL) (Fujioka and Yokota, 2003), ce dernier étant la forme biologique la plus active et la plus répandue dans le règne végétal (Fujioka and Yokota, 2003). Les principales enzymes impliquées dans ces réactions sont DET2 (De-Etiolated-2); DWF4 (Dwarf-4); CYP (Cytochrome Monooxygenase P450); CYP90C1/ROT3 (Rotundifolia 3); CPD (Constitutive Photomorphogenesis And Dwarfism) et BR6ox1/2 (BR 6-Oxidase 1/2) (**Figure 8**) (Fujioka and Yokota, 2003; Nishant Bhanu, 2019). La synthèse de CS et de BL requière également une enzyme de type cytochrome P450, CYP85A2, qui régule le taux de conversion du 6-deoxoCS en CS et du CS en BL (Kim et al., 2005).

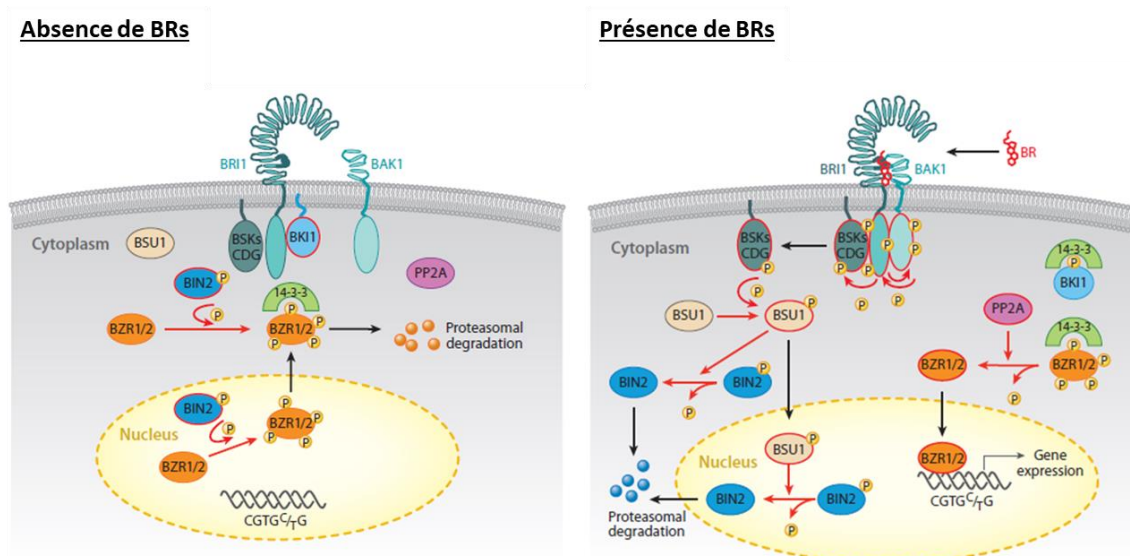
La régulation des niveaux de BLs passent par l'enzyme clé, BAS1 (Phytochrome B Activation Tagged Suppressor 1), qui permet leur conversion en une forme inactive correspondant au 26-hydroxybrassinolide (Fujioka and Yokota, 2003; Kour et al., 2021).



**Figure 8.** Voie de biosynthèse et de dégradation des brassinostéroïdes (BRs) (D'après Kour et al., 2021). Abréviations : **DET2** : De-Etiolated-2, **DWF4** : Dwarf 4, **CYP** : Cytochrome Monooxygenase P450, **ROT3** : Rotundifolia 3, **CPD** : Constitutive Photomorphogenesis And Dwarfism, **BR6ox1/2** : BR 6-Oxidase 1/2.

Après leur synthèse, les BRs se lient à des récepteurs membranaires spécifiques dont les principaux sont BRI1 (Brassinosteroid Insensitive 1) (Wang et al., 2012; Manghwar et al., 2022). L'interaction BR/BRI1 entraîne sa dissociation avec les protéines BKI1 (BRI1 Kinase Inhibitor 1) mais induit son association avec BAK1 (BRI1-Associated Receptor Kinase 1) (**Figure 9**) (Wang et al., 2012; Kour et al., 2021). Les phosphorylations entre BRI1 et BAK1 entraînent l'activation de BRI1 qui active la phosphorylation du complexe BSKs/CDG1 (BR-Signaling Kinases/Cytoplasmic Kinase 1). Ce complexe va à son tour permettre la phosphorylation de la phosphatase BSU1 (BRI1 Suppressor 1) (Wang et al., 2012). BSU1 va alors induire l'inactivation d'une kinase appelée BIN2 (Brassinosteroid Insensitive 2) en la déphosphorylant (Yin et al., 2002). Ces réactions conduisent finalement à la déphosphorylation d'un groupe de protéines clés, les facteurs de transcription (FTs) BZR1 (Brassinazole-Resistant 1) et BZR2 aussi appelé BES1 (BRI1-EMS Suppressor 1), par une protéine phosphatase 2A (PP2A) (Yin et al., 2002; Kour et al., 2021). Par conséquent, les FTs sont libérés de la protéine 14-3-3 et relargués dans le noyau pour se lier aux séquences promotrices des gènes de réponses aux BRs (Wang et al., 2012; Zhu et al., 2013a; Planas-Riverola et al., 2019).

En absence de BRs, BRI1 n'est pas phosphorylé et reste associée aux protéines BKI1 et BSKs/CDG1 de manière inactive. À l'inverse, BIN2 est sous forme active et a donc la capacité de phosphoryler les FTs BZR1/2 qui sont maintenus dans le cytoplasme par la protéine 14-3-3. Ainsi, les FTs BZR1/2 sont incapables de réguler l'expression des gènes cibles (**Figure 9**) (Wang et al., 2012; Planas-Riverola et al., 2019).



**Figure 9.** Voie de signalisation des brassinostéroïdes (BRs) (D'après Wang et al., 2012). **Abréviations** : **BRI1** : Brassinosteroid Insensitive 1, **BKI1** : BRI1 Kinase Inhibitor 1, **BAK1** : BRI1-Associated Receptor Kinase 1, **BSKs/CDG1** : BR-Signaling Kinases/Cytoplasmic Kinase 1, **BSU1** : BRI1 Suppressor 1, **BIN2** : Brassinosteroid Insensitive 2, **BZR1/2** : Brassinazole-Resistant 1/2, **PP2A** : Phosphatase Protein 2A.

### 1.5.5.2 Le rôle des brassinostéroïdes dans la croissance des tiges

Les BRs sont une classe de phytohormones appartenant à la famille des hormones de croissance. Ces hormones stéroïdiennes jouent un rôle important dans les processus de développement et de croissance des plantes (Zhu et al., 2013a; Tian et al., 2018; Nishant Bhanu, 2019). Par exemple, les BRs agissent en stimulant l'activité des méristèmes des tiges et en favorisant la division et l'expansion cellulaire ce qui par conséquent induit l'élongation des tiges (Sasse, 2003; Veit, 2009). Récemment, l'étude de Lee et al. (2019) a révélé l'importance de la voie signalétique des BRs dans la différenciation des vaisseaux conducteurs de xylème et dans le développement du bois au cours de la croissance secondaire des tiges de tomates.

Les BRs interagissent également avec d'autres hormones végétales, principalement les AUX et les GAs (Depuydt and Hardtke, 2011; Zhu et al., 2013a). Dans la régulation de la croissance de la tige, les BRs, les AUX et les GAs agissent en synergie pour stimuler l'élongation de la tige (Wang et al., 2018). Le gène *BZR1*, un FT impliqué dans les réponses induites par les BRs, régule de nombreux gènes impliqués dans la synthèse, le transport et la signalisation auxinique (Sun et al., 2010). Plusieurs études ont également révélé que les

gènes ciblés par l'AUX et réprimés présentaient des similitudes avec les gènes cibles des BRs, suggérant ainsi une certaine coordination de ces deux voies métaboliques (Goda et al., 2004; Nemhauser et al., 2004; Santner et al., 2009).

Chez *Arabidopsis thaliana*, les mutants déficients en BRs et en GAs affichent un phénotype nain caractérisé par la réduction de l'élongation de l'hypocotyle (Li and Chory, 1999). Le mutant déficient en BRs, *det2*, a un hypocotyle court et ne s'allonge pas malgré l'application exogène de GAs (Li et al., 1996; Gallego-Bartolomé et al., 2012). La sensibilité aux GAs est rétablie lorsque la mutation *bzr1-ID*, un mutant surexpresser de *BZR1*, est introduite. Ces résultats suggèrent que l'élongation de l'hypocotyle par les GAs dépend de l'activation de *BZR1* par les BRs (Bai et al., 2012; Gallego-Bartolomé et al., 2012). Les BRs, les GAs et les AUX jouent ainsi un rôle central dans la régulation des processus de croissance des plantes, notamment lors de l'élongation cellulaire des tiges, ainsi qu' au cours du développement des tissus vasculaires et de la croissance secondaire (Depuydt and Hardtke, 2011; Tian et al., 2018; Ben-Targem et al., 2021).

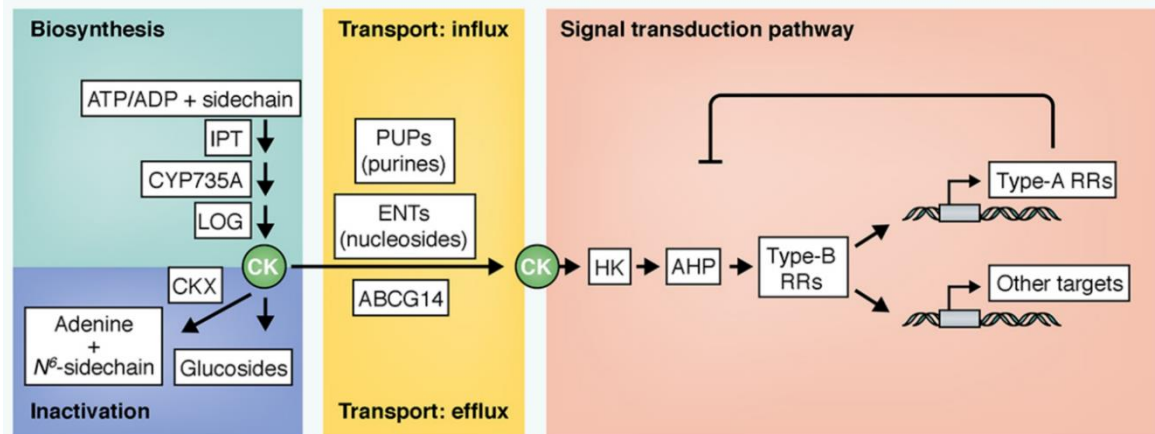
### 1.5.6 Les cytokinines

#### 1.5.6.1 Métabolisme et signalisation des cytokinines

La première réaction de la voie de biosynthèse des CKs est assurée par les gènes codant les *IPT* (*Adenosine Phosphate-Isopentenyl Transferase*) et qui utilisent comme substrats des composés tels que l'adénosine 5'-phosphate (ATP ou ADP) et le diméthylallyl-pyrophosphate (DMAPP) (Hwang and Sakakibara, 2006). Le DMAPP provient de deux voies différentes, la voie du méthylérythriol phosphate (MEP) et la voie du mévalonate (MVA), menant toutes deux à la synthèse d'isopentényl-pyrophosphate (IPP) et de DMAPP. Une série de transformations assurée par des enzymes des familles LOG (Lonely Guy) et CYP735A, conduisent à la formation des différentes formes de CKs, dont les principales sont la *trans*-zéatine (tZ), *cis*-zéatine (cZ), dihydrozéatine (DZ) et l'isopentényladénine (iP) (**Figure 10**) (Sakakibara, 2006; Kieber and Schaller, 2018). Les CKs sont des composés proches des bases puriques qui peuvent ensuite être conjuguées de différentes manières. On parle de O-glycosylation, réaction réversible, lorsque le sucre se fixe sur un groupement hydroxyle (-OH) de la chaîne latérale et de N-glycosylation, réaction irréversible, lorsqu'il se lie à un résidu azoté de la base. Ces modifications sont assurées par des O-glycosyltransférases et des N-glycosyltransférases (Sakakibara, 2006). Les  $\beta$ -glucosidases ( $\beta$ -GLU) constituent une famille d'enzymes capable de reverser l'action des O-glycosyltransférases (Frebort et al., 2011; Kieber and Schaller, 2018). Il existe également des enzymes qui conduisent à la dégradation irréversible des CKs. Ces enzymes correspondent aux CKX (Cytokinins Oxidases/Dehydrogenases) et ont la capacité de dissocier la chaîne latérale de l'adénine (Hwang and Sakakibara, 2006; Frebort et al., 2011). Cette famille participe de manière importante à la régulation de l'homéostasie des CKs (Werner et al., 2006). Au sein de la plante, les CKs sont transportées via des transports d'influx appartenant aux familles des PUP (Purine Permeases) et des ENT (Equilibrative Nucleoside Transporters) et des transporteurs d'efflux appartenant à la famille ABC (Sun et al., 2005; Sakakibara, 2006; Zürcher et al., 2016; Kieber and Schaller, 2018).

La signalisation des CKs commence lorsque celles-ci se lient à des récepteurs membranaires, les HK (Histidine Kinases) (**Figure 10**). Lorsque les CKs sont perçues, cela déclenche une série de réactions en chaîne de phosphorylation du récepteur, impliquant notamment des protéines navettes appelées AHP (Arabidopsis Histidine Phosphotransfert Proteins) (Hutchison et al., 2006). Ces réactions de phosphorylation se propagent ensuite

aux régulateurs de type A-RR et de type B-RR (Response Regulators) (Ishida et al., 2008; Kieber and Schaller, 2018). Les B-RR sont dotés d'un domaine de liaison à l'ADN et jouent un rôle central dans l'activation des gènes en réponse aux CKs. En revanche, les A-RR ne possèdent pas de domaine de liaison à l'ADN et sont davantage impliqués dans la rétroaction négative du signal hormonal (Kieber and Schaller, 2018).



**Figure 10.** Vue générale de la voie métabolique et signalétique des cytokinines (CKs) (Kieber and Schaller, 2018). Abréviations : **IPT** : Isopentenyl Transferase, **LOG** : Lonely Guy, **CKX** : Cytokinins Oxidases/Dehydrogenases, **PUP** : Purine Permeases, **ENT** : Equilibrative Nucleoside Transporter, **HK** : Histidine Kinases, **AHP** : Arabidopsis Histidine Phosphotransfert Proteins, **RR** : Response Regulators.

### 1.5.6.2 Le rôle des cytokinines dans la croissance des tiges

Les CKs sont une importante famille hormonale reconnue pour leur implication dans la régulation de divers processus de croissance et de développement des plantes, notamment lors des phases de division cellulaire et de débourrement des plantes (Santner et al., 2009). Cependant, l'effet unique des CKs est souvent masqué par leurs nombreuses interactions avec les autres phytohormones ce qui rend difficile la compréhension du rôle exact des CKs dans un processus complexe telle que la croissance des tiges (Kieber and Schaller, 2018).

L'une des fonctions fondamentales des CKs est de réguler la prolifération cellulaire en influençant à la fois la division cellulaire et la différenciation des cellules (Schaller et al., 2014). Les CKs exercent cette régulation en modulant l'expression de gènes cruciaux tels que les *CDC* (*Cell Division Cycle*), les *CDK* (*Cyclin Dependent Kinases*) et les *CYC* (*Cyclines*), ce qui orchestre la progression du cycle cellulaire à travers ses différentes phases (Schaller et al., 2014). Dans une tige en croissance, les CKs favorisent la prolifération



cellulaire en stimulant l'activité du SAM (Kieber and Schaller, 2018). Cette action synergique avec les AUX induit à la fois la croissance et la différenciation des organes.

Les CKs, agissant en synergie avec l'AUX, exercent également une influence sur la croissance en diamètre des tiges en stimulant l'activité du cambium vasculaire (Matsumoto-Kitano et al., 2008; Nieminen et al., 2008). Chez les hybrides de peupliers, l'augmentation de la concentration et de la signalisation des CKs contribue à l'augmentation de la biomasse des tiges (Immanen et al., 2016). De plus, plusieurs études ont révélé une corrélation entre la concentration élevée en CKs dans les tissus phloémiens et celle en AUX dans les tissus xylémiens (Bishopp et al., 2011; De Rybel et al., 2014; Immanen et al., 2016).

Les CKs, en interaction avec l'AUX et les SLs, ont également un rôle important dans les processus de débourrements des bourgeons axillaires (cf. **1.5.12**).

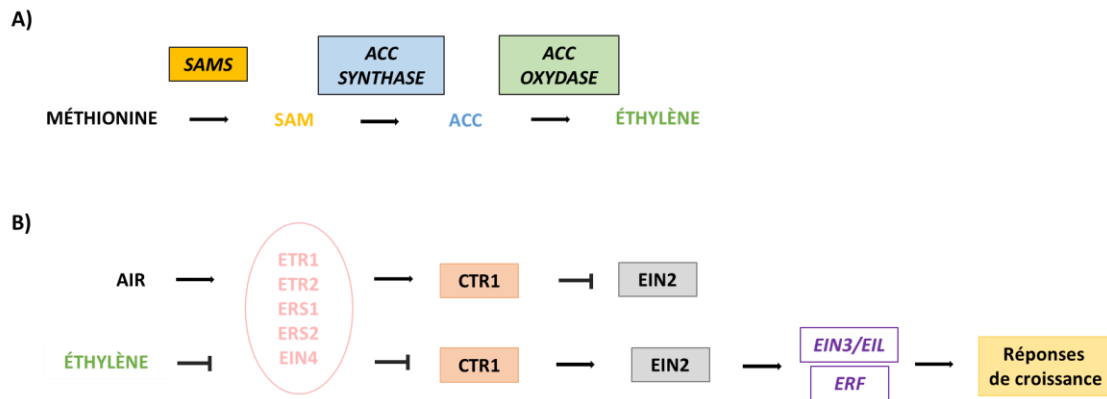
### 1.5.7 L'éthylène

#### 1.5.7.1 Métabolisme et signalisation éthylique

L'éthylène (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>) est une hormone gazeuse qui régule de nombreuses réponses physiologiques des plantes soumises à des stress biotiques et abiotiques (Schaller and Kieber, 2002; Abeles et al., 2012).

La synthèse d'éthylène débute à partir d'un acide aminé dérivé du cycle de Yang, la méthionine, qui est convertie en S-adénosyl méthionine (SAM) par l'incorporation d'une molécule d'ATP par la S-adénosyl méthionine synthétase (SAMS) (**Figure 11**). La SAM est un important donneur de groupe méthyl (-CH<sub>3</sub>) également impliquée dans plusieurs voies de biosynthèse celles des polyamines et de la lignine (Mijnsbrugge et al., 1996; Wang et al., 2002; Roeder et al., 2009). La SAM est ensuite transformée en acide 1-aminocyclopropane-1-carboxylique (ACC) par l'intermédiaire d'une ACC synthétase (ACS). L'ACC est le précurseur direct de la voie de biosynthèse de l'éthylène. En effet, l'oxydation de l'ACC par une ACC oxydase (ACO) conduit directement à la formation d'éthylène (**Figure 11**) (McKeon and Yang, 1987; Abeles et al., 2012).

Une fois synthétisée l'éthylène est perçu grâce à des récepteurs membranaires au nombre de 5, classés en 2 sous-familles. La première famille comprend les récepteurs ETR1 (Ethylene Receptor 1) et ERS1 (Ethylene Response Sensor 1) et la seconde famille comprend les récepteurs ETR2, ERS2 et EIN4 (Ethylene Insensitive 4) (**Figure 11**) (Schaller and Kieber, 2002). En absence d'éthylène, les récepteurs sont fonctionnels et activent constitutivement les protéines CTR1 (Constitutive Triple Response 1) qui permettent de réprimer les mécanismes de réponse à l'éthylène (Schaller and Kieber, 2002). En présence d'éthylène la formation du complexe éthylène/récepteur engendre une inactivation des protéines réceptrices et de CTR1. Ces dernières vont alors induire l'activation des protéines EIN2 (Ethylene Insensitive 2) qui vont à leur tour induire l'expression des facteurs de transcription (FTs), EIN3/EIL (Ethylene Insensitive 3/ Ethylene Insensitive-Like) et ERF (Ethylene Response Factor) (**Figure 11**) (Schaller and Kieber, 2002; Wang et al., 2002). Ces FTs vont ensuite interagir avec les promoteurs des gènes cibles permettant ainsi l'activation des réponses physiologiques induites par l'éthylène (Wang et al., 2002).



**Figure 11.** (A) Voie simplifiée de biosynthèse de l'éthylène. (B) Voie de signalisation de l'éthylène. Abréviations : **SAMS** : S-Adénosyl Méthionine Synthétase, **SAM** : S-Adénosyl Méthionine, **ACC** : Acide 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylique, **ETR** : Ethylene Receptor, **ERS** : Ethylene Response Sensor, **EIN** : Ethylene Insensitive, **CTR1** : Constitutive Triple Response, **EIL** : Ethylene Insensitive-Like, **ERF** : Ethylene Response Factor.

### 1.5.7.2 Le rôle de l'éthylène dans la croissance des tiges

En situation de stress biotique ou abiotique, l'éthylène agit comme un messager secondaire en interagissant avec d'autres phytohormones qui favorisent sa production et son action. Elles impactent ainsi le développement des tiges (Kachroo and Kachroo, 2007; Lin et al., 2009; Dubois et al., 2018).

En synergie avec les GAs et l'AUX, l'éthylène favorise considérablement l'allongement de l'hypocotyle chez *Arabidopsis thaliana*, en stimulant l'expansion et la division cellulaire (Saibo et al., 2003). Plusieurs études ont démontré que l'éthylène cible spécifiquement des gènes qui induisent le relâchement pariétal et l'expansion cellulaire, tels que *PLG*, *PME*, *XTH* et *EXP* (Chervin et al., 2008; Polko et al., 2012). De même, l'éthylène peut stimuler la division des cellules cambiales, augmentant ainsi la croissance radiale des plantes (Mensuali-Sodi et al., 2006; EtcHELLS et al., 2012).

La libération d'éthylène dans la plante stimule aussi la voie des phénylpropanoïdes, favorisant ainsi la production de lignine et de subérine, qui renforcent les parois cellulaires et fournissent un support structurel (Fugate et al., 2023).

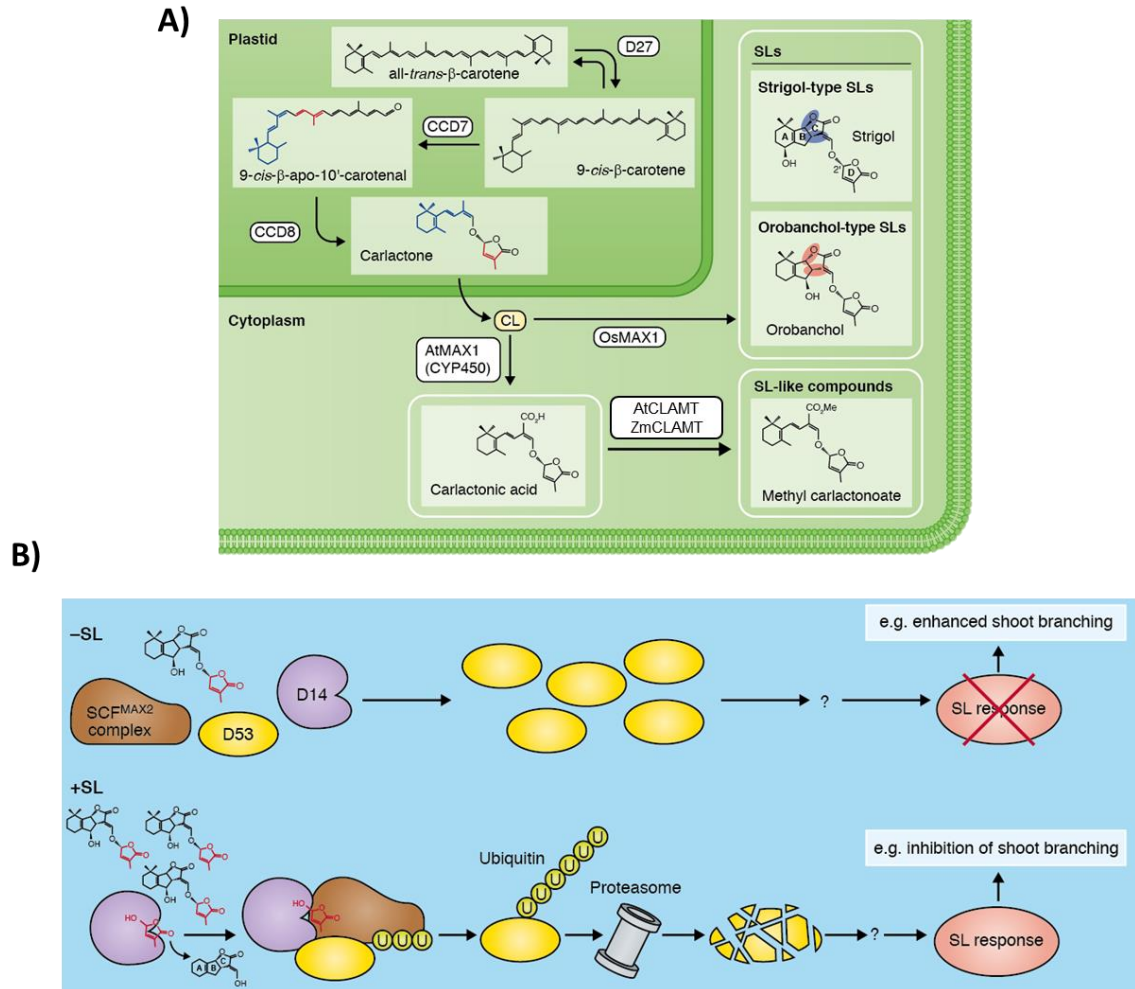
### 1.5.8 Les strigolactones

#### 1.5.8.1 Métabolisme et signalisation des strigolactones

Les SLs sont la neuvième classe de phytohormones identifiées plus récemment (Gomez-Roldan et al., 2008; Umehara et al., 2008). Le précurseur de la biosynthèse des SLs est un caroténoïde appelé all-*trans*- $\beta$ -carotène (**Figure 12**). La conversion du  $\beta$ -carotène en SLs commence par le clivage de la molécule de caroténoïde. Ce clivage est catalysé par des enzymes clés telles que D27 (DWARF 27), CCD7 et CCD8 (Carotenoid Cleavage Dioxygenases) (Lopez-Obando et al., 2015; Waters et al., 2017). La protéine D27 a une double action qui permet de convertir le all-*trans*- $\beta$ -carotène en 9-*cis*- $\beta$ -carotène et inversement. La CCD7 clive le 9-*cis*- $\beta$ -carotène en 9-*cis*- $\beta$ -apo-10'-caroténal qui est lui-même convertit en carlactone (CL) via l'activité de la CCD8 (Lopez-Obando et al., 2015; Khuvung et al., 2022). Grâce à l'activité des enzymes de la famille des cytochromes P450 codées par *MAX1* (*More Axillary Branches 1*), la CL est convertie en diverses SLs telles que l'acide carlactonique (CLA), le strigole et l'orobanchole (**Figure 12**) (Lopez-Obando et al., 2015). Récemment, plusieurs travaux ont permis d'identifier, chez *Arabidopsis thaliana* et *Zea mays*, la CLA-méthyltransferase (CLAMT) permettant la conversion de CLA en méthyl carlactonoate (MeCLA) (Mashiguchi et al., 2022; Li et al., 2023). Le MeCLA peut à son tour être convertit en hydroxyméthyl carlactonoate (1'-OH-MeCLA) par une LBO (Lateral Branching Oxidoreductase) (Brewer et al., 2016; Yoneyama et al., 2020). Toutefois, en étant une molécule instable, la molécule d'hydroxyméthyl carlactonoate est rapidement convertie en CLA par l'élimination du formaldéhyde (Dun et al., 2023).

La signalisation des SLs commence par la perception de ces composés par des récepteurs spécifiques qui sont généralement des protéines de la famille des  $\alpha$ - $\beta$  hydrolases, connues sous le nom de D14 (Dwarf 14) (**Figure 12**). La formation du complexe D14/SL induit un changement conformationnel dans la protéine réceptrice ce qui entraîne l'activation de la signalisation (Lopez-Obando et al., 2015). Le complexe D14/SL interagit avec MAX2 (*More Axillary Growth 2*) aussi appelée protéine D3 (Dwarf 3), qui est une protéine à boîte F formant un complexe avec SCF (SKP1-Cullin 1-F-box). Le complexe D14/SCF<sup>MAX2</sup> ubiquitine les protéines cibles spécifiques SMXL (SMAX1-Like) telles que SMAX1 (*Suppressor Of MAX2 1*) aussi appelées protéines D53 (Dwarf 53) (Waters et al., 2017). En présence de SLs, la protéine D53 est polyubiquitinée puis dégradée par le protéasome 26S ce qui permet l'activation de FTs spécifiques, telles que les gènes *BRC1* et *BRC2* (*Branched 1/2*) chez *Arabidopsis thaliana* et *TB1* (*Teosinte Branched 1*) chez *Zea mays*, tous

promouvent ainsi l'inhibition du débourrement des bourgeons axillaires (Doebley et al., 1995; Aguilar-Martínez et al., 2007; Leduc et al., 2014; Rameau et al., 2015; Waters et al., 2017; Wang et al., 2019; Khuvung et al., 2022; Beveridge et al., 2023).



**Figure 12.** (A) Voie de biosynthèse des strigolactones (SLs). (B) Voie de signalisation des SLs (D'après Lopez-Obando et al., 2015). Abbreviations : **CCD7/8** (Carotenoid Cleavage Dioxygenases 7/8), **D27/14/53** : Dwarf 27/14/53, **SCF** : Skp1-Cullin 1-F-box, **MAX1/2** : More Axillary Growth 1/2.

### 1.5.8.2 Le rôle des strigolactones dans la croissance des tiges

Les SLs jouent également un rôle dans les processus d'élongation des tiges. Chez *Arabidopsis thaliana*, les mutants présentant des déficiences dans la biosynthèse et la signalisation des SLs présentent un phénotype semi-nain et une augmentation de la ramification (Rameau et al., 2019; Wu et al., 2022).

En outre, les SLs ont également la capacité de stimuler la croissance secondaire des tiges (Waters et al., 2017). En effet, les mutants déficients en SLs présentent un diamètre de tige plus faible que les plantes non mutantes (Agusti et al., 2011 ; Rameau et al., 2019). En collaboration avec l'AUX, la signalisation des SLs dans le cambium est suffisante pour induire la division des cellules cambiales (Agusti et al., 2011). Ces auteurs ont montré que l'application de SL synthétique (GR24) stimulait l'activité cambiale chez les mutants *max*, caractérisés par une réduction de la taille du cambium.

Les SLs, en interaction avec l'AUX et les CKs, ont également un rôle dans les processus de débourrements des bourgeons axillaires (cf. 1.5.12).

### 1.5.9 L'acide abscissique

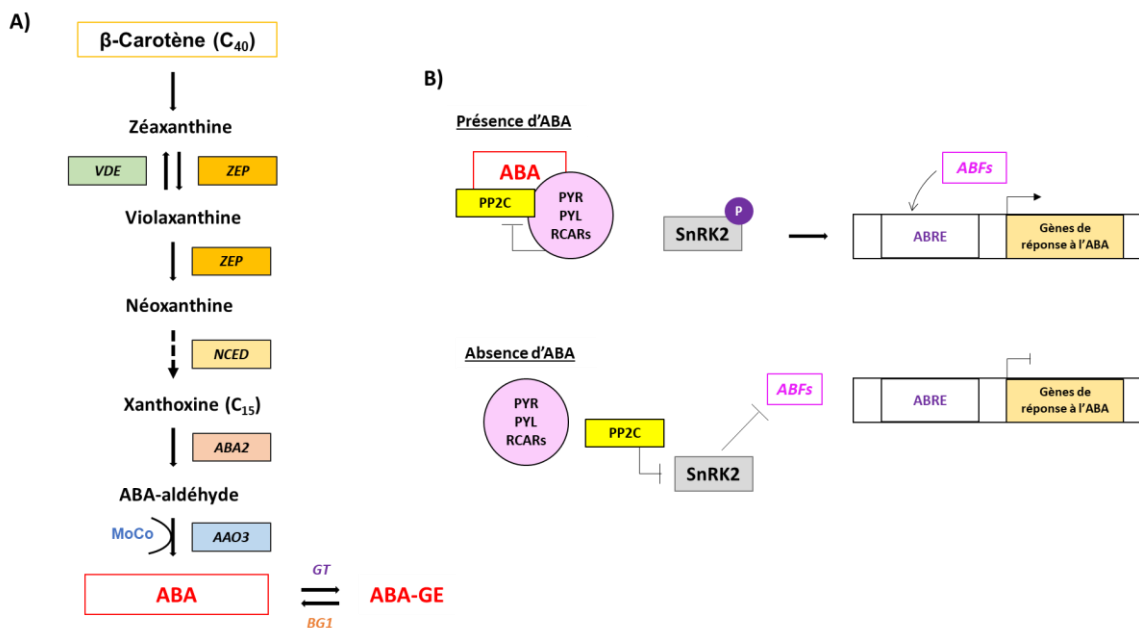
#### 1.5.9.1 Métabolisme et signalisation de l'acide abscissique

L'ABA ( $C_{15}H_{20}O_4$ ) est une phytohormone végétale appartenant à la famille des sesquiterpénoïdes (Finkelstein and Rock, 2002). Cette hormone est un produit de clivage des caroténoïdes en  $C_{40}$ . Après hydrolyse via la  $\beta$ -carotène hydroxylase (BCH), le  $\beta$ -carotène conduit à la formation de la zéaxanthine, premier composé de la voie de biosynthèse de l'ABA (Xiong and Zhu, 2003). La zéaxanthine est ensuite convertie en anthéaxanthine, puis en violaxanthine par l'intermédiaire d'une zéaxanthine époxydase (ZEP) (Nambara and Marion-Poll, 2005; Brookbank et al., 2021). Ces deux réactions sont réversibles grâce à l'action d'une violaxanthine dé-époxydase (VDE) (**Figure 13**). La suite de la cascade de réactions menant à la synthèse d'ABA est assurée par différentes enzymes dont les principales sont : NCED (9-*cis*-époxy-caroténoïde dioxygénase) aussi appelée ABA1 (ABA Déficient 1), ABA2 codée par le gène *SDR* (*Short-Chain Alcohol Dehydrogenase/Reductase*), AAO (abscisic aldehyde oxidase) et le cofacteur MoCo (molybdène sulfurase) codé par le gène *ABA3* (Xiong and Zhu, 2003; Nambara and Marion-Poll, 2005; Brookbank et al., 2021).

Au cours de sa dégradation l'ABA est converti en acide phaséique (PA), puis en acide dihydrophaséique (DPA) via l'activité du cytochrome P450 CYP707A (Ali et al., 2020). L'ABA peut également être glycosylé en ABA-GE (ABA-glucosyl ester) par l'intermédiaire des glycosyl transférases (GT) afin d'être stocké. À l'inverse, l'ABA-GE peut être reconverti en molécule libre d'ABA via l'activité d'une glycosyl hydrolase (BG1) (Ali et al., 2020).

L'ABA est principalement synthétisé dans les feuilles matures, en particulier en réponse à des conditions de stress hydrique et osmotique. L'ABA est perçu par une famille de récepteurs PYR/PYL/RCARs (Pyrbactin Resistance/PYR-Like/Regulatory Component Of ABA Receptor) qui sont des régulateurs positifs de la signalisation de l'ABA (Danquah et al., 2014; Emenecker and Strader, 2020; Brookbank et al., 2021) (**Figure 13**). Ces récepteurs jouent un rôle important dans la réponse des plantes aux stress car ils transmettent le signal aux canaux calciques via une protéine kinase membranaire. Les récepteurs PYR/PYL/RCARs sont normalement liés à des protéines phosphatases de type 2C (PP2C) qui sont des régulateurs négatifs de la voie de signalisation de l'ABA.

En l'absence d'ABA, les PP2C déphosphorylent les kinases SnRK2 (SNF1-related protein kinase 2) ce qui les rend inactives et empêche l'expression des gènes de réponse à l'ABA (Emenecker and Strader, 2020). En présence d'ABA, le complexe ABA/PYR/PYL/RCAR, provoque un changement de conformation des récepteurs ce qui induit l'inhibition de l'activité des protéines PP2C. Ainsi, les kinases SnRK2 sont activées et peuvent phosphoryler les FTs tels que ABFs (ABRE-binding factor) (Danquah et al., 2014; Emenecker and Strader, 2020). Ces FTs appartiennent à la famille des bZIP (basic-domain leucine zipper) et peuvent se lier aux séquences promotrices des gènes cibles de l'ABA appelées ABRE (abscisic acid-responsive promoter elements) (Emenecker and Strader, 2020). Cette liaison permet d'activer la transcription des gènes répondant à l'ABA (**Figure 13**). Ces gènes sont impliqués dans diverses réponses au stress, notamment la fermeture des stomates, la tolérance au stress osmotique et la synthèse de protéines et de métabolites protecteurs (Danquah et al., 2014; Emenecker and Strader, 2020).



**Figure 13.** (A) Voie de biosynthèse et de dégradation de l'acide abscissique (ABA). (B) Voie de signalisation de l'ABA. La flèche discontinue représente plusieurs étapes de synthèse. Abréviations : **VDE** : Violaxanthine dé-époxydase, **ZEP** : zéaxanthine époxydase, **NCED** : 9-cis-époxy-caroténoïde dioxygénase, **ABA2** : alcool déhydrogénase, **AAO3** : ABA-aldéhyde oxydase, **MoCo** : Molybdène sulfurase, **GT** : Glycosyl Transférerase, **BG1** : glycosyl hydrolase 1.



### 1.5.9.2 Le rôle de l'acide abscissique dans la croissance des tiges

L'ABA est principalement reconnu pour son rôle prépondérant dans la régulation de la dormance des graines, ainsi que dans la modulation des réponses des plantes soumises à des conditions de sécheresse (Kumar et al., 2019). De nombreuses études ont démontré que les stress hydriques conduisent à une accumulation d'ABA dans les plantes, déclenchant ainsi diverses réponses physiologiques. Parmi ces réponses, la fermeture des stomates est une réaction majeure, entraînant une réduction significative du processus photosynthétique. En conséquence, cela se traduit par une diminution globale de la croissance des plantes et des tiges en particulier (Mutava et al., 2015; Kumar et al., 2019; Ali et al., 2020).

Des études menées sur *Arabidopsis thaliana* ont révélé que des concentrations élevées d'ABA induisaient des phénotypes nains (Fujii and Zhu, 2009; Gonzalez-Guzman et al., 2012; Zhao et al., 2018). À l'inverse, chez *Oryza sativa* des mutants déficients en ABA affichent un développement plus grand que les plantes de type sauvage (Liao et al., 2018).

Récemment, les travaux de Liu et al. (2021) ont montré l'implication de l'ABA dans la régulation de la croissance secondaire chez *A. thaliana*. Ces auteurs ont révélé que des mutations affectant les gènes responsables de la synthèse et de la signalisation de l'ABA entraînaient une diminution du développement de la paroi secondaire par une réduction marquée de la déposition de lignine et de cellulose. Cependant, il est intéressant de noter que la surexpression de gènes tels que *NCED6* et *NCED9*, qui sont impliqués dans la synthèse de l'ABA, ne suffit pas à stimuler de manière significative les processus de lignification et de développement de la paroi secondaire. Ces résultats suggèrent que l'ABA ne joue probablement pas un rôle isolé dans ces processus complexes et qu'il interagit avec d'autres acteurs (Brookbank et al., 2021).

### 1.5.10 L'acide jasmonique

#### 1.5.10.1 Métabolisme et signalisation du jasmonate

La biosynthèse du JA commence par une cascade enzymatique complexe se déroulant dans les chloroplastes et les péroxysomes à partir de l'acide  $\alpha$ -linoléinique, un acide gras polyinsaturé (**Figure 14A**) (Ali and Baek, 2020). L'oxydation de l'acide  $\alpha$ -linoléinique par des lipoxygénases (LOX) conduit à la synthèse de l'acide 13-hydroperoxylinoléinique (13-HPOT) (Wasternack and Hause, 2013).

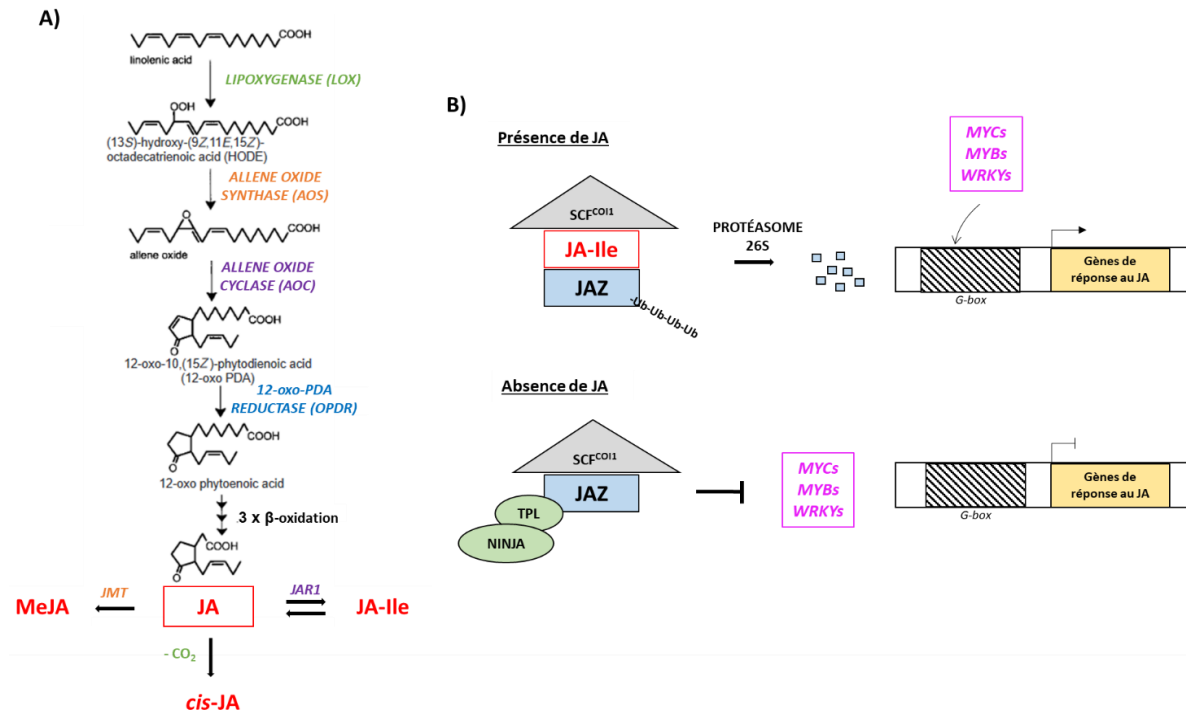
Le gène *AOS* (*Allene Oxide Synthase*) catalyse la conversion du 13-HPOT en un intermédiaire instable appelé oxyde d'allène. Cette molécule est convertie en acide 12-oxo-phytodiénoïque (12-OPDA) par l'activité enzymatique de l'AOC (allene oxide cyclase). Le 12-OPDA est ensuite réduit en acide 3-oxo-2-(2'-pentenyl)-cyclopentane-1-octanoïque (OPC-8:0) par l'intermédiaire de la réductase de l'acide 12-oxo-phytodiénoïque (ODPR). La molécule d'OPC-8:0 subit trois cycles successifs de  $\beta$ -oxydation pour conduire à la formation de JA (Wasternack and Hause, 2013).

La régulation de JA s'effectue par le contrôle de la concentration en 13-HPOT en réprimant l'expression des gènes codant l'*AOS* et *HPL* (*Hydroperoxide Lyase*) (Wasternack and Hause, 2013; Ali and Baek, 2020). La régulation de JA dépend également de sa conversion en différents dérivés et métabolites dont les principales formes sont le *cis*-jasmone, le MeJA (methyl jasmonate) et le JA-Ile (jasmonoyl isoleucine) (Fonseca et al., 2009; Wasternack and Hause, 2013). Le *cis*-jasmone est produit à partir de la décarboxylation de JA (Koch et al., 1997). Le MeJA est un composé volatile qui est produit par l'intermédiaire de l'activité de la JA carboxyl méthyltransférase (JMT) et la conversion réversible entre le JA et le JA-Ile est assurée par la jasmonate amino acide synthétase 1 (JAR1) (Fonseca et al., 2009; Li et al., 2018a; Ali and Baek, 2020).

Lors d'un faible niveau de JA-Ile, les protéines JAZ (Jasmonate ZIM-Domain) recrutent les protéines TPL (Topless) et NINJA (Novel Interactor Of JAZ) pour former un complexe de répression transcriptionnelle (**Figure 14B**) (Wasternack and Hause, 2013). Ce complexe va alors inhiber l'activité des FTs tels que MYBs, MYCs, WRKYs empêchant ainsi l'expression des gènes de réponse au JA (Ruan et al., 2019; Ali and Baek, 2020).

Au cours d'un stress abiotique ou biotique, la synthèse de JA est augmentée et il est rapidement converti en JA-Ile. Ce dernier est ensuite transporté vers le noyau par les transporteurs de la famille ABC codés par le gène *JAT1* (*JA Transfer Protein 1*)

(Wasternack and Hause, 2013). Le JA-Ile facilite l'interaction de JAZ avec la protéine F-box COI1 (Coronatine Insensible 1) au sein du complexe SCF, ce qui entraîne la dégradation protéasomique des protéines JAZ (Ruan et al., 2019). Les FTs sont alors déréprimés et peuvent se lier à l'élément G-box de la séquence promotrice des gènes de réponse au JA.



**Figure 14.** (A) Voie de biosynthèse et de dégradation de l'acide jasmonique (JA) (D'après Wasternack et al., 1998). (B) Voie de signalisation jasmonique. Abréviations : SCF: Skp1, Cullin and F-box proteins; COI1: Coronatine Insensitive 1, JAZ: Jasmonate ZIM-domain protein; TFs: Transcription factors; TPL: Topless protein, NINJA: Novel Interactor of JAZ.

### 1.5.10.2 Le rôle du jasmonate dans la croissance des tiges

La voie métabolique du JA constitue un élément fondamental du système de défense des plantes, essentiel à leur survie et à leur adaptation dans des conditions environnementales défavorables (Wasternack and Strnad, 2016; Ali and Baek, 2020). Elle permet aux plantes de réagir aux stress d'origine biotique, tels que l'herbivorie et les attaques d'agents phytopathogènes, ainsi qu'aux stress abiotiques, tels que les stress hydriques, salins ou thermiques. Cette réponse multifacette se traduit par la modulation de plusieurs processus clés.

En réaction au stress, la signalisation jasmonique engendre une série de réponses, dont la réduction de l'élongation des tiges, l'inhibition du processus de débourrement, la

stimulation du développement du système racinaire, ainsi que l'intensification de la production de métabolites de défense, notamment les terpènes et les alcaloïdes qui dissuadent les herbivores, et les composés antimicrobiens pour contrer les infections causées par des agents phytopathogènes (Hou et al., 2013; Afrin et al., 2015; Wasternack and Strnad, 2016).

Le JA influence également la croissance radiale en régulant des processus tels que la formation et la lignification des parois cellulaires secondaires. En réponse au stress, le JA peut stimuler la production de métabolites secondaires, dont la lignine, qui renforce les parois cellulaires et peut influencer la rigidité et la croissance des tissus végétaux. Cette régulation implique également la modulation de la production de polysaccharides pariétaux tels que la cellulose et les hémicelluloses, ainsi que la régulation de l'activité d'enzymes pariétales telles que les pectines méthylestérases (PME) et les polygalacturonases (PLG) (Cao et al., 2010; Onohata and Gomi, 2020).

Toutefois, il convient de noter que le JA et ses dérivés interagissent avec d'autres hormones pour coordonner à la fois les réponses de croissance et les réponses de défense (Wasternack and Hause, 2013; Yang et al., 2019). À titre d'exemple, la voie de signalisation du JA peut jouer un rôle essentiel en amplifiant les réponses du SA dans le mécanisme de gravitropisme des coléoptiles d'*Oryza sativa* (Gutjahr et al., 2005).

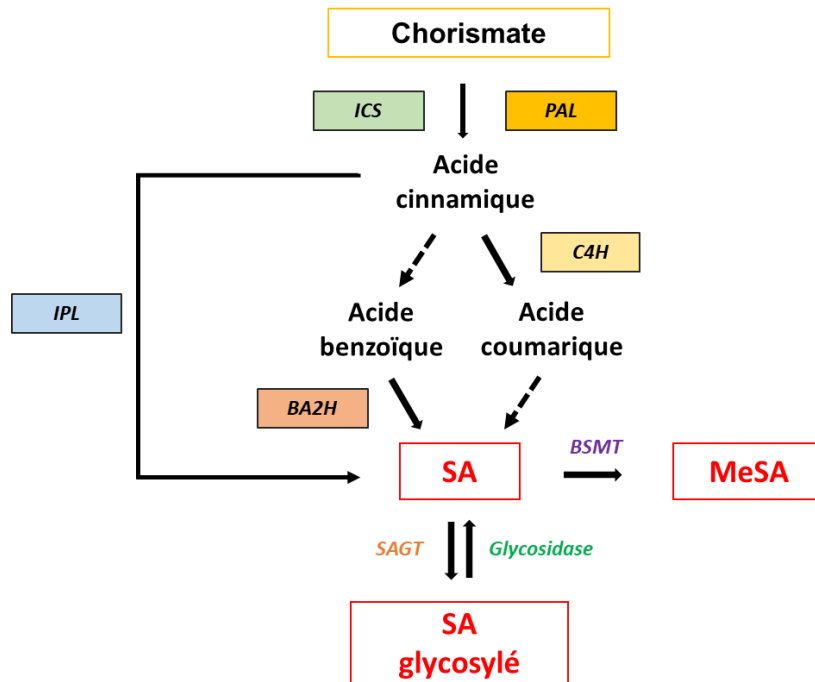
### 1.5.11 L'acide salicylique

#### 1.5.11.1 Métabolisme et signalisation du salicylate

Il existe deux voies métaboliques menant à la biosynthèse de SA à partir du chorismate, produit final de la voie du Shikimate (**Figure 15**) (Chen et al., 2009; Hara et al., 2012).

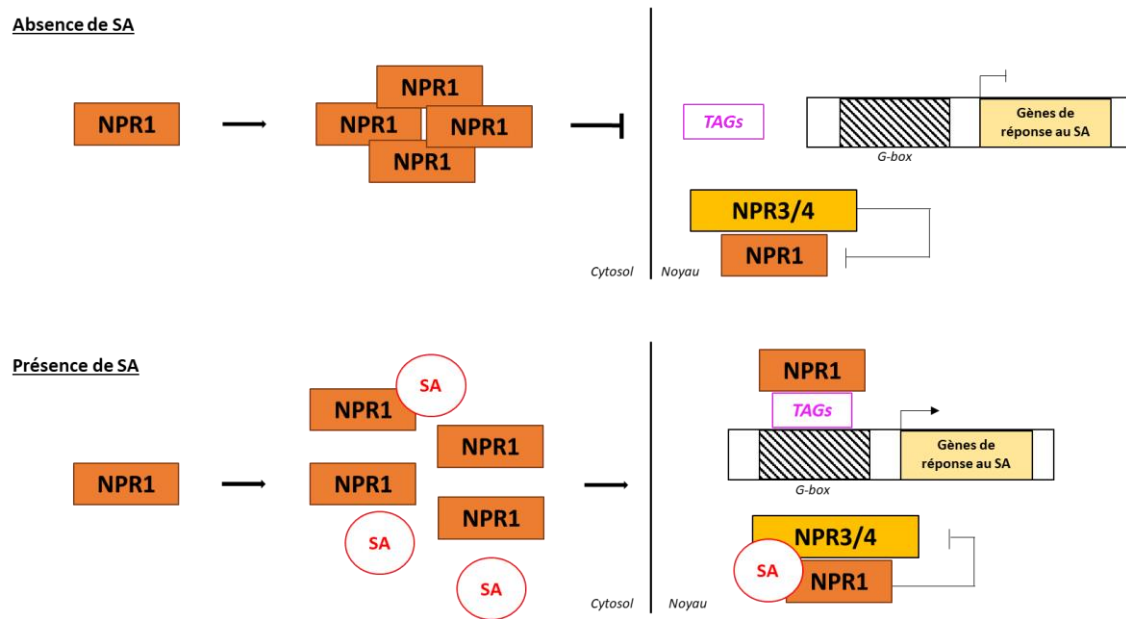
La première voie de biosynthèse du SA commence par la conversion de la L-phénylalanine en acide cinnamique par l'enzyme phénylalanine ammonia-lyase (PAL) (Chen et al., 2009; Lefevre et al., 2020). L'acide cinnamique est ensuite converti en SA de deux manières différentes. L'acide cinnamique peut être converti par l'intermédiaire de l'enzyme C4H (cinnamate-4-hydroxylase) en acide coumarique. Ce dernier subit plusieurs réactions d'oxydation et d'hydroxylation de sa chaîne latérale permettant la synthèse de SA (Per et al., 2017). L'acide cinnamique peut également être converti en acide benzoïque puis en SA grâce au gène codant la *BA2H* (*Benzoic Acid 2-Hydroxylase*) (Hara et al., 2012).

La seconde voie métabolique conduisant à la synthèse de SA débute par la transformation du chorismate en isochorismate par l'intermédiaire de l'isochorismate synthase (ICS) (Lefevre et al., 2020). L'isochorismate est ensuite converti en SA par le gène IPL (Isochorismate Pyruvate Lyase) (Hara et al., 2012). La régulation de la concentration du SA s'effectue par diverses réactions chimiques telle que la glycosylation par une SA-glycosyltransférase (SAGT) qui permet d'inactiver le SA. À l'inverse, sa réactivation est conduite par une glycosidase (Per et al., 2017; Li et al., 2019b). La méthylation de l'acide salicylique est catalysée par l'enzyme BA/SA carboxyl méthyltransférase 1 (BSMT), ce processus aboutit à la formation de salicylate de méthyle (MeSA) (Li et al., 2019b). Le MeSA est une molécule volatile qui fonctionne comme un signal systémique pour induire la SAR (Systemic Acquired Resistance).



**Figure 15.** Voie de biosynthèse de l'acide salicylique (SA). Abréviations : **ICS** : Isochorismate Synthase, **PAL** : Phenylalanine Ammonia-Lyase, **C4H** : Cinnamate-4-Hydroxylase, **IPL** : Isochorismate Pyruvate Lyase, **BA2H** : Benzoic Acid 2-Hydroxylase, **BSMT** : BA/SA Carboxyl Methyltransferase 1, **SAGT** : SA-Glycosyltransferase.

Une fois synthétisé, le SA sert de molécule signal dans la réponse de défense des plantes. En l'absence de stress, les niveaux de SA sont faibles et les protéines NPR1 (Nonexpressor of Pathogenesis-Related Genes 1) s'oligomérisent dans le cytosol ou se retrouvent bloquées dans le noyau par les protéines NPR3/4 (Li et al., 2019b). L'expression des gènes de défense est alors réprimée par les protéines réceptrices NPR3/4 qui agissent en tant que répresseurs des FTs TGA (TGACG-binding factor) (**Figure 16**) (Ding et al., 2018; Kazan, 2018). Ces FTs sont d'importants acteurs moléculaires qui régulent d'autres régulateurs transcriptionnels induits par le SA. En réponse à l'attaque d'un pathogène, le SA est rapidement produit et les protéines NPR1 se monomérisent. Le SA va se lier aux protéines NPR3/4 ce qui va inhiber leur activité de répression transcriptionnelle. Les protéines NPR1 peuvent former un complexe avec les FTs TGAs permettant ainsi l'expression des gènes de défense (Kazan, 2018; Li et al., 2019b).



**Figure 16.** Voie de signalisation de l'acide salicylique (SA). Abréviations : **NPR** : Nonexpressor of Pathogenesis-Related Genes, **TAG** : TGACG-Binding Factor.

### 1.5.11.2 Le rôle du salicylate dans la croissance des tiges

Le SA occupe une place centrale dans la défense des plantes, en particulier contre les agents phytopathogènes. Toutefois, il est important de noter que le SA peut également influencer le dépôt de lignine, renforçant ainsi les parois cellulaires et affectant la croissance radiale. Plusieurs études ont montré que l'application exogène de SA induisait une augmentation des niveaux de lignine chez plusieurs espèces végétales (Kováčik et al., 2009; Liu et al., 2023a).

Contrairement à des hormones telles que l'AUX, les GAs et l'éthylène, qui ont un rôle bien établi dans la promotion de l'élongation et de la croissance radiale des plantes, l'effet du SA sur la croissance dépend de divers facteurs, notamment de sa concentration par rapport aux autres phytohormones. Ainsi, le SA peut avoir un effet inhibiteur ou stimulateur sur la croissance des plantes (Li et al., 2022). Par exemple, une accumulation de SA peut entraîner une diminution des niveaux de GAs, conduisant ainsi à un phénotype nain sévère (Gallego-Giraldo et al., 2011). À l'inverse, l'application exogène de GAs conduit à une accumulation de SA qui favorise la croissance des plantules d'*Arabidopsis thaliana* (Alonso-Ramírez et al., 2009).

### 1.5.12 Le rôle de l'auxine, des cytokinines et des strigolactones dans le débourrement des bourgeons axillaires

La ramification des plantes est directement conditionnée par le débourrement des bourgeons axillaires, qui, lorsqu'ils sont activés, donnent naissance à de nouveaux axes (Rameau et al., 2015; Barbier et al., 2019). Plusieurs phytohormones, notamment l'AUX, les CKs et les SLs, jouent un rôle central dans la régulation de ce processus, mais leurs actions sont antagonistes. Dans un premier temps, l'AUX et les SLs inhibent le débourrement, tandis que les CKs favorisent l'activation des bourgeons axillaires en stimulant la division et l'élongation cellulaire (Gomez-Roldan et al., 2008; Brewer et al., 2009; Müller et al., 2015; Waters et al., 2017; Barbier et al., 2019; Rameau et al., 2019; Bertheloot et al., 2020; Beveridge et al., 2023).

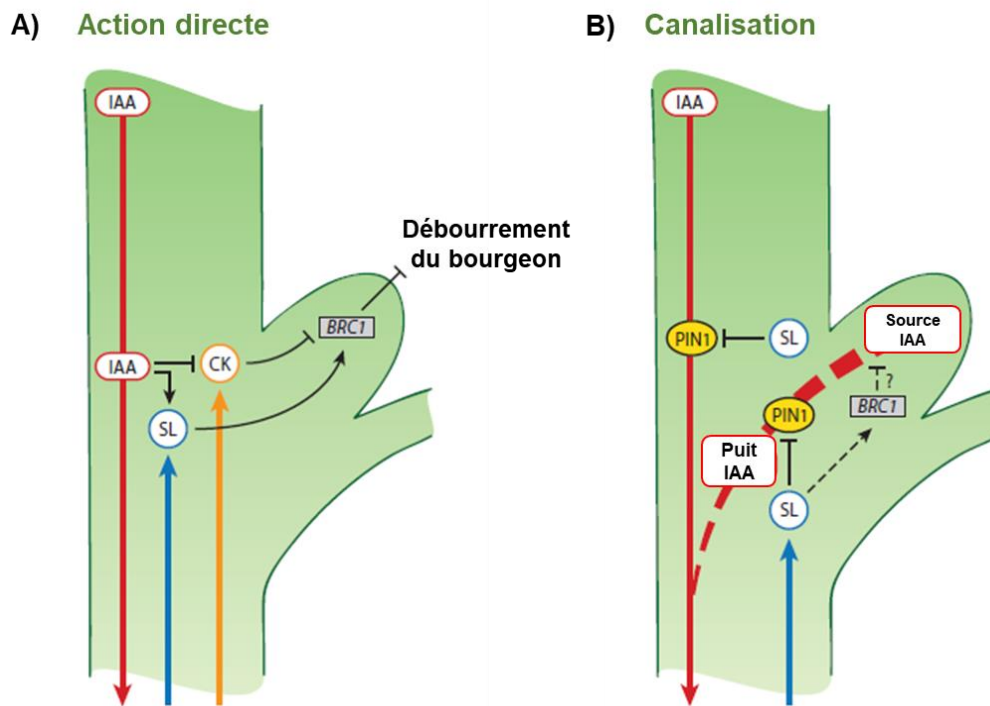
L'AUX, produite principalement dans les jeunes feuilles et l'apex des tiges principales, est transportée de manière basipète le long de la tige, et entraîne l'inhibition du débourrement des bourgeons axillaires situés en dessous. Toutefois, l'AUX est une hormone qui ne rentre pas directement dans les bourgeons axillaires pour inhiber leur développement, ainsi deux modèles ont été proposés pour expliquer son effet répressif sur le débourrement (**Figure 17**).

Le premier modèle, appelé modèle du "second messenger" ou modèle d'action directe, se fonde sur l'interaction entre l'AUX, les CKs et les SLs (**Figure 17A**) (Tanaka et al., 2006; Kieber and Schaller, 2018; Barbier et al., 2019). Selon ce modèle, l'auxine inhibe le débourrement en réprimant la synthèse des CKs et en stimulant la synthèse des SLs (Rameau et al., 2015; Waters et al., 2017; Bertheloot et al., 2020). Plusieurs études ont montré que l'application d'analogues de SLs sur les bourgeons latéraux inhibe le débourrement, tandis que l'ajout de CKs sur ces mêmes bourgeons, même en présence d'AUX, peut contrecarrer l'inhibition de la dominance apicale induite par l'auxine (Dun et al., 2012; Müller et al., 2015; Bertheloot et al., 2020). En outre, l'expression de *BRC1* peut être réprimée par les CKs et stimulée par les SLs (Waters et al., 2017).

Le second modèle repose sur la canalisation de l'AUX, principalement par la régulation de transport polarisé d'AUX, tels que les transporteurs d'efflux PIN (**Figure 17B**). Les SLs interviennent également dans cette régulation en réprimant l'action des transporteurs PIN, et chez certaines espèces en promouvant l'expression de *BRC1* (*BRANCHED 1*), un gène



impliqué dans l'inhibition du débourrement (Aguilar-Martínez et al., 2007; Brewer et al., 2009; Waters et al., 2017). Ainsi, la diminution du flux basipète d'AUX de la tige principale, induit par la décapitation de l'apex ou par l'arrêt de croissance des jeunes feuilles, permet l'établissement du transport polarisé d'AUX des bourgeons axillaires vers la tige principale, entraînant ainsi le débourrement. Par exemple, chez le rosier, le débourrement des bourgeons axillaires induit une forte expression des gènes codant les transporteurs PIN (Roman et al., 2016).



**Figure 17.** Modèles de la dominance apicale basée sur (A) le second messager et (B) la canalisation de l'auxine (D'après Waters et al., 2017). Abréviations : IAA : Acide Indole-3-acétique, BRC1 : Branched 1; CK : Cytokinine; SL : Strigolactone, PIN1 : PIN-Formed 1.

## 2. Des méthodes alternatives aux régulateurs de croissance pour la préservation de l'Environnement et de l'Homme

En raison des impacts négatifs des nanifiants sur la santé humaine et l'environnement, la recherche et le développement de méthodes alternatives aux nanifiants prennent de l'importance (Bergstrand, 2017; Sparke and Wünsche, 2020). La sélection variétale a permis d'obtenir des variétés plus compactes et ramifiées mais cette approche est coûteuse, longue et n'apporte pas toujours de solution pour les variétés présentes sur le marché (Chandler and Sanchez, 2012).

D'autres techniques existent et exploitent les réponses des plantes aux facteurs de l'environnement. Plusieurs travaux ont ainsi montré que l'élongation des tiges de différentes espèces cultivées, notamment ornementales, pouvait être contrôlée par la stimulation mécanique, les restrictions temporaires en eau et en éléments minéraux, la modulation de l'éclairage, de la température ou de la concentration en CO<sub>2</sub> (Mortensen and Moe, 1983; Mortensen, 1990; Hansen and Petersen, 2004; Alem et al., 2015; Bantis et al., 2018; Börnke and Rocks, 2018).

Dans cette thèse, nous nous sommes intéressés à l'effet de la stimulation mécanique et de la lumière sur le contrôle de la croissance des tiges chez *Hydrangea macrophylla*., aussi nous présentons ci-après une étude bibliographique portant sur ces deux facteurs.

### 2.1 Stimulation mécanique et thigmomorphogénèse

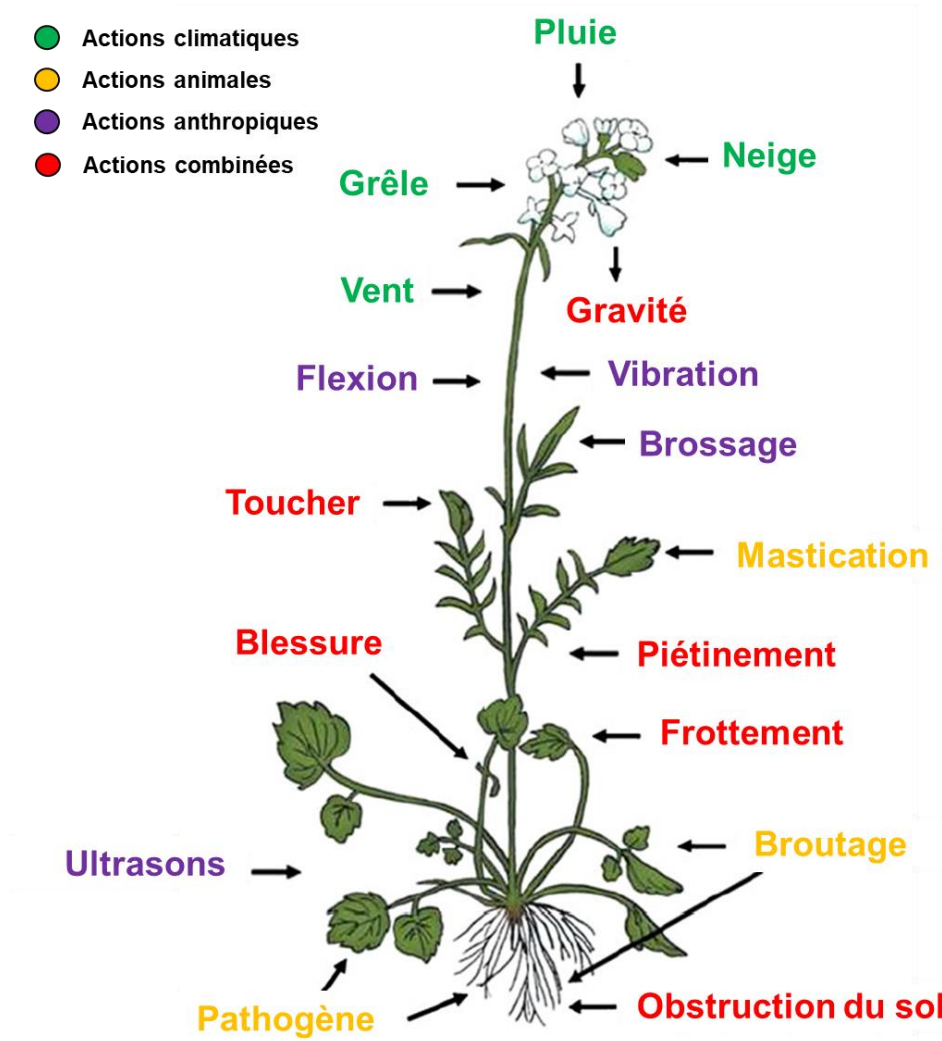
#### 2.1.1 Définition

La thigmomorphogénèse désigne l'ensemble des processus morphologiques et développementaux des plantes induits par un stimuli mécanique (Jaffe, 1973). Ce terme est formé à partir de trois éléments linguistiques grecs : "**thigmo**" vient du mot grec "*thígma*," qui signifie contact ou tactile, "**morpho**" provient de "*morphê*" qui signifie forme ou structure et "**genèse**" ou « *genesis* » en grec, qui désigne la formation ou le développement (Sparke and Wünsche, 2020).

La stimulation mécanique englobe l'ensemble des forces physiques et des actions mécaniques qui agissent sur les organismes végétaux. Ces stimuli peuvent avoir diverses origines, notamment climatique tels que le vent et la pluie, animal comme la mastication et

le broutage, ou encore anthropique telles que toucher ou les flexions, vibrations appliquées en culture (**Figure 18**) (Jaffe, 1973; Jaffe and Forbes, 1993; Li and Gong, 2011). L'ensemble de ces facteurs engendrent des contraintes mécaniques significatifs sur les caractéristiques physiologiques et architecturales des plantes (**Figure 18**) (Börnke and Rocks, 2018; Sparke and Wünsche, 2020). L'architecture des plantes se réfère à la disposition tridimensionnelle de leurs organes, et à leurs tailles, formes, textures, et couleurs (Teichmann and Muhr, 2015b). Chacun des organes joue un rôle spécifique dans la vie de la plante, et leur arrangement spatial est crucial pour son adaptation à un environnement en perpétuel changement (Braam, 2004; Leblanc-Fournier et al., 2014; Telewski, 2021).

Les plantes sont des organismes non mobiles qui, dans des conditions de contraintes mécaniques fortes, présentent des dommages tels que le déracinement, la rupture de la tige, la déchirure des feuilles, ce qui peut entraîner leur mort (de Langre, 2008; Gardiner et al., 2016). Ainsi, les plantes ont mis en place des mécanismes pour répondre et augmenter leur résistance aux contraintes mécaniques (Biddington, 1986; Braam, 2004; Chehab et al., 2008; Gardiner et al., 2016). Par exemple, en réponse à des vents forts, les plantes produisent des branches plus épaisses (Watt et al., 2005), des feuilles plus flexibles (Anten et al., 2010), un système racinaire plus dense et asymétrique (Tamasi et al., 2005) et une tige plus courte (Zhdanov et al., 2021). La perception d'un stress mécanique peut également induire la production de métabolites de défense, ce qui peut influencer la morphologie des organes tels que les feuilles et les tiges pour éviter l'herbivorie ou l'attaque d'agents phytopathogènes (Benikhlef et al., 2013). Le terme de thigmomorphogenèse se réfère à l'ensemble de ces modifications du développement végétal engendré par ces contraintes mécaniques.



**Figure 18.** Exemples de stimulations mécaniques retrouvées chez les plantes (D'après Li and Gong, 2011; Ghosh et al., 2021).

### 2.1.2 La stimulation mécanique en production végétale : approches, applications et considérations

En agriculture, de nombreux dispositifs et approches ont été développés pour réaliser des traitements de stimulation mécanique pour contrôler le développement en fonction des cultures (**Figure 19**). Au Japon, la technique dite du « mugifumi » consiste en le piétinement des plants de céréales afin de renforcer le développement du système racinaire, de limiter la croissance en hauteur, de favoriser le tallage, et par conséquent d'augmenter les rendements (Iida, 2014).



**Figure 19.** Quelques exemples de dispositifs et approches permettant de faire de la stimulation mécanique en production végétale. **A** : Bras mécanique équipé d'une bâche en plastique non frangée et utilisé sur des plantes ornementales (Börnke and Rocks, 2018) ; **B, D** : Charriot d'arrosage équipé d'une bâche en plastique frangée et d'une bande engluée jaune utilisé sur des arbustes ornementaux et jeunes plants (ASTREDHOR Sud-Ouest GIE Fleurs et Plantes, 2016) ; **C** : Bras mécanique équipé d'un tube en plastique utilisé sur des rosiers (Morel et al., 2012) ; **E** : Bras mécanique équipé de balais (Ferre, 2014) ; **F** : Dispositif de ventilation installé au-dessus de plants de tomates (Sparke et al., 2022) ; **G** : Rouleau utilisé manuellement sur une culture de blé (Si et al., 2019) ; **H** : Tracteur équipé d'un rouleau utilisé sur une culture de blé (Iida, 2004) ; **I** : Piétinement (mugifumi) réalisé par les agriculteurs sur une culture de blé (Iida, 2004).

En horticulture ornementale, certaines espèces sont fléchies ou brossées pour renforcer leurs tissus et pour maîtriser leur développement (Morel et al., 2012; Bergstrand et al., 2016; Crespel et al., 2018; Liu et al., 2023b). La méthode de stimulation mécanique la plus couramment employée en horticulture ornementale consiste en un passage répété d'un matériau (par exemple, une barre en bois, une bâche ou un tube en plastique) sur la partie aérienne des plantes dans le but de limiter leur croissance en hauteur (Börnke and Rocks, 2018). Cette forme de stimulation mécanique engendre des flexions symétriques lorsque le bras mécanique effectue un mouvement d'aller-retour, et des flexions asymétriques lorsqu'il se déplace dans une seule direction. En production végétale, les flexions symétriques sont largement privilégiées en raison de leur capacité à favoriser une croissance et un développement uniformes des plantes. À titre d'exemple, un bras mécanique motorisé équipé d'une toile de jute induit une réduction de l'élongation des tiges chez *Callistephus chinensis* et *Petunia* de 25% et 18%, respectivement (Autio et al., 1994). L'utilisation d'un filet en polyéthylène ou en plastique induit une réduction de l'élongation des tiges de 20% chez *Impatiens holstii* et *Pelargonium x hortorum* (Garner et al., 1997). Chez *Rosa hybrida*, un bras mécanique équipé d'un tube PVC réduit de 8% la longueur des métamères (Morel et al., 2012).

En plus de son efficacité, la stimulation mécanique présente l'avantage d'être simple à mettre en œuvre et ne requiert pas l'installation d'équipements onéreux (Morel et al., 2012; Bergstrand, 2017). Dans certains établissements agricoles et instituts de recherches techniques, les charriots d'arrosage préexistants sont équipés de différents matériaux afin d'appliquer en parallèle de l'arrosage, une stimulation mécanique (Ferre, 2014; Maugin and Ferre, 2018). La stimulation mécanique peut être couplée avec le piégeage des insectes au moyen de bandes engluées (**Figure 19D**). Cette stratégie conjointe favorise à la fois la protection des cultures contre les ravageurs et la préservation de l'environnement grâce à une réduction de l'usage de produits phytosanitaires. Des tables vibrantes et des dispositifs de ventilation mimant le vent, ont aussi été testés avec succès en horticulture ornementale (Börnke and Rocks, 2018; Sparke et al., 2022).

Le choix du dispositif est un élément critique pour éviter les effets néfastes sur le développement des végétaux et dépend de la plante (Börnke and Rocks, 2018). En effet, une application excessive ou inappropriée de la stimulation mécanique peut entraîner des dommages significatifs tels qu'une distorsion des feuilles, un port prostré, ou un déracinement des plantes (Garner et al., 1997). Par conséquent, une évaluation minutieuse

des exigences spécifiques des espèces végétales, ainsi qu'une prise en considération des divers paramètres tels que le stade de développement, les conditions environnementales et les modalités de mise en œuvre de la stimulation mécanique (type de matériaux, durée et période d'application des traitements), s'imposent en vue d'assurer une exécution adéquate de cette méthode en production végétale.

### 2.1.3 Les réponses induites par la stimulation mécanique

#### 2.1.3.1 Les réponses à l'échelle morphologique

Les réponses induites par la stimulation mécanique sont principalement caractérisées par la diminution de l'élongation des tiges et l'augmentation du diamètre de celles-ci. Ce phénotype particulier entraîne la formation de plantes plus compactes, ce qui se traduit par une amélioration de leur résistance aux contraintes mécaniques, tout en préservant leur posture verticale. Les réponses peuvent varier selon le génotype et de la nature ligneuse ou herbacée des espèces végétales et la fréquence des stimulations (Bonnesoeur et al., 2016; Gardiner et al., 2016). Les travaux conduits chez l'orme (*Ulmus americana*) ont montré que cette espèce ligneuse est plus sensible à peu de flexions qu'à des contraintes de flexions plus importantes (Telewski and Pruyn, 1998). Chez de nombreuses espèces herbacées à faible croissance secondaire, telles que le tournesol (Smith and Ennos, 2003), et *Arabidopsis thaliana* (Paul-Victor and Rowe, 2011), les contraintes mécaniques symétriques impactent peu la croissance radiale des tiges. La stimulation mécanique peut parfois provoquer une augmentation de la ramification et une réduction de la surface foliaire (Vernieri et al., 2003; Morel et al., 2012). L'ensemble de ces réponses thigmomorphogénétiques coïncident avec l'objectif des horticulteurs qui est d'accroître la compacité des plantes produites (Andersen and Andersen, 2000). De plus, l'application de la stimulation mécanique sur de jeunes plants peut renforcer leurs tiges, augmentant ainsi leur résistance aux stress lors de la transplantation (Biddington, 1986; Latimer, 1991).

L'effet de contraintes mécaniques symétriques peut également avoir des effets sur la phase reproductive des plantes. Les travaux de Jędrzejuk et al. (2020) ont montré chez le pétunia (*Petunia x atkinsiana* 'Dark Red') que la stimulation mécanique de la partie aérienne des plantes stimulait la production de fleurs. Inversement, elle réduit significativement le nombre de fleurs chez *Capsicum annum* (Graham and Wheeler, 2017). Ces exemples illustrent bien que les réponses à la stimulation mécanique peuvent considérablement varier d'une espèce végétale à l'autre, mais aussi que la stimulation mécanique peut impacter d'autres processus que la croissance des tiges, important comme la floraison pour des espèces d'ornement. Il est donc important d'étudier les réponses sur tout le cycle de développement de la plante avant d'introduire ce procédé en production.



### **2.1.3.2 Les réponses à l'échelle tissulaire et cellulaire**

Des études ont montré que l'expansion radiale observée dans les tiges de plantes stimulées mécaniquement est liée à l'augmentation du nombre de cellules de xylème secondaire, ainsi qu'à l'expansion et à la multiplication des cellules du parenchyme cortical et médullaire (Boyer et al., 1979; Biro et al., 1980). D'autres travaux ont également montré que les plantes stimulées mécaniquement présentaient une accumulation de lignine dans leurs parois cellulaires secondaires, ce qui accroissait la rigidité de leurs tiges (De Jaegher et al., 1985; Cipollini, 1997; Ishihara et al., 2017; Gladala-Kostarz et al., 2020). Ainsi, chez de jeunes plants de tomates, l'inhibition de l'élongation des entre-nœuds, fléchis de manière symétrique, est liée à l'accumulation de lignine dans les tissus (Saidi et al., 2009).

La stimulation mécanique stimule donc la xylogénèse, formation du xylème secondaire ou du « bois », qui est composée de 4 étapes : la division cellulaire, l'expansion cellulaire, la synthèse de la paroi secondaire et la mort cellulaire programmée des éléments conducteurs (Mellerowicz et al., 2001). Des études ont mis en évidence chez certaines espèces ligneuses, telles que *Pinus* et *Populus*, la formation d'un type de bois appelé bois de flexion (Flexure Wood ; FW) en réponse à des flexions symétriques temporaires appliquées aux tiges (Telewski, 1989). Ce bois de flexion représente une réponse adaptative des plantes pour résister à la rupture mécanique et maintenir la verticalité de la plante (Telewski, 2016; Roignant et al., 2018; Niklas and Telewski, 2022). Il est essentiel de noter que le FW se distingue du bois de tension (Tension Wood ; TW) des angiospermes, ainsi que du bois de compression (Compression Wood ; CW) des gymnospermes. Ces deux derniers types de bois se forment dans des organes en réponse à des contraintes gravitropiques et à des flexions asymétriques transitoires. Néanmoins, le FW partage certaines similitudes avec ces deux types de bois. Par exemple, le FW, tout comme le TW, présente un ratio élevé d'unités de lignine syringyl/guaiacyl (S/G), qui sont les principales composantes de la lignine chez les angiospermes, par rapport au bois « normal » (Sultana et al., 2010; Pramod et al., 2013; Gardiner et al., 2014). De plus, comme le CW, le FW se caractérise par des parois cellulaires épaisses (Telewski, 2016).

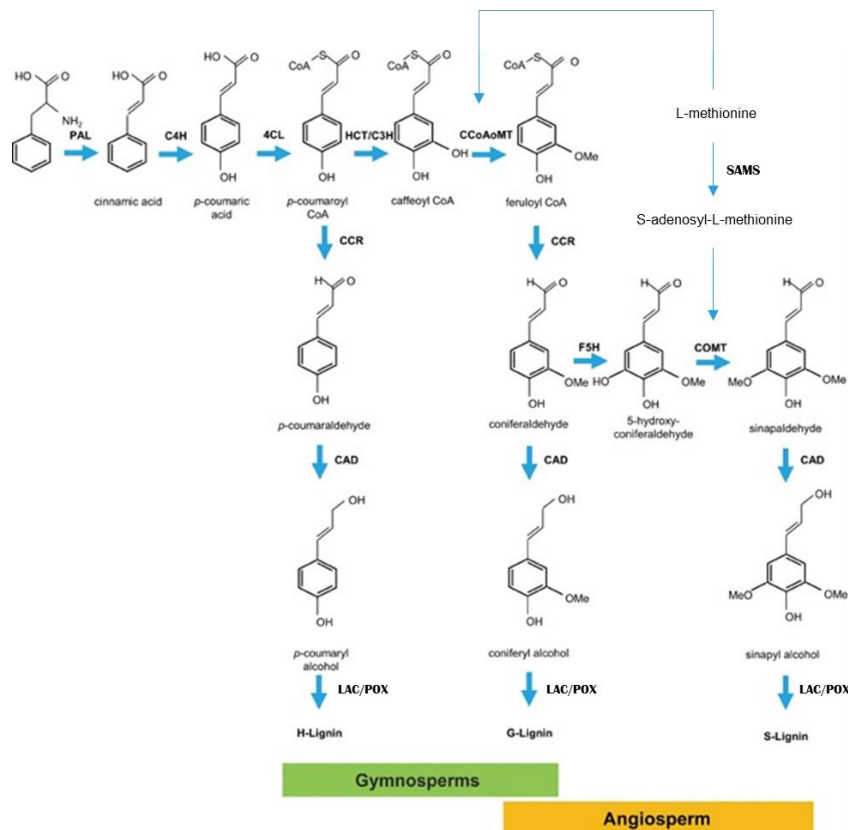
### 2.1.3.3 Les réponses à l'échelle moléculaire

Les réponses précoces liées à la perception de la stimulation mécanique impliquent différentes protéines telles que les calmodulines (CaM) et les protéines calmodulin-like (CML) (Chehab et al., 2008; Telewski, 2021). Chez *Arabidopsis*, en réponse au vent, à la pluie et au toucher, l'augmentation de la concentration intracellulaire de  $Ca^{2+}$  va rapidement induire l'expression des gènes *CaM* et *CML* dans la plante entière (Braam and Davis, 1990). De plus, les auteurs ont montré que l'inhibition de l'élongation de la tige est corrélée à la surexpression de ces gènes. Les travaux de Lee et al. (2004) ont montré chez *Arabidopsis* que 12 gènes codant des protéines CML étaient rapidement exprimés en réponse à des flexions symétriques. Certaines de ces CML codent pour des gènes *TCH* (*TOUCH*) qui ont été identifiés chez *Arabidopsis* en réponse au vent et au toucher (Braam and Davis, 1990). En effet, le gène *TCH1* code pour une CaM2, et les gènes *TCH2* et *TCH3* codent pour une CML24 et une CML12, respectivement (Braam and Davis, 1990; Lee et al., 2004; Chehab et al., 2008).

L'épaississement des tiges observé chez les plantes mécaniquement stimulées est liée à l'activité cambiale qui est stimulée et conduit à la production de davantage des tissus vasculaires secondaires. La division des cellules cambiales fait intervenir différents gènes tels que les *CYC*, les *CDC* et les *CDK* (Hertzberg et al., 2001). Chez le peuplier, l'application d'une flexion transitoire ou de 2 flexions consécutives sur la tige suffit à induire l'expression de certains gènes tels que *PtCDC23* et des protéines like-cyclins A (Pomiès et al., 2017).

La contrainte mécanique induit la synthèse de davantage de lignine constituant des parois des cellules du xylème (Mellerowicz et al., 2001). La lignine est un polymère dont les 3 unités de base, p-hydroxyphényl (H), guaiacyl (G) et syringyle (S), sont respectivement synthétisées à partir de 3 monolignols : l'alcool p-coumarylique, l'alcool conférilique et l'alcool sinapylique (Cabane et al., 2012). Ainsi, l'augmentation du contenu en lignine dans les plantes mécaniquement stimulées peut être corrélé avec l'augmentation de l'activité de certaines enzymes impliquées dans la voie de biosynthèse des phénylpropanoïdes, tels que POX, CAD, PAL, SAMS, CCR et LAC (**Figure 20**) (De Jaeger et al., 1985; Hertzberg et al., 2001; Saidi et al., 2009; Pomiès et al., 2017; Jędrzejuk et al., 2020). En effet, la voie de biosynthèse de la lignine est l'une des principales branches de la voie des phénylpropanoïdes (Dong and Lin, 2021). Certains auteurs considèrent que certaines de ces enzymes telles que la PAL et la CAD sont des marqueurs de la xylogénèse

(Damiani et al., 2005). Les POX sont des enzymes multifonctionnelles qui, en présence de peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), peuvent catalyser l'oxydation de divers composés organiques tels que des précurseurs de la lignine et des métabolites secondaires appartenant à la voie de biosynthèse des phénylpropanoïdes (Passardi et al., 2004). Le  $H_2O_2$  appartient à la famille des ROS et est rapidement produit dans les tissus mécaniquement stimulés suite à l'augmentation de la concentration intracellulaire de  $Ca^{2+}$  (Telewski, 2021).



**Figure 20.** Voie de biosynthèse de la lignine (D'après Yoon et al., 2015). **Abréviations :** **H-Lignin** : p-Hydroxyphenyl, **G-Lignin** : Guaiacyl, **S-Lignin** : Syringyle, **C4H** : Cinnamic acid 4-Hydroxylase, **4CL** : 4-Coumarate-coenzyme A ligase, **COMT** : Caffeic acid O-Methyltransferase, **CCoAoMT** : Caffeoyl Coenzyme A 3-O-methyltransferase 1, **HCT/C3H** : Hydroxycinnamoyl-CoA: shikimate hydroxycinnamoyl Transferase/p-Coumarate 3-Hydroxylase, **F5H** : Ferulate 5-Hydroxylase, **POX** : Peroxydases, **CAD** : Cinnamyl Alcohol Dehydrogenase, **PAL** : Phenylalanine Ammonia-Lyase, **SAMS** : S-Adenosyl Methionine Synthetase, **CCR** : Cinnamoyl-CoA Reductase, **LAC** : Laccases.

À travers le contrôle de la disponibilité en  $H_2O_2$  dans les parois végétales, l'élongation cellulaire va être modulée par différentes enzymes telles que les POX, les XET/XTH, les EXT et les PE (Brownleader et al., 2000; Passardi et al., 2004). En effet, l'activité de ces enzymes va induire le relâchement, le clivage et l'assemblage de polymères sur la paroi

cellulaire (Cosgrove, 2018b). Les XET/XTHs catalysent spécifiquement le clivage endolytique et la religature des chaînes de xyloglucanes et sont particulièrement induites dans les zones d'élongation cellulaire (Rose et al., 2002). L'augmentation de l'expression de certaines isoformes de XET/XTH est observée au cours de l'élongation et du renforcement de la paroi cellulaire mais également lors du développement des tissus vasculaires primaires et secondaires (Cosgrove, 2005; Kushwah et al., 2020).

Plusieurs travaux ont montré qu'un stress mécanique appliqué sur des plantules d'*Arabidopsis* et sur peuplier induisait l'expression de certaines XET/XTH (Antosiewicz et al., 1997; Lee et al., 2004; Martin et al., 2014). Chez *Arabidopsis*, le gène *TCH4* code pour une XTH22 (Xu et al., 1995). Les travaux de Wu et al. (2020) ont montré que chez de jeunes plantules d'*Arabidopsis*, une polygalacturonase spécifique (PGX3), une enzyme appartenant à la famille des pectinases, était sous-réglée en réponse au toucher.

D'autres protéines, cette fois-ci non enzymatiques telles que les EXP, sont également impliquées dans le relâchement et l'extension pariétal et sont exprimées chez le peuplier en réponse à une flexion transitoire et deux flexions répétées (Pomiès et al., 2017). Consécutives à la division et l'expansion cellulaire, la synthèse de la paroi secondaire fait intervenir plusieurs protéines afin de maintenir l'intégrité cellulaire. Des travaux ont montré que les gènes codant pour des AGPs (Arabinogalactan proteins) spécifiques, les protéines FLA (Fasciclin-Like Arabinogalactan-protein), sont surexprimés durant la formation de bois de tension ; ce phénomène est aussi observé chez certaines espèces végétales en réponse à une contrainte gravitropique (Lafarguette et al., 2004; Ma et al., 2022). D'autres protéines telles que les CESA peuvent également être impliquées dans la synthèse de cellulose dans le bois de tension induit par des flexions d'une portion de tige (Wu et al., 2000).

#### 2.1.3.4 Les réponses hormonales

La stimulation mécanique altère l'équilibre hormonal des plantes et induit différentes réponses en fonction des génotypes (Sparke and Wünsche, 2020). Plusieurs phytohormones telles que JA, AUX, GAs, BRs, ABA et l'éthylène interviennent dans la réponse des plantes à la stimulation mécanique (Chehab et al., 2008; Telewski, 2021; Brenya et al., 2022).

En réponse à un stress mécanique, la production d'hormones de défense telles que l'ABA et l'éthylène est rapidement induite. Cette réponse s'explique par le fait que la plante perçoit le stress mécanique de manière similaire à une contrainte biotique, tels que le

passage des animaux ou l'attaque d'agents phytopathogènes (Chehab et al., 2008; Telewski, 2021; Brenya et al., 2022). Chez de jeunes plants de haricot et de riz, l'accumulation d'ABA en réponse à une stimulation mécanique a été observée (Jeong and Ota, 1980; Erner and Jaffe, 1982). De plus, l'application exogène d'ABA induit un ralentissement de la croissance et un phénotype similaire à ceux observés en réponse à la stimulation mécanique (Erner and Jaffe, 1982).

Plusieurs études ont également montré l'implication de l'éthylène dans les réponses thigmomorphogénétiques (Telewski, 1990; Emery et al., 1994). Par exemple, le brossage des entre-nœuds d'haricot avec deux doigts, ainsi que les flexions symétriques sur *Arabidopsis thaliana*, stimulent l'activité enzymatique et l'expression de l'*ACS* (*ACC synthase*) qui est impliquée dans la dernière étape de la voie de biosynthèse de l'éthylène (Biro and Jaffe, 1984; Arteca and Arteca, 1999). Toutefois, les travaux de Johnson et al. (1998) ont montré que l'éthylène n'est pas une hormone essentielle pour l'induction des réponses thigmomorphogénétiques.

Les travaux menés par Arteca et Arteca (2008) ont démontré, chez *Arabidopsis*, que l'application conjointe de brassinolide, une forme prédominante de BRs, avec de l'acide indolacétique (IAA), entraînait une augmentation significative de la production d'éthylène. Cette augmentation s'est avérée plus marquée que celle observée lorsque l'IAA était appliqué seul. Ces résultats suggèrent une interaction entre les BRs et l'IAA qui pourrait être impliquée dans le ralentissement de la croissance des plantes en réponse à la stimulation mécanique.

Le stress mécanique inhibe l'élongation cellulaire ce qui produit un phénotype semblable à celui de plantes mutantes déficientes en GAs (Eriksson et al., 2000). Chez des plantules d'*Arabidopsis* fléchies de haut en bas 10 fois par jour, le phénotype nain observé est corrélé à la diminution des teneurs en GAs induite par l'augmentation de l'expression de gènes impliqués dans le catabolisme des GAs tels que les *GA2ox* et *RGL3* (Lange and Lange, 2015).

### **2.1.3.5 La mémoire des plantes à la stimulation mécanique**

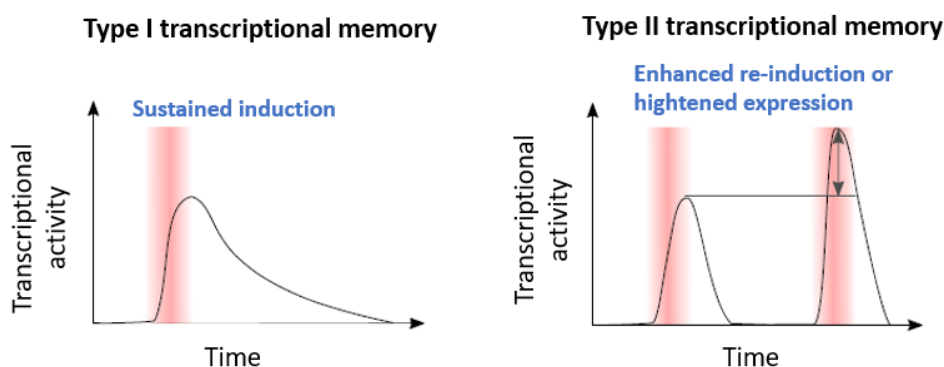
Un aspect important à souligner dans les réponses thigmomorphogénétiques est la variation de sensibilité des plantes face à des stress mécaniques répétés (Morel et al., 2012). De nombreux travaux ont révélé l'importance de la fréquence et de la période de stimulation pour obtenir des réponses optimales et prolongées de réduction de croissance (Morel et al., 2012; Börnke and Rocks, 2018; Maugin and Ferre, 2018). Par exemple, les travaux de Telewski et Pruyn (1998) ont démontré que la croissance en hauteur de jeunes plants d'orme diminuait exponentiellement avec l'augmentation du nombre de flexions. En outre, Garner and Björkman (1996) ont montré que la tomate répondait plus fortement à un stress mécanique appliqué en début de journée plutôt qu'en fin d'après-midi.

Les travaux de Martin et al. (2010) ont révélé que de jeunes plantes de peuplier recevant 2 flexions asymétriques finissaient par perdre la sensibilité au stress mécanique. En effet, alors qu'une seule flexion de la tige suffit à augmenter de manière significative sa croissance radiale, lorsqu'une deuxième flexion est appliquée 4 ou 7 jours après la première flexion, la croissance radiale qui suit est beaucoup moins marquée qu'après la première flexion. On parle alors de désensibilisation du système de perception des plantes qui semblent s'acclimater au stress mécanique. Lorsque la deuxième flexion est appliquée 10 ou 14 jours après la première flexion, la croissance radiale devient similaire voire supérieure à celle observée après la première flexion. Ces résultats démontrent que les jeunes peupliers ont besoin d'une période d'au moins 5 jours pour retrouver leurs capacités de perception et de réponse maximales au stress mécanique.

La désensibilisation des plantes à une deuxième flexion trop rapprochée dans le temps d'une première flexion, traduit l'existence d'une sorte de mémoire qualifiée de « stress imprint » (Bruce et al., 2007). Il existe 2 types de mémoire : (1) la mémoire de stress somatique qui est induite suite à un stress dont les régulations transcriptionnelles sont héréditaires à travers les divisions cellulaires au cours du cycle de vie d'une plante et (2) la mémoire de stress inter-/trans-générationnelle qui traduit la transmission des régulations transcriptionnelles et des réponses d'acclimatation à au moins 2 générations successives de plantes (Lämke and Bäurle, 2017; Oberkofler et al., 2021; Brenya et al., 2022).

Les régulations transcriptionnelles induites par la stimulation mécanique sont de 2 sortes (**Figure 21**). Le premier type correspond à la répression ou à l'activation d'un gène en réponse à un court stimulus dont la durée de modulation du gène est supérieure à la durée

de stress. Le deuxième type correspond à une ré-induction plus rapide de l'expression d'un gène suite à un second stress (Oberkofler et al., 2021; Brenya et al., 2022). Dans une récente étude, Brenya et al. (2020), ont montré que le brossage de plantules d'*Arabidopsis thaliana* âgées de 10 jours sur une période de 7 jours induisait des changements phénotypiques et transcriptionnels durables qui renforçaient la résistance des plantes aux infections causées par les agents pathogènes nécrotrophes *Alternaria brassicicola* et *Botrytis cinerea*. Ces réponses étaient caractérisées par l'activation de mécanismes de résistance au stress, tels que l'accumulation de JA, la formation de callose et l'activation de mécanismes de détoxification cellulaire, ainsi que par l'établissement d'une mémoire transcriptionnelle. En conséquence, les plantules ayant subi un stress mécanique présentaient une réduction plus marquée de la progression de la maladie par rapport à celles qui n'avaient pas été soumises à un stress mécanique. Ces réponses au stress mécanique étaient donc capables de persister au-delà de la période de stimulation, favorisant ainsi la préparation de la plante en prévision de futurs stress.



**Figure 21.** Types de régulations transcriptionnelles observées suite à un ou plusieurs stimuli mécanique (D'après Oberkofler et al., 2021).

Les plantes s'adaptent aux conditions environnementales fluctuantes par différents mécanismes. Le premier mécanisme qui permet aux plantes de mémoriser un stress à court terme (par exemple plusieurs flexions durant plusieurs secondes/minutes) est l'accumulation de protéines ou de facteurs de transcription et l'expression de certains gènes (Chehab et al., 2008; Brenya et al., 2020; Telewski, 2021). L'accumulation d'ions  $\text{Ca}^{2+}$  dans une cellule suite à un stress mécanique induit une cascade de phosphorylation et la synthèse de ROS suivie par l'accumulation de protéines de piégeage des ROS (Boyer et al., 1979; Telewski, 2021). L'activation des canaux calciques par les ROS va alors permettre

l'induction des mécanismes de signalisation hormonale et l'expression de gènes permettant de moduler les réponses physiologiques en réponse au stress (Mori and Schroeder, 2004).

Le second mécanisme participe à la mémoire d'un stress à long terme (par exemple plusieurs flexions durant plusieurs jours/semaines) et correspond à des changements épigénétiques tels que la méthylation de l'ADN, la modification des histones ou le remodelage de la chromatine (Chinnusamy and Zhu, 2009). La chromatine correspond à l'association de l'ADN et d'un octamère d'histones (H2A, H2B, H3 et H4) organisées en paires dont l'état de condensation est réversible au cours du cycle cellulaire (Luger, 1997; Radman-Livaja and Rando, 2010). Les modifications épigénétiques sont des mécanismes qui permettent de réguler la structure et l'état de compaction de la chromatine (Mauch-Mani et al., 2017). Lorsqu'elle est décondensée, l'ADN est accessible aux facteurs de transcription et autres protéines nucléaires, on parle d'euchromatine. À l'inverse, lorsque la chromatine est condensée, on parle d'hétérochromatine, moins accessible à la régulation transcriptionnelle (Radman-Livaja and Rando, 2010; Bhadouriya et al., 2021).

Jusqu'à présent, très peu d'études ont été menées pour explorer les mécanismes de régulation épigénétique en réponse à une stimulation mécanique. Les travaux menés chez *Arabidopsis* ont montré que l'expression des gènes *SDG8* (*SET DOMAIN GROUP 8*) et *VIP3* (*VERNALIZATION INDEPENDENCE 3*) était nécessaire à la mise en place des réponses thigmomorphogénétiques car leur mutation engendrait des réponses perturbées (Cazzonelli et al., 2014; Jensen et al., 2016). Le gène *SDG8*, qui code une histone méthyltransférase (HMT), régule l'expression de 10% des gènes mécaniquement inductibles (Cazzonelli et al., 2014). Le gène *VIP3*, qui code pour une partie du complexe du facteur 1 associé à l'ARN polymérase II (Paf1), permet d'induire l'expression des gènes *TCH3* et *TCH4* qui sont spécifiquement sur-exprimés en réponse à la contrainte mécanique (Jensen et al., 2016). Les gènes *SDG8* et *VIP3* sont tous deux requis pour le maintien de la triméthylation de l'histone H3 (H3K4me3 et H3K36me3), une des protéines majeures de la chromatine, et qui est associée à l'activation de l'expression de certains gènes en réponse à des conditions environnementales perturbantes (Cazzonelli et al., 2009; Song et al., 2013; Li et al., 2015; Jensen et al., 2016; Lämke and Bäurle, 2017). Récemment, les travaux de Jung et al. (2020) ont montré chez *A. thaliana* que certaines vibrations sonores provoquaient une augmentation significative de la triméthylation (H3K27me3) de l'ADN ainsi qu'une amplification de la signalisation des CKs. Cette contrainte mécanique induisait aussi l'expression de gènes associés à la synthèse de métabolites secondaires et au renforcement



pariétal tels que les laccases impliquées dans la synthèse de lignine. Il est suggéré que ces réponses permettraient le renforcement de la résistance des plantes face à *Ralstonia solanacearum*, un pathogène racinaire.

Certaines études ont montré que les réponses d'acclimatation des plantes au stress mécanique liaient modifications épigénétiques et balance hormonale (Yamamuro et al., 2016; Maury et al., 2019). Par exemple, les FTs *MYC2/3/4* et *COII*, qui sont requis dans la signalisation jasmonique au cours de la thigmomorphogenèse, sont régulés par des histones désacétylases (HDACs) qui sont elles-mêmes requises dans la signalisation JA/éthylène (Chehab et al., 2012; Van Moerkercke et al., 2019).

Encore peu de choses sont connues sur la mémoire des plantes au stress mécanique. Dans un contexte où les conditions environnementales connaissent des évolutions constantes, la compréhension approfondie de ces mécanismes de mémorisation joue un rôle essentiel dans le développement de stratégies de protection des plantes plus efficaces, favorisant ainsi le développement d'une agriculture durable.

## 2.2 Lumière et photomorphogenèse

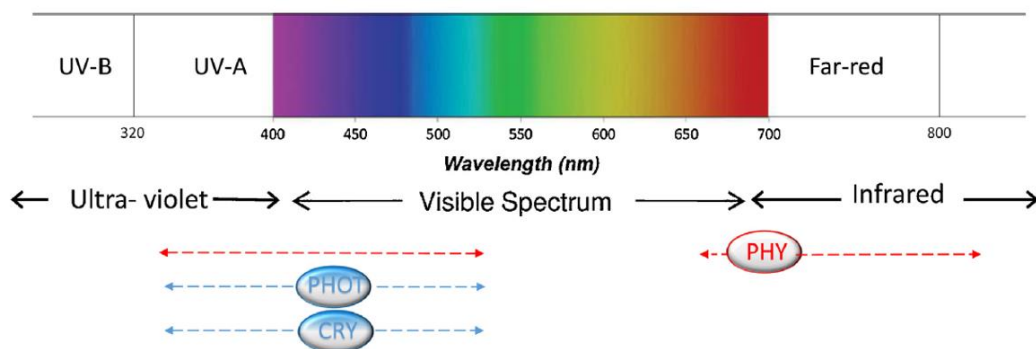
### 2.2.1 Perception de la lumière par les plantes

Il existe 2 types de lumière qui permettent de moduler la croissance et le développement des plantes : la lumière **photosynthétique** et la lumière **photosignalétique** (photomorphogénétique).

La lumière photosynthétique permet la photosynthèse et perçue par les pigments photosynthétiques que sont les chlorophylles et les carotènes. Ces pigments convertissent l'énergie lumineuse en énergie chimique à partir des longueurs d'ondes situées entre 400 et 700 nm qui constituent les radiations photosynthétiquement actives (PAR). Les pics d'absorption des chlorophylles et des carotènes se situent principalement dans la lumière bleue (400-500 nm) et dans la lumière rouge clair (Rc ; 600-700 nm) (Huché-Thélier et al., 2016; Park and Runkle, 2019).

La lumière photosignalétique que les plantes vont percevoir va intervenir dans les processus de croissance et de développement, il s'agit de la photomorphogenèse (Kendrick and Kronenberg, 1994; Casal, 2013). Grâce à des récepteurs spécifiques, les plantes vont percevoir certaines longueurs d'ondes lumineuses, on parle de radiations morphogénétiquement actives (MAR) qui sont comprises entre 280 nm et 730 nm (Kami et al., 2010; Casal, 2013; Huché-Thélier et al., 2016). Le spectre lumineux constituant le MAR est composé du PAR (400-700 nm), des ultraviolets (100-400 nm) et de la lumière rouge sombre, (Rs ; 700-800 nm) (**Figure 22**) (Huché-Thélier et al., 2016; Park and Runkle, 2019).

Il existe 3 grandes familles de photorécepteurs qui absorbent les rayons lumineux dans des régions spécifiques : les cryptochromes (CRY) et les phototropines (PHOT) vont percevoir les ultraviolets A et la lumière bleue, et les phytochromes (PHY) vont percevoir les lumières Rs et Rc (**Figure 22**). Les récepteurs PHY existent sous deux formes : la forme Pr inactive absorbe la lumière Rc et la forme Pfr active absorbe la lumière Rs. L'ensemble de ces photorécepteurs permettent aux plantes de mesurer la quantité, la qualité, la direction et la périodicité de la lumière, contribuant à adapter leurs croissance et développement aux conditions de leur environnement lumineux (Casal, 2013; Rameau et al., 2015; Crespel et al., 2020).



**Figure 20.** Spectre lumineux constituant les radiations photosynthétiquement actives (PAR) et les radiations morphogénétiquement actives (MAR) (D'après Huché-Théliet et al., 2016). Abréviations : **UV-B** : Ultraviolets B, **UV-A** : Ultraviolets A, **PHY** : Phytochromes, **PHOT** : Phototropines, **CRY** : Cryptochromes.

Dans des conditions environnementales optimales, les plantes absorbent la majeure partie de la lumière Rc et de la lumière bleue pour leur photosynthèse, tout en transmettant et en réfléchissant la plus grande partie de la lumière Rs (Franklin and Whitlam, 2005; Casal, 2013; Pierik and de Wit, 2014). Plusieurs travaux ont ainsi montré l'importance des photorécepteurs dans la perception de la qualité lumineuse dans le développement des organes et la régulation de la ramification (Cerny et al., 2003; Girault et al., 2008; Leduc et al., 2014; Xue et al., 2020).

Les photorécepteurs jouent un rôle majeur pour détecter les variations de lumière de leur environnement (Kami et al., 2010; Yang and Li, 2017). Par exemple, les plantes évoluant dans un environnement où la densité de végétaux est élevée forment un couvert végétal qui réduit l'intensité du PAR, et par conséquent la quantité de lumière bleue et le ratio lumineux Rc/Rs perçue par les plantes situées en dessous de la canopée. Ces dernières perçoivent ainsi moins de rayonnement photosynthétiquement actif ce qui affecte leur croissance et leur développement. Les principales réponses phénotypiques et physiologiques sont l'étiollement des tiges et des pétioles, l'hyponastie des feuilles qui visent à aller chercher la lumière plus haut dans la canopée, une réduction de la ramification et une accélération de l'induction de la floraison et des processus de senescence (Pedmale et al., 2010; Pierik and de Wit, 2014; Yang and Li, 2017; Liu et al., 2021b). Le syndrome d'évitement de l'ombre (Shade Avoidance Syndrome ; SAS) englobe l'ensemble de ces réponses adaptatives (Franklin, 2008; Casal, 2012). Le SAS est principalement influencé par l'activité des photorécepteurs, en particulier par l'interconversion entre les deux formes de phytochromes (Liu et al.,

2021b). L'inactivation de la forme active Pfr de PHYB en raison d'une forte exposition à la lumière Rs et l'atténuation de la signalisation induite par les photorécepteurs CRY sont des éléments clés déclenchant le SAS (Casal, 2013; Wang et al., 2019). Ensemble, ils contribuent notamment à la réduction de la ramification observée chez les plantes en situation de SAS. Une étude récente a mis en évidence que l'inactivation de PHYB ou des déficiences en PHYB ou CRY1 inhibaient la croissance des bourgeons axillaires et conduisaient à une diminution de l'accumulation des protéines HY5 (Long Hypocotyl 5), des régulateurs positifs de la signalisation lumineuse chez les plantes, ainsi qu'à l'augmentation des niveaux de transcription du gène *BRC1* (*Branched 1*) dont l'expression inhibe les processus de ramification (Dong et al., 2023).

### 2.2.2 La modulation de la lumière en production végétale : approches, applications et considérations

Les connaissances fondamentales acquises sur la photomorphogenèse sont largement utilisées en production végétale et permettent notamment de contrôler efficacement l'élongation et la ramification des tiges de certaines plantes cultivées (Demotes-Mainard et al., 2016; Huché-Thélier et al., 2016). La modulation de l'éclairage en production peut s'opérer de différentes manières. L'augmentation de la densité du couvert végétal entraînant le SAS est une méthode efficace pour stimuler l'élongation des tiges. Inversement, pour rendre les plantes plus compactes, les producteurs utilisent le distançage pour éviter l'étiollement. Toutefois, cela n'est souvent pas suffisant et d'autres méthodes sont nécessaires pour réduire la longueur des tiges notamment en utilisant un éclairage artificiel avec des longueurs d'ondes spécifiques, des filtres photosélectifs, des filets d'ombrage ou le chaulage des serres (Bergstrand, 2017; Paskhin et al., 2022).

#### 2.2.2.1 Modulation de la lumière naturelle

Les filtres photosélectifs filtrant et/ou transformant certaines longueurs d'ondes permettent de moduler l'intensité et la qualité de la lumière naturelle dans les serres et les tunnels. Plusieurs études portant sur l'effet de filtres photosélectifs absorbant des longueurs d'ondes situées entre 700 et 800 nm, correspondant à la lumière Rs, ont révélé que l'augmentation du ratio Rc/Rs grâce à ces filtres inhibait l'élongation cellulaire chez de nombreuses espèces végétales (Cerny et al., 2003; Stapel et al., 2011; Crespel et al., 2018). Plus précisément, l'étude de Clifford et al. (2004) a montré que les poinsettias (*Euphorbia pulcherrima*) cultivés sous une serre équipée d'un filtre absorbant le Rs sont environ 20% plus petits que les poinsettias cultivés sous une serre dépourvue de filtre. Chez *Coreopsis x grandiflora*, un filtre absorbant le Rs permet une réduction d'environ 30% de la hauteur des plantes mais n'a aucun effet sur l'élongation des tiges de *Campanula carpatica*, illustrant la spécificité des réponses des plantes au spectre lumineux (Runkle and Heins, 2001).

Les filtres photosélectifs et les filets d'ombrage peuvent stimuler l'élongation cellulaire chez certaines espèces végétales naines pour lesquelles on souhaite augmenter la longueur des tiges. Cette réponse de SAR se produit en diminuant l'intensité globale de la lumière incidente grâce à l'ombre portée générée par ces matériaux. Une technique largement utilisée également pour stimuler la croissance des plantes consiste à réaliser le chaulage ou

le blanchiment du toit des serres. Cette méthode permet non seulement de réduire l'intensité lumineuse et la température à l'intérieur de la serre, mais aussi de minimiser les risques de stress hydrique pour les plantes (Mashonjowa et al., 2010; Omar et al., 2021).

### **2.2.2.2 Modulation de la lumière par les LEDs**

L'autre technique permettant de contrôler l'architecture des plantes via la modulation des conditions de lumière est l'utilisation de lumière artificielle, produite classiquement par des lampes à vapeur de sodium mais remplacées progressivement par des LEDs (Light-Emitting Diodes) en serre de production. Les LEDs sont en effet le résultat d'innovations technologiques qui permettent de manipuler finement la lumière apportée aux plantes en modifiant le spectre lumineux, l'intensité lumineuse, la période et la durée d'éclairement, ce à un moindre coût énergétique (Jones, 2018). Ces éclairages permettent aussi de modifier la photopériode en réduisant, augmentant ou fractionnant la période lumineuse ou la période sombre qui déterminent le comportement de développement et de croissance des végétaux (Goto, 2003).

#### *2.2.2.2.1 La modulation de la photopériode*

Les interruptions de nuits ou « Night Breaks » (NB) correspondent à une interruption de la période sombre (nuit) par une phase éclairée plus ou moins longue. En fonction des cas, cette technique inhibe ou stimule la croissance et le développement des plantes (Park and Jeong, 2020). Par exemple, un NB de Rc, pendant 4h durant la nuit, stimule l'élongation des tiges de chrysanthèmes de 60% par rapport au contrôle sans NB et à l'inverse, inhibe l'élongation de celles du pétunia de 19% par rapport au contrôle sans NB (Park and Jeong, 2018).

Une autre technique appelée « End-Of-Day » (EOD) consiste à ajouter de la lumière Rc ou Rs en fin de période lumineuse et donc d'augmenter ou de diminuer le ratio Rc/Rs respectivement (Goto, 2003). Chez le poinsettia, un EOD-Rs entraîne une augmentation de 17% de la hauteur finale des plantes alors qu'un EOD-Rc n'a pas d'effet sur l'élongation des tiges (Mata and Botto, 2009).

L'ensemble des exemples évoqués à travers les NB et les EOD montrent que les traitements lumineux pendant ou à proximité de la phase de nuit modifient fortement la

croissance et le développement des plantes. En effet, la vitesse d'élongation des tiges est beaucoup plus importante durant la nuit chez de nombreuses espèces (Bertram and Karlsen, 1994). Cela est en partie dû au fait que la nuit, les températures sont plus basses que celles de la journée mais aussi que la translocation des produits de la photosynthèse des feuilles vers les autres organes a lieu la nuit (Park et al., 2013).

Il est aussi intéressant de noter que les besoins en lumière pour réaliser la transition florale sont différents en fonction des espèces : le pétunia est une plante dite de jours longs (LD), le chrysanthème et l'hortensia de jours courts (SD) et la tomate de jours neutres (ND) (Bertram and Karlsen, 1995). Il est alors important d'être vigilant aux effets indirects sur les autres aspects du développement lors d'une modification de la photopériode pour réduire la croissance des plantes.

#### 2.2.2.2.2 La modulation des ratios Rc/B et Rc/Rs

En cohérence avec la réponse à l'évitement de l'ombre développée par les plantes dans un couvert végétal, la modulation de la lumière bleue en production peut permettre de contrôler la croissance des tiges (Ouzounis et al., 2015; Ouzounis et al., 2016; Bantis et al., 2019; de Hsie et al., 2019; Kaiser et al., 2019). Ainsi, chez la tomate, l'augmentation de la quantité de lumière bleue dans un environnement lumineux constant composé uniquement de lumière Rc réduit la longueur des tiges et des pétioles ainsi que la surface foliaire des plants exponentiellement avec la quantité de lumière bleue ajoutée dans le milieu (Kaiser et al., 2019). De même, les travaux de Lee et al. (2011) ont montré que la longueur des feuilles de *Paphiopedilum* était réduite de 32% par rapport à celle des plantes contrôles lorsque les plantes étaient cultivées uniquement sous lumière bleue.

L'ajout de lumière Rc permettant d'augmenter le ratio Rc/Rs permet également de réduire l'élongation des tiges chez de nombreuses espèces (Park and Runkle, 2019). Les travaux de Yamada et al. (2009) ont montré chez *Eustoma grandiflorum* que des NB avec un ratio Rc/Rs de 5 ou 10 entraînaient une réduction de 13% de la longueur des entre-nœuds alors qu'à l'inverse, des NB avec un ratio Rc/Rs de 0,5 ou 1 entraînaient une augmentation de la longueur des entre-nœuds, respectivement de 8 et 13%.

### 2.2.2.2.3 Les réponses moléculaires à la modulation lumineuse

Les travaux de Matsuo et al. (2019) ont montré que le ratio Rc/B est impliqué dans le métabolisme des GAs influençant ainsi l'élongation des tiges de plantules de tomates. En effet, la diminution du ratio Rc/B, provoquée par une augmentation de la quantité de lumière bleue, stimule l'expression de la *GA2ox* qui provoque la dégradation des GAs et entraîne une réduction de la croissance. À l'inverse, une augmentation du ratio Rc/B favorise l'expression de la *GA3ox*, un gène impliqué dans la synthèse des GAs, et par conséquent, stimule la croissance des plantes.

Les travaux de Sasidharan et al. (2008) ont montré que la diminution de la lumière bleue dans des conditions d'ombrage était corrélée à l'augmentation de l'expression de gènes codant des *XTHs* et des *EXP* et à la vitesse d'élongation des tiges chez *Stellaria longipes*. Chez *Rumex palustris*, un faible ratio Rc/Rs induit l'augmentation de la vitesse d'élongation des pétioles qui est corrélée à l'augmentation de l'activité des *EXP* impliquées dans l'élongation cellulaire, et de l'expression des gènes codant des *GA3ox* qui sont impliquées dans la synthèse de GAs bioactives (Sun, 2008; Pierik et al., 2011). Les travaux de Djakovic-Petrovic et al. (2007) ont également montré le rôle central des protéines DELLA dans les réponses liées au SAS. En effet, le faible ratio Rc/Rs et la faible quantité de lumière bleue stimule la dégradation des protéines DELLA provoquant ainsi l'élongation des hypocotyles chez *Arabidopsis*.

Inversement, chez certaines espèces végétales un fort ratio Rc/Rs et une forte quantité de lumière bleue permettent de réduire l'élongation des tiges et de stimuler la ramification. Chez *Rosa chinensis* 'Old Blush' la lumière bleue réduit le diamètre et l'élongation des axes (Abidi et al., 2013). Autre exemple, chez 3 espèces différentes de rosier cultivées sous lumière blanche, rouge clair et rouge sombre, le fort ratio Rc/Rs stimule la ramification des axes de près de 30% par rapport aux témoins cultivées uniquement sous lumière blanche (Crespel et al., 2020).

L'ensemble des exemples cités met en évidence le potentiel qu'offrent les LEDs en manipulant de manière très précise la qualité de la lumière appliquée aux plantes afin de contrôler leur architecture. La complexité et la diversité des réponses de croissance et de développement des plantes dépendent directement des interactions entre la lumière bleue et la lumière Rc et par conséquent, de l'interaction entre la lumière bleue et l'équilibre du ratio Rc/Rs. Toutefois, il apparaît clair que la combinaison de lumière bleue avec un faible ratio



Rc/Rs (conditions d'ombre) induit l'élongation des tiges. Inversement, la combinaison de la lumière bleue avec un ratio Rc/Rs élevé, inhibe l'élongation des tiges. Dans un objectif de remplacement des PGRs dans les productions végétales, l'utilisation des LEDs apparaît donc être une des solutions pour inhiber efficacement l'élongation des tiges sous serre.

### 3. Présentation du modèle d'étude : *Hydrangea macrophylla*

La thèse présentée ici est co-financée par l'entreprise Hortensia France, ce qui nous amène donc à aborder la présentation de l'hortensia, puis celle de l'entreprise et du cycle de production.

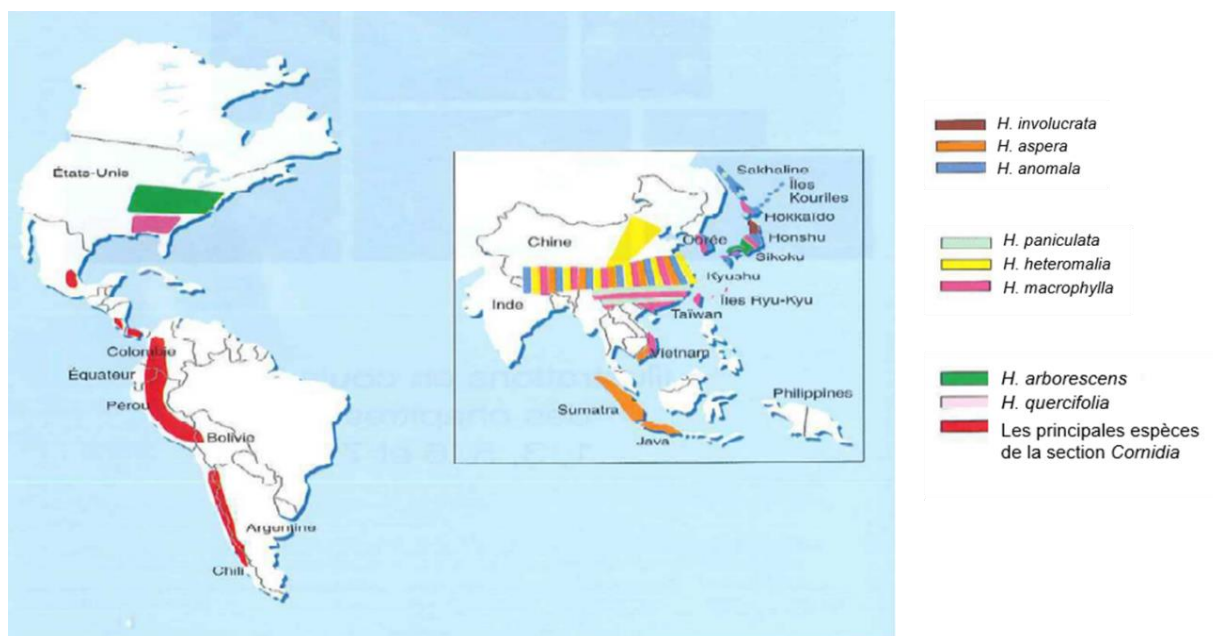
#### 3.1 Classification et caractéristiques du genre *Hydrangea*

Le genre *Hydrangea* L. appartient à la famille des *Hydrangeaceae*, qui est une famille de plantes à fleurs comprenant plus d'une centaine d'espèces réparties en 17 genres (Cronquist, 1981). Les trois principaux genres de la famille des *Hydrangeaceae* sont : *Deutzia* (50 espèces), *Philadelphus* (50 espèces) et *Hydrangea* (24 espèces) (Guérin, 2002). Le genre *Hydrangea* est caractérisé par des arbustes et des plantes grimpantes à tiges à moelle épaisse, à feuilles caduques ou persistantes, qui produisent généralement des fleurs regroupées en inflorescences déterminées et complexes, de type globuleux dit « boule » (**Figure 23A**), de type corymbiforme aplati dit « teller » (**Figure 23B**), ou de type panicule de fleurs (Guérin, 2002). Les fleurs de l'*Hydrangea* sont actinomorphes et hermaphrodites différenciées en fleurs stériles, très développées, et en fleurs fertiles de petite taille, souvent masquées par les fleurs stériles (**Figure 23C**). Enfin, chez l'*Hydrangea*, le débourrement des bourgeons axillaires est de type acrotone, c'est-à-dire sous l'effet de la dominance apicale.



**Figure 23.** Espèce du genre *Hydrangea* : *Hydrangea macrophylla* cv. 'Wudu®' (A), *Hydrangea macrophylla* cv. 'Nanping®' (B) présentant des fleurs stériles et fertiles (C) (D'après Hortensia France, Hokobreeding.com).

Le genre *Hydrangea* est originaire des continents asiatique et américain (Figure 24). Il englobe un grand nombre d'espèces et de variétés qui se sont néanmoins adaptées à différentes régions du monde. Certains *Hydrangeas* poussent naturellement en Chine, au Japon, en Corée et dans d'autres parties de l'Asie, tandis que d'autres sont indigènes de l'Amérique du Nord.



**Figure 24.** Répartition géographique des principales espèces du genre *Hydrangea* dans le monde (D'après Bécue, 1999 ; Guérin, 2002).

### 3.2 L'hortensia et l'Anjou : plus de 100 ans d'histoire

La culture de l'hortensia est profondément enracinée dans l'histoire et la géographie de l'Anjou. L'Anjou, une région historique située dans le nord-ouest de la France, est renommée pour son environnement pittoresque, ses châteaux et son climat doux. Deux facteurs environnementaux clés de l'Anjou favorisent la culture des hortensias : la présence de la Loire et des cours d'eau, notamment la Maine, le Loir, la Mayenne et la Sarthe, qui assurent une abondance d'eau, ainsi qu'un climat tempéré. De plus, la vallée de la Loire est également une région productrice d'ardoises, qui étaient autrefois utilisées dans les terreaux de rempotage pour acidifier le pH du sol afin d'obtenir des hortensias aux inflorescences bleues. Ces conditions sont idéales pour les hortensias. À Angers, dans le parc de l'Arboretum Gaston Allard, un éminent botaniste originaire d'Anjou, se trouve l'une des

plus vastes collections d'*Hydrangea macrophylla*, ayant reçu le prestigieux label de « collection nationale » du Conservatoire des Collections Végétales Spécialisées.

L'Anjou est le principal centre de production et de distribution européens d'hortensias en vert, prêts à fleurir. Un quart de la production européenne d'hortensias provient d'un rayon de 30 km autour d'Angers. L'Anjou produit environ 6 millions d'hortensias, dont près de 80 % sont exportés dans le monde entier. De plus, au fil des décennies, de nombreuses variétés d'hortensias ont été cultivées et développées en Anjou, contribuant ainsi à l'établissement de sa réputation en tant que région productrice d'hortensias de haute qualité. En 2015, la marque « Hortensia d'Angers, Val de Loire » a été officiellement lancée pour promouvoir la production horticole d'hortensias en Anjou (Erdual, 2015).

La même année, l'association Hydrangea World Wide (HW<sup>2</sup>) a aussi été créée pour promouvoir le genre *Hydrangea* et l'ensemble de la filière, en regroupant des producteurs majeurs d'hortensias de la région d'Anjou, notamment l'entreprise Hortensia France, et des producteurs étrangers.

### 3.3 L'entreprise Hortensia France

#### 3.3.1 L'histoire d'une entreprise familiale

L'entreprise Hortensia France (<https://hortensiafrance.com/>), anciennement connue sous le nom d'entreprise Fargetton, a une histoire qui remonte à 1850. À ses débuts, elle se spécialisait dans la production de diverses espèces ornementales, parmi lesquelles l'hortensia occupait déjà une place importante. En 1987, l'entreprise a été reprise par Kees Eveleens et Yves Albert, ce dernier a été remplacé par Thomas Eveleens à son départ à la retraite en 2019. L'entreprise, connue sous le nom d'Hortensia France Production puis Hortensia France, s'est spécialisée à 100% dans la production d'hortensias en vert à destination des forceurs et pépiniéristes chargés de les faire fleurir. L'entreprise Hortensia France est basée dans le Maine-et-Loire et exploite plusieurs sites de production répartis dans différentes communes, notamment Rives-du-Loir-en-Anjou (La Bodinière et Le Petit Perray), Tiercé (Le Rocher), et Le Lion d'Angers.

Créée par Thomas Eveleens en 2009 aux Pays-Bas puis transférée en France en 2012, l'EARL Bocache a fusionné avec la SARL Hortensia France en 2019. Située à Brain-sur-l'Authion, cette entreprise était spécialisée dans la production de microboutures racinées en plaques alvéolées, utilisant une méthode de multiplication innovante développée par Thomas Eveleens et Gilles Galopin.

De plus, Kees Eveleens, via l'entreprise hollandaise Horteve Breeding (<https://hokobreeding.com/en/>), dont Matthieu Eveleens occupe la fonction de directeur commercial, est un des principaux obtenteurs de nouvelles variétés d'*Hydrangea macrophylla* en Europe. La marque HOKO Breeding est née de la collaboration entre Horteve Breeding et Kolster b.v., une autre entreprise spécialisée dans l'amélioration variétale d'hortensias.

Aujourd'hui, Hortensia France emploie près d'une centaine de personnes au pic de son activité et occupe la position de leader dans la production d'hortensias en vert en France, avec une production annuelle de près de 2,5 millions de pots d'hortensias. Cette réussite découle de l'accumulation de plus de 170 ans d'expérience dans la culture de l'hortensia, une culture exigeante et longue, permettant de garantir des potées de qualité supérieure.

### 3.3.2 La production d'*Hydrangea macrophylla* au sein d'Hortensia France

L'itinéraire cultural de l'hortensia s'étale sur 3 années et comprend des phases en serres, en parcelles extérieures hors-sol et en chambre froide (**Figure 25**).

- La première année consiste à la multiplication par bouturage des plants d'hortensias. Les boutures ont 3 origines : (1) les « microboutures », prélevés dès février sur des pied-mères conservés dans une serre chaude, (2) les « boutures classiques » prélevées en juillet sur les hortensias âgés de 2 ans, (3) les boutures achetées à des fournisseurs situés principalement en Afrique.
- Après le repotage et la taille, les plantes sont alors cultivées en extérieur jusqu'à l'automne, période pendant laquelle la transition florale a lieu. La diminution conjointe de la photopériode et de la température entraîne la transformation du méristème apical en méristème floral.
- Dès la fin de la deuxième année (automne/hiver), les hortensias sont stockés en chambre froide (4°C) et subissent un traitement à l'éthylène qui permet d'accélérer et de synchroniser la chute des feuilles. Le stockage en chambre froide permet d'une part de protéger les hortensias des gelées hivernales et d'autre part d'assurer une bonne floraison au printemps. En effet, les hortensias doivent subir une période de vernalisation d'au moins 1000 heures de froid pour lever la dormance du bouton floral. Ainsi, jusqu'à juillet de la troisième année, l'entreprise expédie les plantes chez les différents clients tels que des forceurs et les pépiniéristes qui vont se charger de faire fleurir les hortensias.

A chaque étape de la culture, les hortensias sont traités avec des retardateurs de croissance chimiques. En fonction de la vigueur des variétés, les plantes peuvent subir de 0 à 4 traitements au stade bouture en serre puis de 0 à 5 traitements lors de la culture en pot en extérieur. La taille (pincement) et l'utilisation des régulateurs de croissance permettent d'obtenir des hortensias de qualité : compact et suffisamment ramifié.

En complément des pratiques culturales évoquées précédemment, les hortensias, à l'instar de la plupart des plantes ornementales, sont soumis à divers traitements chimiques.

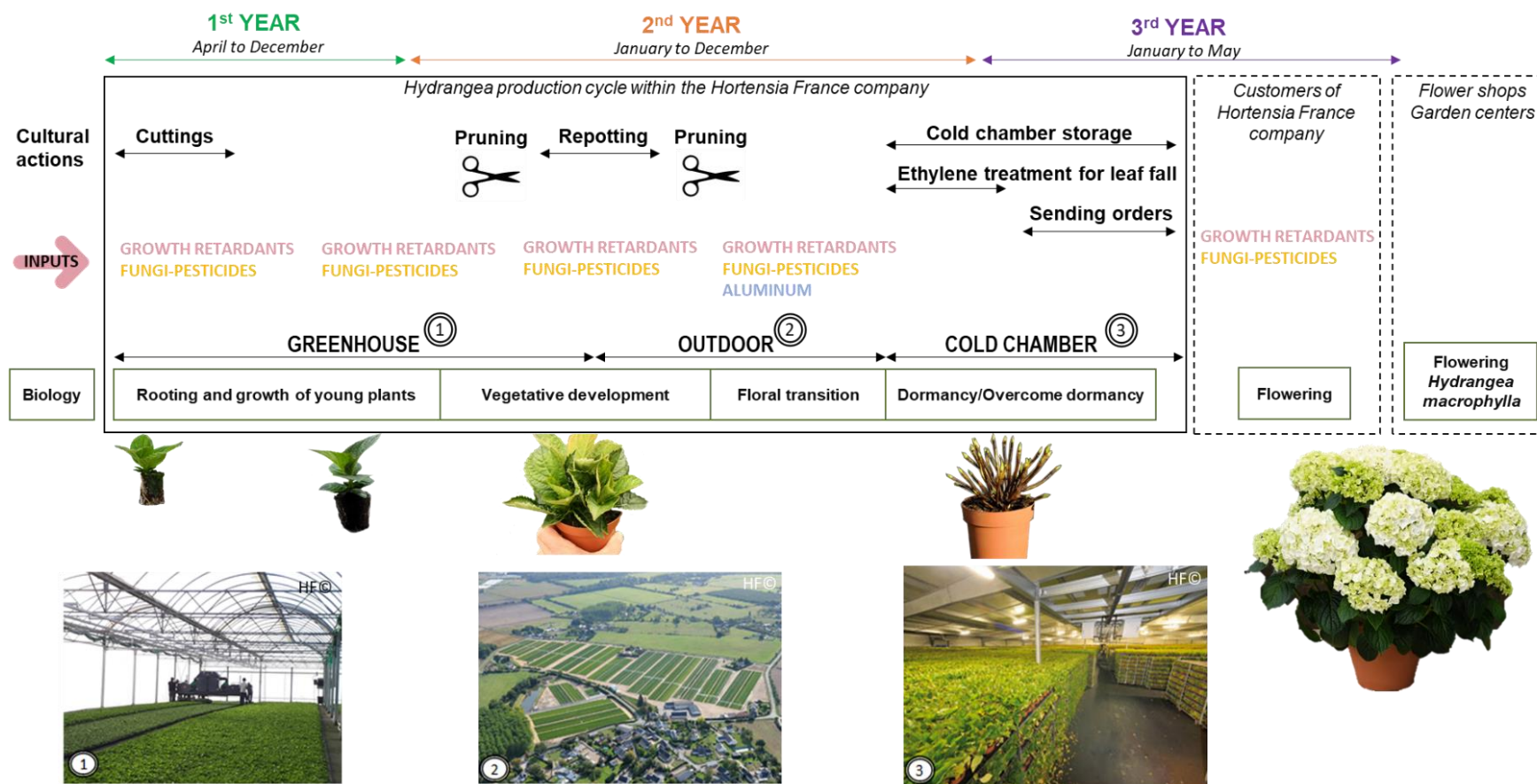


Figure 25. Cycle de production de l'*Hydrangea macrophylla* au sein de l'entreprise Hortensia France.

Ces traitements comprennent l'utilisation de biocides, principalement des fongicides et des insecticides. De plus, pour certaines variétés d'hortensias capables de bleuir<sup>1</sup>, des apports en sulfate d'alumine sont également nécessaires. Par ailleurs, l'entreprise a également recours à d'autres produits chimiques tels que des désherbants et des désinfectants pour maintenir en bon état les serres, les plateformes extérieures, les frigos, ainsi que l'ensemble des outils et équipements, comme les tailleuses et les sécateurs. Cette gestion chimique engendre chaque année une dépense considérable, représentant plusieurs dizaines de milliers d'euros, dont environ 40 000 € pour l'achat de retardateurs de croissance chimique et le temps de main d'œuvre lié aux traitements.

En raison de la complexité et de la durée du cycle de culture de l'hortensia, au cours de ce travail de thèse, nous avons opté pour l'utilisation de microboutures provenant des pieds-mères de variétés produites par Hortensia France. Trois variétés spécifiques de différentes vigueurs ont été sélectionnées afin d'étudier la variabilité des réponses de l'hortensia à la stimulation mécanique et à la modulation lumineuse (**Figure 23**). La variété 'Nanping®' présente une très forte vigueur, la variété 'Anda®' une forte vigueur et la variété 'Wudu®' une vigueur moyenne à forte. La méthode de bouturage par microboutures a permis de mener des expériences sur ces plantes de mars à novembre, avec une pause de trois mois nécessaires pour la régénération de nouveaux pieds-mères. Les plantes utilisées au cours de la thèse étaient donc de jeunes plants caractérisés par une seule tige principale non ramifiée (**Figure 26**).

En considérant la simplicité et la praticité de la mise en place de la stimulation mécanique, en particulier grâce à l'utilisation d'équipements déjà existants tels que les chariots d'irrigation, en comparaison avec les coûts d'acquisition et d'installation de systèmes d'éclairage LEDs au sein de l'entreprise, ces travaux de thèse se sont principalement orientés vers l'exploration des réponses de l'*Hydrangea macrophylla* à la stimulation mécanique. En outre, le cycle de production de l'hortensia, tel qu'il sera présenté dans les sections suivantes, se déroulant à la fois en serre et sur des plateformes en extérieur, complexifie davantage l'installation de LEDs en plein air. Ainsi, cette décision découle de la pertinence de l'approche de stimulation mécanique pour les besoins opérationnels de

---

<sup>1</sup> Ce volet concerne notamment l'axe 3 du LabCom MATCH intitulé « ajustement des apports de fertilisants et de sulfate d'alumine ».



l'entreprise. Elle offre également un potentiel significatif pour contrôler la croissance et le développement de l'hortensia tout en contribuant à la réduction des coûts d'exploitation.



**Figure 26.** Jeunes plants d'*Hydrangea macrophylla* cv. 'Nanping®' utilisés au cours de la thèse : à gauche, une plante non nanifiée chimiquement et à droite, une plante nanifiée chimiquement.

## 4. Objectifs de recherche

### 4.1 Questions de recherche

La manipulation des facteurs environnementaux tels que la lumière et la stimulation mécanique peuvent apporter des solutions durables aux producteurs d'hortensias pour maîtriser la compacité des plantes avec des méthodes respectueuses de l'environnement. Toutefois, la diversité et la complexité des réponses que ces facteurs induisent, nécessitent une connaissance approfondie de la réponse de chaque espèce ainsi traitée. De plus, la compréhension des processus de mémorisation de plantes exposées à des sollicitations mécaniques répétées est également indispensable pour éviter tout phénomène de désensibilisation et ainsi agir efficacement dans le contrôle de la croissance des plantes.

L'effet de la modulation de l'éclairement et de la stimulation mécanique sur la croissance et le développement végétatif de l'hortensia est très peu abordée dans la littérature. Quelques travaux ont été menés par l'institut technique de l'horticulture ASTREDHOR sur l'effet de la stimulation mécanique chez une autre espèce d'*Hydrangea* (*Hydrangea paniculata*). Par ailleurs, les principaux travaux sur *Hydrangea macrophylla* portent sur le contrôle et le développement de la floraison, l'effet des PGRs sur la croissance et principalement sur le bleuissement des inflorescences (Litlere and Strømme, 1975; Bailey and Clark, 1992; Galopin et al., 2008; Galopin et al., 2011; Nordli et al., 2011; Dilta et al., 2015; Peng et al., 2021). Le génome de l'hortensia n'a été séquencé qu'en 2020 au cours de travaux sur le phénotype fleur double (Nashima et al., 2021). Ainsi, l'étude des réponses moléculaires de l'*Hydrangea macrophylla* à l'environnement est à ce jour très limitée.

Dans ce contexte, ce travail de thèse vise à étudier la thigmo- et la photo-morphogénèse de l'hortensia (*Hydrangea macrophylla*) destiné à la production de potées par l'entreprise Hortensias France (HF) en vue du développement de méthodes alternatives aux traitements nanifiants chimiques. La thèse est constituée de 3 grandes parties qui visent chacune à répondre à différentes questions :

1. **Caractérisation des réponses phénotypiques aux traitements lumineux et mécaniques.** Dans des conditions environnementales contrôlées et non contrôlées (serre), la croissance de l'hortensia est-elle modifiée par les conditions d'éclairement et par la stimulation mécanique ? Est-il possible de réduire la croissance et ainsi augmenter la compacité de l'hortensia par la manipulation de la lumière et/ou par la stimulation

mécanique ? Si oui, la réduction de croissance obtenue est-elle similaire à celle obtenue avec l'utilisation des retardateurs de croissance ?

2. **Compréhension des mécanismes impliqués dans les réponses induites par la modulation lumineuse et la stimulation mécanique.** À différentes échelles, morphologique, physiologique, tissulaire, cellulaire et moléculaire, quels sont les mécanismes de réponses de l'hortensia à la modulation lumineuse et à la stimulation mécanique ?
3. **Caractérisation des réponses de mémorisation à la stimulation mécanique.** Existe-t-il une mémoire de l'hortensia à la stimulation mécanique ? Si oui, quelle est la durée de mémorisation et comment se caractérise-t-elle ? Est-elle alors compatible avec des stimulations mécaniques répétés en production ?
4. **Transférabilité vers l'entreprise.** L'ensemble de ces recherches ouvrira la voie à l'évaluation de la faisabilité de l'application de ces méthodes alternatives au sein de l'entreprise, et sera discuté sous cet angle en fin de thèse. En outre, l'étude moléculaire réalisée offrira également la possibilité d'identifier d'éventuels marqueurs de croissance qui pourraient être précieux dans le processus de sélection variétale de l'hortensia.

#### 4.1 Stratégie de recherche

Comme vu précédemment dans la synthèse bibliographique, la modulation de la lumière et la stimulation mécanique induisent une diversité et une complexité de réponses qui, jusqu'à présent, n'ont pas été étudiées chez l'hortensia. L'étude des réponses de l'hortensia à la modulation lumineuse a été réalisée d'abord dans un container étanche à la lumière naturelle et équipé de 21 modules lumineux de LEDs indépendants, acheté par l'entreprise Hortensia France et situé à Brain-sur-l'Authion, où toutes les conditions environnementales sont contrôlées (température, hygrométrie, photopériode, ...). Dans un second temps, les meilleurs traitements lumineux ont été testés dans une serre en verre de l'IRHS (Angers) afin d'être au plus proche des conditions environnementales de production. Les essais de stimulation mécanique ont été réalisés dans une chambre de culture permettant également de contrôler les conditions environnementales (température, hygrométrie, photopériode, ...).

Grâce à ces outils, plusieurs approches (phénotypique, histologique et moléculaire) ont été employées afin de répondre aux différentes questions que comporte la thèse :

1. **Caractérisation des réponses phénotypiques.** Il s'est agi de réaliser une série de mesures phénotypiques (longueur et diamètre de tiges, calcul de surface foliaire, ...) et physiologiques (conductance stomatique, efficacité de la photosynthèse, ...) sur des plantes d'hortensias soumises à différents traitements lumineux et de stimulation mécanique. Des coupes histologiques ont également été réalisées afin d'étudier à l'échelle tissulaire et cellulaire la réponse des plantes à des flexions répétées.
2. **Compréhension des mécanismes impliqués dans les réponses de croissance induite par la stimulation mécanique.** Dans un premier temps, par une approche *a priori*, il s'est agi d'étudier les différents processus physiologiques (élongation et division cellulaire, extension et relâchement pariétal, ...) et les principales voies métaboliques (voies hormonales, voie des phénylpropanoïdes, ...) impliquées dans les réponses thigmomorphogénétiques chez l'hortensia. Les séquences des gènes candidats ont été identifiés grâce aux homologues de séquences trouvées chez d'autres espèces végétales (*Arabidopsis*, *Populus*, *Solanum*, *Camellia*, ...). Dans un second temps, une approche sans *a priori* (RNA-seq) a été menée afin d'identifier plus largement les processus et les gènes impliqués dans la réponse de la tige d'hortensia à la stimulation mécanique. Pour ce faire, des prélèvements de tiges

d'hortensias stimulées et non stimulées ont été réalisés à différents pas de temps afin d'analyser l'expression des gènes au cours du temps. En parallèle, le dosage de différentes hormones (GAs, ABA, JA, SA, BRs, AUX et CKs) de ces mêmes échantillons de tiges a été réalisé afin de mieux comprendre l'implication de chacune de ces hormones dans les réponses thigmomorphogénétiques et de faire le lien avec les régulations transcriptionnelles observées. Enfin, l'expression de quelques gènes impliqués dans les grands processus de croissance et de développement des plantes aura été également analysée dans les tiges d'hortensia soumises à différents traitements lumineux.

- 3. Identification et caractérisation d'une potentielle mémoire de l'hortensia à la stimulation mécanique.** Afin d'étudier l'existence d'une mémoire chez l'hortensia à la stimulation mécanique, l'effet d'un traitement mécanique de forte intensité et de faible intensité a été analysé par le suivi de la croissance diamétrale des tiges après plusieurs semaines de traitement. Des pinces dendrométriques ont été utilisées qui permettent de mesurer en continu les variations micrométriques de croissance diamétrale des tiges. L'état de compaction de la chromatine des tiges a été également étudié afin de déterminer si les plantes stimulées mécaniquement présentaient un état de décompaction de la chromatine différent. Ces travaux initient l'analyse épigénétique des réponses de l'hortensia à la stimulation mécanique.

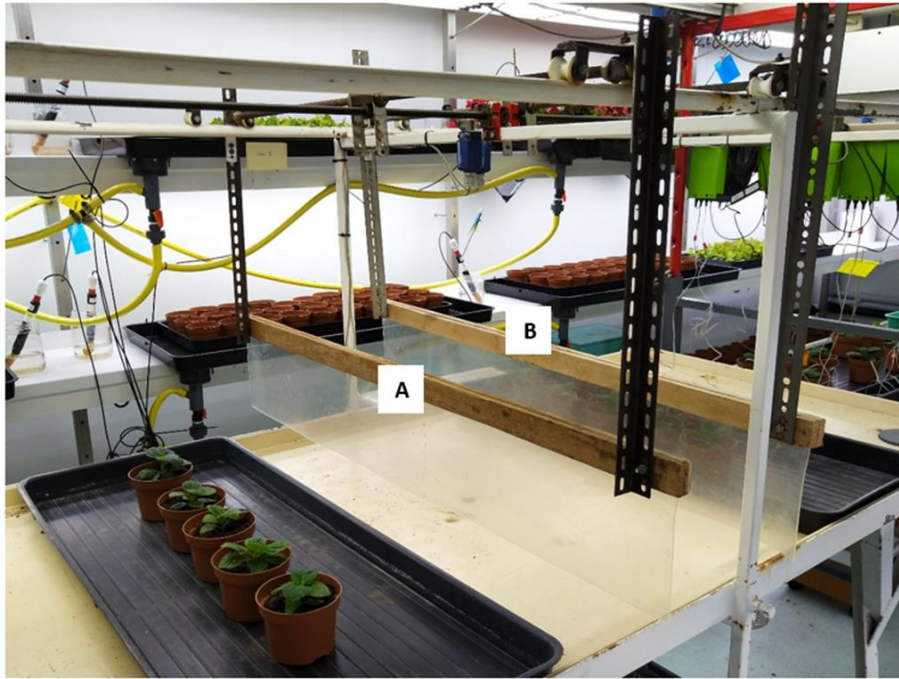
# Chapitre 1 : L'effet de la stimulation mécanique sur *Hydrangea macrophylla*

## 1. Introduction de l'étude

Ce premier chapitre de thèse se concentre sur la mise au point d'un traitement de stimulation mécanique capable de contrôler l'élongation des tiges de jeunes plants d'*Hydrangea macrophylla*. Nous avons vu dans la partie introductive de ce manuscrit que la stimulation mécanique était une alternative efficace aux retardateurs de croissance chimiques chez certaines espèces dont l'efficacité dépendait de plusieurs facteurs. Parmi ces facteurs figuraient notamment le génotype des plantes, leur stade de développement, la fréquence et la durée des traitements, ainsi que les matériaux de stimulation utilisés.

À l'aide d'un dispositif expérimental (**Figure 27**), nous avons étudié l'influence de deux matériaux de stimulation mécanique, une bâche en plastique non frangée et une barre en bois, sur les caractéristiques phénotypiques de trois cultivars d'hortensia produits par l'entreprise Hortensia France : 'Nanping®', 'Anda®' et 'Wudu®'. Ces cultivars sont caractérisés respectivement par une vigueur très forte, forte et moyenne à forte.

Ces travaux ont été présentés oralement lors du 31<sup>ème</sup> Congrès International d'Horticulture (IHC), qui s'est tenu du 14 au 20 Août 2022 à Angers (France), lors du symposium intitulé « Adaptation of Horticultural Plants to Abiotic Stress » et ont fait l'objet d'un article scientifique publié en juin 2023 dans le numéro 1372 d'*Acta horticultrae*. Cet article est présenté ci-après.



**Figure 27.** Dispositif expérimental utilisé pour l'étude de la stimulation mécanique. La table de stimulation comporte deux bras (A et B), chacun équipé d'une bâche en plastique non frangée. Ces bras peuvent être actionnés de manière indépendante et se déplacent à une vitesse de 13 m/h sur chaque moitié de table. Ainsi, le passage d'une flexion dure 1 min, et le passage de 12 flexions dure environ 1 heure.

## 2. Impact of mechanical stimulation on *Hydrangea macrophylla*

### Impact of mechanical stimulation on *Hydrangea macrophylla*

**B. Ley-Ngardigal<sup>1,2</sup>, V. Guérin<sup>1</sup>, L. Huché-Thélier<sup>1</sup>, N. Brouard<sup>1</sup>, T. Eveleens<sup>2</sup>, H. Roman<sup>2</sup>, N. Leduc<sup>1a</sup>**

<sup>1</sup> Univ Angers, Institut Agro, INRAE, IRHS, SFR QUASAV, Angers, France

<sup>2</sup> Hortensia France, La Bodinière, Soucelles, Rives-du-Loir-en-Anjou

**<sup>a</sup> Correspondence:**

Nathalie Leduc

[nathalie.leduc@univ-angers.fr](mailto:nathalie.leduc@univ-angers.fr)

### **Abstract**

Plant compactness is a key feature of ornamentals plants grown in containers. It contributes to plant esthetical value, increases plant robustness, reduces culture and storage surfaces as well as transportation costs for trading. For a long time, chemical growth retardants have been commonly used by growers to control plant growth. However, current concerns about the preservation of the environment have led to the banning of several of these products. Alternative methods to chemical control of plant growth are thus urgently needed by producers. Mechanical stimulation mimicking wind impact on wild plants has proven efficient in reducing growth in several species, including ornamentals. However, not all plant species respond similarly to a given mechanical treatment. Therefore, research need to be carried out to find the efficient protocol that meet growers' objectives for each species. Using an experimental set-up, different mechanical treatment has been used to investigate the phenotypical responses in three cultivars of *H. macrophylla*. It was concluded that mechanical treatment induced a significant reduction of stem elongation and an increase of stem diameter depending on stimulation material and cultivars.

**Key words:** *Hydrangea*, mechanical stimulation, alternative growth regulators, thigmomorphogenesis, plant compactness



## **INTRODUCTION**

Plant growth regulators (PGRs) are natural or synthetic chemical substances that affect physiological process on many crop species (Rademacher, 2015). Among PGRs, a major group of compounds named 'growth retardants' is particularly used in ornamental crops to reduce shoot elongation, improve compactness, boost branching and therefore the number of flowers (Basra, 2000). Use of these products in ornamental production also allows to reduce storage areas and transportation costs (Bergstrand, 2017). In Europe, PGRs are in the top 8 most chemical products used in crop production (Nadin, 2007). PGRs bring many benefits to crops production; but their use has important socio-economics and environmental impacts (Bergstrand et al., 2016). Many studies have shown that the use of growth retardants has a negative effect on fertility of various mammals (Hjollund et al., 2004; Sorensen and Danielsen, 2005). Thus, several actions at different levels have been carried out to promote a sustainable agriculture that is less dependent on the phytopharmaceutical industry and more respectful of the environment (Ulian et al., 2020).

Plant compactness is an important challenge for the coming years due to the phasing out of growth retardants in the horticultural industry especially in ornamental plants production (Carvalho et al., 2018). The ornamental sector has world economic value of 250-400 billion USD (Chandler and Sanchez, 2012). The top 10 world leaders in ornamentals exports are largely represented by European countries, including Netherlands, Italy and France (FranceAgriMer, 2019).

In this context, the development of alternatives to the use of PGRs is urgent, especially in widely used ornamental crops. In addition to genetic selection that can release dwarf varieties but is expensive and time consuming, other less expensive techniques are being developed that can be as effective as chemicals, based on the use of environmental cues during production (Chandler and Sanchez, 2012; Bergstrand, 2017). Mechanical stimulation (MS), which was inspired by dwarfing effects of wind on plants, induces typical responses that have been called thigmomorphogenesis the main of which are reduced stem elongation and increased stem thickness (Jaffe, 1973; Telewski and Jaffe, 1986).

In laboratory conditions and in horticultural production, MS is obtained by moving a stimulation material (PVC pipe, curtains) back and forth from the top of plants and in contact with the shoots, leaves and plant apex. MS can induce various responses that depend on species and plant age (Jaffe and Forbes, 1993). Young plants respond better to stimuli, MS on seedlings allows them to strengthen their stem and reduce their height to better adapt

to the stress that can occur during the transplantation (Latimer, 1991). MS efficiency depends on several parameters including frequency of MS, time of the day and stimulation material. In ornamental plants such as *Viola tricolor*, 10 to 20 daily flexures with a flexible gauge mesh for at least 5 days are sufficient to reduce petiole elongation by 25-30% (Garner and Langton, 1997). Tomato and bean plants are more sensitive to MS when the treatment is applied at the end of the dark period or at the beginning of the day (Garner and Björkman, 1996; Anderson-Bernadas et al., 1997). When these parameters are well adjusted, MS is revealed as an efficient method to control plant growth. It can be applied both indoors and outdoors ornamental does not require expensive materials and is easy to implement on pre-existing equipment such as irrigation supports (Morel et al., 2012).

During the last decade, the demand and production of *Hydrangea* have grown dramatically (CBI Market Intelligence, 2016). *Hydrangea* is a woody plant genus that includes 23 species, among which *H. macrophylla* is the most widely grown around the world for indoor and outdoor use, with than 1000 cultivars available (Bak et al., 2021). *Hydrangea* plants are in the top 5 most consumed among ornamental trees and shrubs in France in 2020 (Kantar, 2020). Since growth retardants are systemically used to control height and shape during *Hydrangea* production (Cochran and Fulcher, 2013). MS appears to be a good alternative method to regulate growth but its effects vary depending on species and even genotypes, the stimulation materials used, the moment of the day when it is applied, and the duration and intensity (number of flexures) of the applied treatment. Although to date, there are no scientific reports on the effects of MS on *H. macrophylla*. The aim of this work was to analyse the impact of the stimulation material and the duration of MS treatment on stem elongation, stem enlargement and leaf injuries in young plants of three *H. macrophylla* cultivars ('Nanping®', 'Anda®' and 'Wudu®') of different vigours.

## **MATERIAL AND METHODS**

### **Plant material and crop management**

Three cultivars of *Hydrangea macrophylla* cultivars ('Wudu®', 'Anda®' and 'Nanping®') produced by the company Hortensia France (Soucelles, France) were used. The rates of their vegetative development graduate from weak to strong, respectively. Plants were obtained from micro-cuttings inserted in micro-cloud for rooting. When root system completely filled the micro-cloud, the plants were re-potted in 10 cm diameter pots containing HOL24 substrate (Jongkind). Then the plants were grown in a greenhouse subjected to external environmental conditions (temperature, light and photoperiod) for 5

weeks. The plants were irrigated once a week with a fertilizing solution (NPK: 14-7-26) of pH= 6.8 and E.C= 1.8 and no plant growth regulator treatment was applied. At the beginning of both experiments, each young plant had 4 to 5 pairs of well-developed leaves on a single unbranched stem which length was comprised between 2 and 3 cm.

### **Experimental protocol**

The experimental device used in this study was previously used for the mechanical stimulation of rosebush plants (Morel et al., 2012). It is composed of 2 stimulation arms moving back and forth at a speed of 12 m/h on an area of 2.1 m<sup>2</sup> (2.1 m length x 1.0 m width), using an automatic launch program that allow to choose the frequency, date and time slots of stimulation. Three different materials were fitted to the robotic arms to stimulate the plants: a wooden bar (0.3 kg/m) with a diameter of 2.5 cm, a fringed 3 mm thick plastic curtain (2.6 kg/m<sup>2</sup>, with 15 cm long and 2 cm wide fringes) and an unfringed 2 mm thick plastic curtain (2.3 kg/ m<sup>2</sup>). The height of the different stimulation materials was adjusted so that the lower parts of the material reached the plants 1 to 2 cm below their apex. Non-stimulated control plants were placed next to the stimulated plants.

### **Mechanical stimulation treatments**

Two stimulation treatments were applied:

Treatment 1 (between March and April 2020): 20 plants were mechanically stimulated using a wooden bar or a fringed plastic curtain for 5 weeks. In each week, the plants received 12 consecutive bendings between 8:00 am and 9:00 am each of the first 5 days, and no stimulation on the last two days.

Treatment 2 (between May and June 2020): The same mechanical stimulation as for treatment 1 was applied on 20 plants using a wooden bar or a unfringed curtain but only during the first 5 successive days of the first week. Then plants were left unstimulated during the 4 remaining weeks. Here, only 'Nanping®' and 'Wudu®' cultivars have been used.

### **Measurements and statistics analysis**

Between 10 (treatment 1) and 15 (treatment 2) control and treated plants were measured. At the beginning and at the end of each experiment, plant stem height was measured between stem collar and just below the apex using a ruler with a 0.1 cm accuracy. For the treatment 2, plant stem height was measured after 1 week of mechanical stimulation. The diameter of the stems was measured 2 cm below the apex for treatment 1 and at the

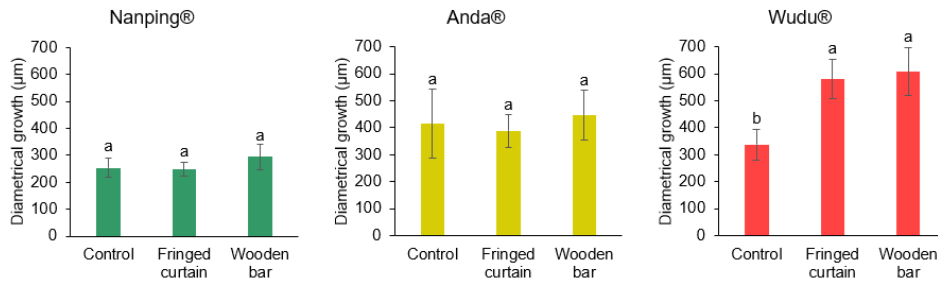
collar for treatment 2 using a caliper with a 0.01mm accuracy. In treatment 1, diametrical growth was calculated from the difference between the stem diameter obtained 2 weeks after the beginning of experiment and at the end of the experiment. For the treatment 1, the number of plants damaged (lesions of foliage and/or uprooted plants) by the mechanical stimulation was counted 2 weeks after the beginning of the experiment. At the end of both experiments, the number of internodes was counted. Statistics analyses were carried out using R Studio software version 1.2.5001. All tests (ANOVA test, Kruskal test and t-test) were performed on averages values with an alpha risk error of 0.05.

## RESULTS

*H. macrophylla* responses to mechanical stimulation (MS) were followed through the measurement of stem elongation, stem diameter and impacts on leave. The average stem elongation between the beginning and the end of the treatment 1 is shown in Figure 1A. The results highlight that MS strongly reduces stem elongation in *Hydrangea* in most treatment. Decreased growth response depended on the stimulation material, since the best results were obtained with the wooden bar, with a significant reduction of stem elongation for the three cultivars 'Nanping®', 'Anda®' and 'Wudu®' of respectively 48%, 52% and 45%. MS using fringed curtain only decreased stem elongation by 18% for 'Anda®' and 30% for 'Wudu®' plants and had no impact on 'Nanping®' cultivar. In order to assess whether MS also affected organogenetic activity of shoot apical meristem, we counted the average number of internodes composing each stem at the end of treatment (Figure 1B). Results revealed that the stems that were mechanically stimulated with the wooden bar had one less internode than the control plants. However, MS using the fringed curtain did not affect the production of internodes. A high increase in stem diameter after MS with both stimulation materials was observed in 'Wudu®' but not in 'Nanping®' and 'Anda®' (Figure 2). In 'Wudu®', the stem diameter increased by 72% using the fringed curtain and by 80% using the wooden bar.

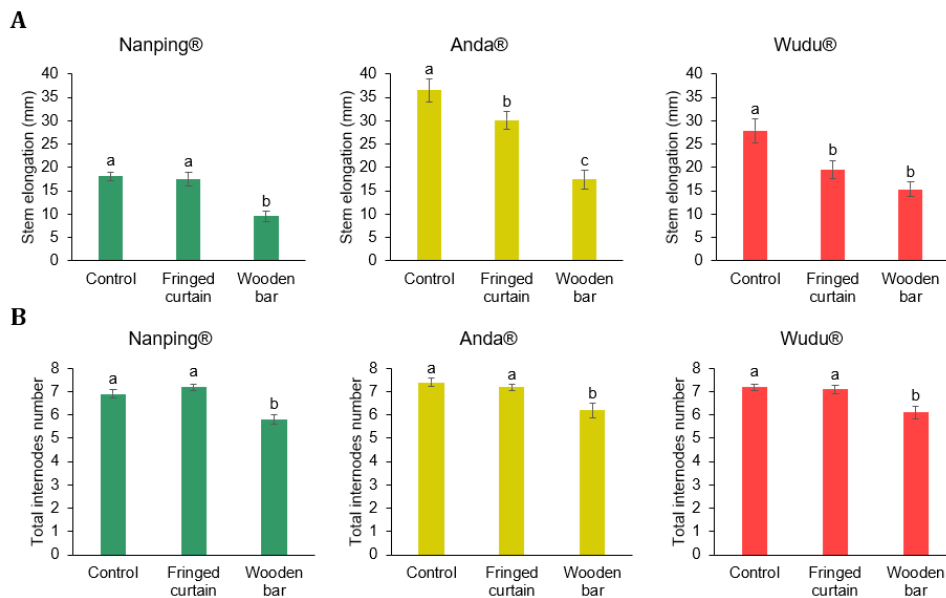
In order to evaluate whether MS caused injuries to plants, leaves damage and insertion of roots in the substrate was observed. The number of plants displaying leaf damage and/or uprooting after 2 weeks of MS treatment is presented in Table 1. The wooden bar caused both leaf damage and uprooting, while only leaf damage was observed with the fringed curtain and in about only half the number of plants injured by the wooden bar. Results from treatment 1 showed that the fringed curtain caused less injuries and less reduction in stem elongation than the wooden bar, a heavier material. We therefore carried treatment 2 using

an unfringed curtain that increased the bending effect on the plant, resulting in less injuries than with the wooden bar (Table 1). The effects of MS on ‘Nanping®’ and ‘Wudu®’ plants using both mechanical materials are shown in the Figure 3. Contrary to 5 weeks of MS like in the treatment 1, only 1 week of MS treatment was not sufficient to induce leaf lesions or to uproot plants but it was sufficient for induce stem elongation reduction.



The different letters indicate the ANOVA test results (p-value ≤ 0.05) and the error bars correspond to the standard error (n = 10).

**Figure 1.** Stem elongation (A) and number of internodes (B) in plants of *H. macrophylla* cv. ‘Nanping®’, ‘Anda®’ and ‘Wudu®’ after mechanical stimulation for 5 weeks (Treatment 1).



The different letters indicate the ANOVA and Kruskal test results (p-value ≤ 0.05) and the error bars correspond to the standard error (n = 10).

**Figure 2.** Diametrical growth of the stem in plants of *H. macrophylla* cv. ‘Nanping®’, ‘Anda®’ and ‘Wudu®’ after mechanical stimulation for 5 weeks (Treatment 1).

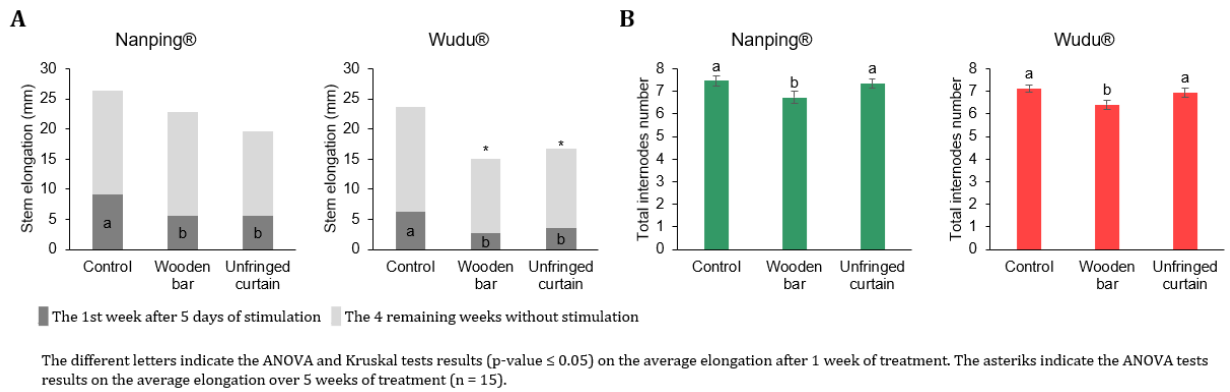
**Table 1.** Number of damaged plants of *Hydrangea macrophylla* cv. ‘Nanping®’, ‘Anda®’ and ‘Wudu®’ after mechanical stimulation for 5 weeks (Treatment 1).

Varieties	Control	Fringed curtain	Wooden bar
Nanping®	0	6	11
Anda®	0	5	11
Wudu®	0	6	15

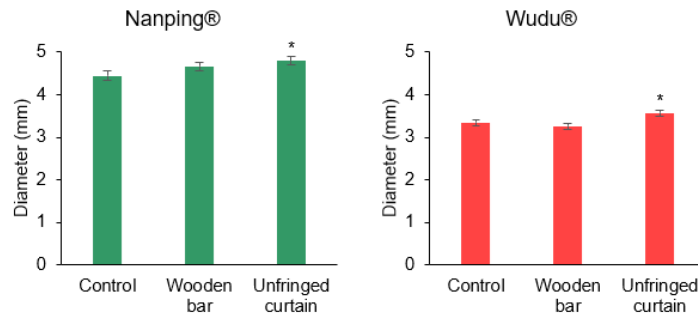
In the treatment 2, the unfringed curtain had the same effect as the wooden bar in reducing stem elongation (Figure 4A). After one week of MS, elongation of ‘Nanping®’ plants were reduced by 39% with both materials. In ‘Wudu®’ plants, the stem elongation was reduced by the unfringed curtain (44%) and the wooden bar (57%). When plants were left unstimulated for 4 weeks thereafter, stem elongation continued. In ‘Nanping®’ and ‘Wudu®’, no significant differences in stem elongation were found at the end of the 4 weeks (Figure 4A). However, only in ‘Wudu®’ plants reduction in stem elongation was significant in MS plants over 5 weeks of the experiment. The stem elongation was reduced by the unfringed curtain (30%) and the wooden bar (36%) (Figure 4A). ‘Nanping®’ and ‘Wudu®’ plants mechanically stimulated using the wooden bar displayed one less internode per stem (Figure 4B). Both ‘Nanping®’ and ‘Wudu®’ plants treated with the unfringed curtain showed a larger stem diameter, but the wooden bar did not cause significant differences (Figure 5). The diameter was increased by 8% and by 7% in ‘Nanping®’ and ‘Wudu®’ plants, respectively (Figure 5).



**Figure 3.** *Hydrangea macrophylla* cv. ‘Nanping®’ (A) and ‘Wudu®’ (B) plants after mechanical stimulation for 5 successive days (Treatment 2).



**Figure 4.** Average stem elongation (A) and total internodes number (B) in plants of *Hydrangea macrophylla* cv. ‘Nanping®’, ‘Anda®’ and ‘Wudu®’ 5 weeks after mechanical stimulation for 5 successive days (Treatment 2).



The asteriks indicate the T-test results comparison between each material of mechanical stimulation and the control (p-value ≤ 0.05) (n = 15).

**Figure 5.** Stem diameter in *Hydrangea macrophylla* cv. ‘Nanping®’, ‘Anda®’ and ‘Wudu®’ 5 weeks after mechanical stimulation for 5 successive days (Treatment 2).

## DISCUSSION

Results herein shown that the effects of mechanical stimulation (MS) on *Hydrangea macrophylla* plants included some thigmomorphogenetic responses reported in other species such as reduction in stem elongation and increase in stem diameter (Autio et al., 1994).

The impact of MS is species and cultivar-dependant. A similar MS treatment as the one applied to five cultivars of *Rosa hybrida* (Crespel et al., 2018) was applied on *H. macrophylla* plants. In rosebush, MS using a fringed curtain was achieved with 10 flexures per day during 5 consecutive days each week and for 8 consecutive weeks. MS using a fringed curtain (treatment 1), the stem reduction in ‘Anda®’ plants are similar to those

obtained in five cultivars of *R. hybrida* (-14%). A stronger decrease of stem elongation in 'Wudu®' plants (by 30%) and no reduction in stem elongation was obtained in 'Nanping®' plants (Figure 1A).

Intensity of MS response also depend on the stimulatory material. The wooden bar used in the treatment 1, induced a significative reduction by half of stem elongation in the three *H. macrophylla* cultivars. Moreover, MS strongly increased diametrical growth only in 'Wudu®' plants (72% to 80% depending on the stimulation material, Figure 2). No such increase in diametrical growth was observed in the other two cultivars 'Anda®' and 'Nanping®'.

Since MS caused injuries to plants, depending on the stimulatory material care should be taken to reduce such side effects. Garner et al. (1997) showed that daily flexures using polyethene or plastic netting caused to many damages or distortion to Geranium and Impatiens leaf petioles while for pansy plants, both stimulation materials significantly reduce petiole length with no injuries. The choice of the stimulation material was also an important parameter in *H. macrophylla*. Indeed, plants mechanically stimulated by the wooden bar had a more reduced growth but also displayed more leaf injuries and uprooting than those stimulated with the fringed curtain (Figure 1; Table I). In treatment 2, an unfringed curtain was tested to provide a lighter material than the wooden bar and stiffer than the fringed curtain. No injuries were observed using the unfringed curtain with yet significant reduction (-44%) in stem elongation without affecting organogenesis activity of the shoot apical meristem (Figures 3; 4).

MS response may depend on the vigour of the *H. macrophylla* cultivars. Among the three cultivars studied, MS had most impact on the least vigorous cultivar ('Wudu®'). In contrast, MS using a fringed curtain had no impact or a reduced impact with an unfringed curtain on the most vigorous cultivar ('Nanping®').

In ornamental plants production, the duration of MS treatment is an important parameter to consider in order not to interfere with others cultural practices (Latimer, 1991; 1998). We achieved better results in 'Wudu®' plants with treatment 2 where plants were mechanically stimulated only one week than in plants stimulated during 5 weeks (treatment 1, Figures 1A; 4A). Thus, treatment 2 would be more interesting to exploit in production, with less labour and material consumption.



## CONCLUSION

Mechanical stimulation (MS) is an effective method to control height growth in *Hydrangea macrophylla* young plants. This study highlights the importance of the stimulation material used to control shoot elongation, and the variation in responses dependant on the genotypes. The unfringed curtain efficiently reduced stem elongation in two *H. macrophylla* cultivars out of three. For the most vigorous cultivar 'Nanping®', MS was less efficient and MS treatment needs to be further adjusted to obtain significative results. Further investigations will also require to decipher the mechanisms involved in *H. macrophylla* responses to MS and its varietal control. The first results obtained are promising to regulate stem elongation and radial expansion using MS in this species. Our work indicates that *H. macrophylla* growth may indeed be reduced -at least in part- by this growth retardant-free MS method. The increase of stem diameter obtained after MS in 3-months-old 'Wudu®' plants will strengthen them to better survive transplanting and may allow to reduce time and care required for transplanting. Several studies have demonstrated that young plants are more sensitive and more responsive to MS (Latimer, 1991; Cipollini and Redman, 1998). In *H. paniculata* aged one year, MS using a fringed curtain with 20 flexures each day to the plants during 8 weeks led to a 10-15% reduction of plants height (ASTREDHOR, 2016) suggesting that MS can have effect on the growth of older *Hydrangea* plants. Impact of MS on branching and flowering will also need to be examined to verify that plant quality is not altered after MS treatment.

## ACKNOWLEDGMENTS

Work carried out within the framework of the Common Laboratory MATCH associating the UMR IRHS (University of Angers, Institut Agro Rennes Angers, INRAE) and Hortensia France Company, with the support of the ANR (French National Research Agency).

## **LITERATURE CITED**

Anderson-Bernadas, C., Cornelissen, G., Turner, C., M., and Koukkari, W., L. (1997). Rhythmic nature of thigmomorphogenesis and thermal stress of *Phaseolus vulgaris* L. shoots. *Journal of Plant Physio.* 151, 575–580.

ASTREDHOR. (2016). Maîtrise de la croissance des plantes par thigmomorphogénèse. Evaluation de l'efficacité de la stimulation mécanique pour réguler la croissance des plantes, pp. 21.

Autio J., Voipio I., Koivunen T. (1994). Responses of Aster, Dusty Miller, and Petunia Seedlings to Daily Exposure to Mechanical Stress. *HortSci* 29: 1449–1452

Bak, S.-H., Jung, H., J., Min Lim, J., Lee, J., S., and Han, T.-H. (2021). The New Domestic *Hydrangea macrophylla* Cultivar 'Moonlight.' *Horticultural Science & Technology* 39, 832–837.

Basra, A., S. (2000). Plant growth regulators in agriculture and horticulture: their role and commercial uses.

Bergstrand, K.-J., Asp, H., and Schüssler, H.K. (2016). Growth control of ornamental and bedding plants by manipulation of photoperiod and light quality. *Acta Hort.* 33–40.

Bergstrand, K.-J., I. (2017). Methods for growth regulation of greenhouse produced ornamental pot- and bedding plants – a current review. *Folia Horticulturae* 29, 63–74.

Biddington, N., L. (1986). The effects of mechanically-induced stress in plants? A review. *Plant Growth Regul* 4, 103–123.

Carvalho, S., M., P., Van Noort, F., Postma, R., and Heuvelink, E. (2018). Possibilities for producing compact floricultural - Wageningen University and Research, pp. 68.

CBI Market Intelligence. (2016). *Hortensia in the European market*, pp.11.

Chandler, S., F., and Sanchez, C. (2012). Genetic modification; the development of transgenic ornamental plant varieties: Transformation technology and new ornamental plant varieties. *Plant Biotech Journal* 10, 891–903.

Cipollini, D., F., and Redman, A.M. Age-Dependent Effects of Jasmonic Acid Treatment and Wind Exposure on Foliar Oxidase Activity and Insect Resistance in Tomato. 11.

Cochran, D., R., and Fulcher, A. (2013). Type and Rate of Plant Growth Regulator Influence Vegetative, Floral Growth, and Quality of Little Lime™ *Hydrangea*. *HortTechnology*, 23, 306-311.

Crespel, L., Morel, P., Li-Marchetti, C., Deogratias, J.-M., Ferre, A., Stapel, O., and Robert, F. (2018). Contrôler l'architecture des plantes horticoles en prenant en compte les facteurs génétiques, environnementaux et culturels. *Innovations Agronomiques*, 63, 43-55.

FranceAgriMer. (2019). Bilan annuel 2018 Commerce extérieur des produits de l'horticulture ornementale, pp.21.

- Garner, L., C., and Allen Langton, F. (1997). Brushing pansy (*Viola tricolor* L.) transplants: A flexible, effective method for controlling plant size. *Scientia Horticulturae* 70, 187–195.
- Garner, L., C., and Björkman, T. (1996). Mechanical Conditioning for Controlling Excessive Elongation in Tomato Transplants: Sensitivity to Dose, Frequency, and Timing of Brushing. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 121, 894–900.
- Garner, L., C., Allen Langton, F., and Björkman, T. (1997). Commercial adaptations of mechanical stimulation for the control of transplant growth. *Acta Hort.* 435, pp. 219-230.
- Hjollund, N., H. (2004). Pesticide exposure in male farmers and survival of in vitro fertilized pregnancies. *Human Reproduction* 19, 1331–1337.
- Jaffe, M., J. (1973). Thigmomorphogenesis: The response of plant growth and development to mechanical stimulation: With special reference to *Bryonia dioica*. *Planta* 114, 143–157.
- KANTAR. (2020). Les achats de végétaux, arbres, plantes et fleurs des Français en 2019, pp.94.
- Latimer, J., G. (1998). Mechanical Conditioning to Control Height. *HortTechnology* 8, 529–534.
- Latimer, J., G. (1991). Mechanical Conditioning for Control of Growth and Quality of Vegetable Transplants. *HortScience* 26, 1456–1461.
- Morel, P., Crespel, L., Galopin, G., and Moulia, B. (2012). Effect of mechanical stimulation on the growth and branching of garden rose. *Scientia Horticulturae* 135, 59–64.
- Nadin, P. (2007). The Use of Plant Protection Products in the European Union Data 1992-2003.
- Rademacher, W. (2015). Plant Growth Regulators: Backgrounds and Uses in Plant Production. *Journal of plant growth regulation* 34, 845–872.
- Sorensen, M., T., and Danielsen, V. (2006). Effects of the plant growth regulator, chlormequat, on mammalian fertility. *International journal of andrology* 29, 129–133.
- Telewski, F., W., and Jaffe, M., J. (1986). Thigmomorphogenesis: Anatomical, morphological and mechanical analysis of genetically different sibs of *Pinus taeda* in response to mechanical perturbation. *Physio. Plant* 66, 219–226.
- Ulian, T., Diazgranados, M., Pironon, S., Padulosi, S., Liu, U., Davies, L., Howes, M.R., et al. (2020). Unlocking plant resources to support food security and promote sustainable agriculture. *Plants People Planet* 2, 421–445.

### 3. Conclusions générales

Les résultats de ces travaux mettent en évidence l'importance du choix du matériau de stimulation pour réguler la croissance de jeunes plants d'*Hydrangea macrophylla*, offrant ainsi une alternative aux retardateurs de croissance chimiques.

Parmi les matériaux testés, la bâche en plastique non frangée s'est révélée être la plus efficace pour réduire l'allongement des tiges chez deux des trois cultivars d'hortensia étudiés ('Nanping®' et 'Wudu®'). De plus, cette réponse significative sur la croissance des tiges a été obtenue sans entraîner d'effets négatifs sur leur développement, contrairement à la barre en bois qui a entraîné des blessures et le déracinement de certaines plantes. Ces résultats soulignent également la variabilité des réponses entre variétés d'une même espèce soumises au même traitement mécanique.

Notre traitement mécanique augmente le diamètre des tiges du cultivar 'Wudu®', ceci est un avantage en production car cela renforce la résistance des plantes et améliore leur capacité de reprise après les repiquages effectués en production.

Pour la suite de la thèse, nous avons décidé de conserver uniquement le cultivar 'Wudu®' et la bâche plastique non frangée pour toutes les expérimentations relatives à la stimulation mécanique, puisque celui-ci montrait les plus fortes réponses à notre traitement mécanique.

Notre recherche a ensuite progressé vers une analyse approfondie des réponses cellulaires et moléculaires à la stimulation mécanique de l'hortensia. La compréhension de ces mécanismes revêt en effet une grande importance, car elle ouvre la voie à un meilleur contrôle et à une optimisation des effets du traitement de stimulation mécanique sur la croissance des plantes et leur qualité.



## Chapitre 2 : Des flexions symétriques récurrentes provoquent le nanisme chez l'hortensia à travers la régulation spatiale et moléculaire des parois cellulaires du xylème

### 1. Contexte de l'étude

Cette seconde partie de la thèse se consacre à la compréhension des mécanismes sous-jacents aux réponses de croissance induites par la stimulation mécanique chez l'hortensia. Le traitement mécanique appliqué a consisté en l'application de flexions symétriques récurrentes (1 ou 12 fois par jour pendant 3 semaines) des tiges de jeunes plants d'*Hydrangea macrophylla* cv. 'Wudu®'.

Dans un premier temps, nous avons finement analysé les réponses morphologiques des plantes en examinant la croissance et le développement des tiges, des entre-nœuds et de la surface foliaire selon la fréquence du traitement (1 ou 12 fois par jour). Nous avons également évalué l'impact éventuel du traitement mécanique sur l'induction florale car cette question est cruciale pour une plante d'ornement.

Afin de comprendre de manière plus approfondie l'action de la stimulation mécanique sur les tiges d'hortensia. Nous avons réalisé une étude histologique des entre-nœuds le long de la tige. L'entre-nœud le plus basal (n°1) avait achevé son élongation et était en phase de croissance secondaire, tandis que l'entre-nœud n°3, était en cours de croissances primaire et secondaire au moment de l'application du traitement. Nous nous sommes donc demandé si l'impact de la stimulation mécanique était le même sur des entre-nœuds de stades différents. Nous avons complété cette analyse par une étude moléculaire de gènes cibles afin d'identifier quelques acteurs de la voie de signalisation de la stimulation mécanique chez l'hortensia. En lien avec notre étude histologique, nous nous sommes focalisés sur des gènes liés à l'élongation et à la division cellulaire, à l'extension et au relâchement pariétal, ainsi qu'au développement de la paroi secondaire et la voie des phénylpropanoïdes. Pour ce faire, nous avons sélectionné des gènes marqueurs des réponses thigmomorphogénétiques précédemment identifiés chez *Populus* sp. (Pomiès et al., 2017).

*Chapitre 2 : Des flexions symétriques récurrentes provoquent le nanisme chez l'hortensia à travers la régulation spatiale et moléculaire des parois cellulaires du xylème*

Les résultats de ces travaux sont présentés dans une première partie sous la forme d'un article scientifique qui a été soumis en juillet 2023 dans le journal *Frontiers in plant sciences* et actuellement en relecture.

La compacité revêtant de la réduction de croissance des tiges mais aussi de l'augmentation de leur ramification axillaire, nous nous sommes intéressés à l'effet de la stimulation mécanique sur ce processus. Les résultats de ces travaux sont présentés dans une seconde partie de ce chapitre.

## **2. Recurrent symmetrical bending causes dwarfing in *Hydrangea* through spatial, molecular regulation of xylem cell walls**

Dans cet article, nous montrons que des traitements de stimulation mécanique (1 ou 12 flexions par jour pendant 3 semaines) induisent une réduction de l'élongation des tiges ainsi qu'une augmentation de leur croissance diamétrale. À travers une analyse histologique et moléculaire des entre-nœuds, nous démontrons que les réponses de l'hortensia à ces stimulations sont soumises à un contrôle spatial et sont régulées par des gènes considérés comme marqueurs des réponses thigmomorphogénétiques et impliqués dans la xylogénèse, le relâchement et l'épaississement des parois cellulaires. Les figures supplémentaires associées à cet article sont présentées à la suite de l'article et les tableaux supplémentaires sont présentées dans l'**Annexe I**.



**Recurrent symmetrical bending causes dwarfing in *Hydrangea* through spatial, molecular regulation of xylem cell walls**

**Béra Ley-Ngardigal<sup>1,2</sup>, Hanaé Roman<sup>2</sup>, Nathalie Brouard<sup>1</sup>, Lydie Huché-Thélier<sup>1</sup>, Vincent Guérin<sup>1</sup> and Nathalie Leduc<sup>1,\*</sup>**

<sup>1</sup>Univ Angers, Institut Agro, INRAE, IRHS, SFR QUASAV, F-49000 Angers, France

<sup>2</sup> Hortensia France, La Bodinière, 49140 Rives-du-Loir-en-Anjou, France

**\* Correspondence:**

Nathalie Leduc

[nathalie.leduc@univ-angers.fr](mailto:nathalie.leduc@univ-angers.fr)

**Abstract**

Environmental prejudices lead to progressive banning of dwarfing molecules in agriculture and alternatives are urgently required. Mechanical stimulation (MS) is a promising, eco-friendly and economic technic, some of whose responses are species-dependent. Besides, more frequent and violent wind episodes are forecasted under global change. Knowledge on plant responses to stimuli mimicking wind sways are therefore decisive for agriculture. However, little is known on plant mechanosensitive responses after long term, recurrent MS. Here, effects of 3-week, recurrent, symmetrical bendings (1 or 12 per day) in *Hydrangea macrophylla* stems are examined. Bendings repressed internodes elongation, leaf area and increased radial growth of basal internode. Responses were dose-dependent and no desensitization was observed along the 3 weeks. MS was 2/3 as effective as daminozide for dwarfing plants and improved stem robustness. Histological and molecular responses to MS were spatially controlled in correlation with ongoing primary or secondary growths in internodes. MS had a transcriptional impact 48h after last bending and promoted *XYPI*, *FLA11*, *CAD1* while repressing *EXP3* and *XTH33* homologs in correlation with xylogenesis, cell wall thickening, lignin deposition in xylem of basal internode. In upper elongating internode, repression of *XYPI*, *CAD1*, *SAMS1*, and *CDC23* homologs correlated with ongoing primary, even though repressed, growth.

**Keywords:** biomimetics, mechanical stress, non-chemical dwarfing, ornamental, plant compactness, stem flexure, thigmomorphogenesis, wood anatomy

## **INTRODUCTION**

Wind sways cause mechanical loads on plants leading to deep morphological changes. These are mainly characterized by a reduction of shoot elongation together with an enhanced radial growth (Jaffe and Forbes, 1993). This often leads to development of dwarf plants with larger stems more capable to withstand strong winds and to remain vertical (Gardiner et al., 2016; Bonnesoeur et al., 2016). Also, an increased branching and a reduction of the global leaf area can be observed (Vernieri et al., 2003; Morel et al., 2012).

These thigmomorphogenetic responses meet the requirement of the horticultural industry for high quality, compact and heavy flowering plants free from growth retardant treatments according to public authorities' environmental regulations (Boumaza et al., 2010; Megersa et al., 2018). Mechanical stimulation (MS) methods were therefore developed to mimic the thigmomorphogenetic effects of wind, these yielding good success in the growth control of some crops (Börnke and Rocks, 2018).

Yet, plant responses are species, and even cultivar, dependant (Autio et al., 1994) and desensitization of plants to recurrent MS is observed (Martin et al., 2010). Research effort is therefore needed to understand the regulatory pathways behind wind-mimicking mechanical stimulation for broad application of MS in horticulture (Andersen and Andersen, 2000; Sorensen and Danielsen, 2006; Bergstrand, 2017; Niez et al., 2020). This research is also essential for crop breeding in order to reduce crop damage witnessed after the more frequent and violent wind episodes linked to global change (Gardiner et al., 2016).

So far, little has been uncovered on the machinery of wind-derived mechanical stimulation (Roignant et al., 2018; Brenya et al., 2022) and only a handful number of species were investigated making comprehensive understanding of these responses limited (*Pinus taeda*, Dranski et al., 2018; *Abies fraseri*, Telewski, 1989; poplars and their hybrids, Fluch et al., 2008; Niez et al., 2020, *Arabidopsis thaliana*, Paul-Victor and Rowe, 2011; Zhdanov et al., 2021; *Solanum lycopersicum*, Coutand et al., 2000 and recently, *Brachypodium distachyon*, Gladala-Kostarz et al., 2020; Coomey et al., 2021).

Wind mechanical loads have a major impact on plant anatomy and lead to development of flexure wood (FW) in woody species. With its thick cell walls (Telewski, 2016) and its high ratio of syringyl/guaiacyl (S/G) lignin units (Gardiner et al., 2014; Telewski, 1989, 2016; Roignant et al., 2018; Niklas and Telewski, 2022), FW would contribute to resist to

mechanical failure and maintain verticality. Very few information was so far gained on the regulatory pathways leading to cell wall changes after wind-imposed mechanical loads. In woody species, most molecular data were obtained in hybrid poplar (Martin et al., 2010; Pomiès et al., 2017). In this species, one or two asymmetrical bendings of the stem mimicking wind loads cause up-regulation of the closest homologs of the touch gene *PtaTCH4* (Martin et al., 2010). *TCH4* is a member of the *XET/XTH* family encoding *XYLOGLUCAN ENDOTRANSGLYCOSYLASE/HYDROLASES* involved in the control of cell wall plasticity (loosening or thickening) in secondary xylem cells (Kushwah et al., 2020). Other genes-encoding parietal proteins, such as *CESA (CELLULOSE SYNTHASE: Potri.007G076500; Potri.001G136200)*, *FLA (FASCICLIN-LIKE ARABINOGALACTAN PROTEINS: Potri.012G015000; Potri.004G210600; Potri.009G012100)* and some *PECTINASES* including *PLG (POLYGALACTURONASES: Potri.006G058600; Potri.002G162400)* and *PE (PECTIN ESTERASES: Potri.003G072700; Potri.014G117100)*, were also up-regulated after a single asymmetrical flexure in poplar stem while some others as the cell-wall expansion gene *EXPANSIN B3* (Potri.019G101900) were down-regulated (Pomiès et al., 2017). Up-regulation of lignin biosynthesis genes such as *CINNAMOYL ALCOHOL DEHYDROGENASE* (Potri.002G018300) and *S-ADENOSYL-L-METHIONINE SYNTHETASE* (Potri.013G004100; Potri.008G099300) were also reported in Poplar (Pomiès et al., 2017). This last gene contributes to synthesis of S-adenosyl-L-methionine (SAM), an important methyl donor in the biosynthesis of both G-type and S-type lignin units (Li et al., 2022). In addition, repression of *CELL DIVISION CYCLE* (Potri.012G075000) gene within 30 minutes after stimulation was measured that correlates with the transient cessation of cambial activity observed after one bending, prior to resumption of secondary growth (Pomiès et al., 2017).

These molecular results were obtained after one or two bendings of poplar stem. However, attenuation of the thigmomorphogenic responses is often observed when plants are subjected to long-term, recurrent mechanical stimulation. This desensitization reaction would prevent plants from unnecessary further reduction of growth (Martin et al., 2010; Pomiès et al., 2017). Understanding molecular machinery behind such desensitization is still in its infancy (Brenya et al., 2022) despite importance of understanding plant long-term responses under windy environment and to prevent attenuations of mechanical stimulation responses in horticultural crops dwarfed this way. So far, only two studies explored molecular control after long term recurrent mechanical stimulations of stems (Roignant et

al., 2018; Coomey et al., 2021). First, Roignant et al. (2018) suggested a link between accumulation of G-layer enriched wood fibers in the stretched side of polar stem after 8 weeks of recurrent asymmetrical bending and the expression of *FASCICLIN-LIKE* arabinogalactan proteins genes (*POPFLA6* and *PtaFLA14.9*). FLA-encoding gene transcripts were so far described in tension wood formed after gravitropic loads (Lafarguette et al., 2004; Andersson-Gunneras et al., 2006; Azri et al., 2014; Gerttula et al., 2015; Wang et al., 2017, Ma et al., 2022a). Second, in the Poaceae, *Brachypodium distachyon*, after 3 weeks of daily mechanical bending of the plant, secondary wall thickening in the roots correlated with up-regulation of *GA2ox3* after binding by *SECONDARY WALL INTERACTING* bZIP transcription factor (Bradi1g17700) (Coomey et al., 2021).

With the aim to broaden knowledge and evaluate genericity of reported plant responses to recurrent long-term mechanical loads and desensitization, we investigated responses of *Hydrangea macrophylla*, an important ornamental bush species. This is thus the only second woody angiosperm species after poplar to be examined from plant to molecular levels after wind mimicking MS. We focused on histological changes through analyses of stem cross sections and of quantitative expressions of nine MS-responding genes already described in the literature (Martin et al., 2010; Pomiès et al., 2017) and related to cell wall and cell growth. We also identified for the first time *XYLOGEN PROTEIN 1 (XYPI)* gene which encodes an arabinogalactan protein promoting xylem cell differentiation (Motose et al., 2004; Ma et al., 2014) as a responsive gene to MS. Our analysis was carried on two portions of a stem allowing first simultaneous comparison of MS responses in primary and secondary growing internodes along a same stem. Measurements were carried along 3 weeks of recurrent daily MS treatment using two frequencies of MS in order to evaluate quantitative growth and desensitization responses according to the number of daily MS. Finally, in a perspective of replacement and/or of reduction of growth retardants use in horticulture, we also compared efficiencies of MS and of daminozide, the most widely PGR used, on plant compactness and discuss the potential benefit of MS in *H. macrophylla* production.

## **MATERIAL AND METHODS**

### **Plant material**

*Hydrangea macrophylla* cv. 'Wudu®', from a single genotype were produced from micro-cuttings (Galopin et al., 1996) by Hortensia France company (Rives-du-Loir-en-Anjou, France). When the root system of the micro-cuttings had completely filled the micro-plugs (Green Products, Jongkind substrate: 35% Swedish peat, 27.5% brown peat, 37.5% perlite) they were inserted into, plants were transferred into 10 cm diameter pots containing a mixed fertilized peat-coconut substrate (composition for 1 m<sup>3</sup>: 750 L peat, 250 L coconut fiber, 0.70 kg Pg-Mix Haifa 12-14-25, 0.3 kg microelements, 0.70 kg limestone, 1 kg dolomite lime, 5 kg clay). At the beginning of each experiment, young plants bore 3 pairs of well-developed leaves from a single unbranched stem (1.3 cm length and 2.6 cm diameter at the collar on average) composed of 3 internodes (**Supplementary Material**). MS experiments were carried in a growth chamber (T° day/night: 23/21°C; RH: 80%) where plants were subirrigated once each week with a nutrient solution (Angibaud-Soluveg® ALC 47; EC: 1.8 mS/cm; pH: 6). Plants were grown under a photoperiod of 16 h/day under artificial light using light-emitting diodes (Topband) with a photon flux density [380-780 nm] of 100 ± 2 μmol/m<sup>2</sup>/s. At the end of the experiments, some plants were further grown up until flowering.

### **Mechanical stimulation**

MS device as described in Morel et al. (2012) was composed of 2 arms allowing 2 simultaneous mechanical treatments, each arm moving back and forth at a speed of 12 m/h over a 2.1 m<sup>2</sup> surface area (2.1 m length x 1.0 m width). An automatic launch program allowed to choose the days, frequencies, time slots and duration of the stimulations. The stimulation material was an unfringed 2 mm thick plastic curtain (2.3 kg/m<sup>2</sup>) which did not induce leaf damage or uproot *H. macrophylla* young plants (Ley-Ngardigal et al., 2023). Height of the stimulating material was adjusted all along the experiment so that the lower part of the curtain always reached the plants 0.5 cm below their apex. Upon each MS, stem was bent at an angle of 30° with reference to verticality for about 30 seconds (**Supplementary Material**). MS was applied each morning between 9:00 a.m. and 10:00 a.m., 5 consecutive days per week and during 3 weeks. In 1B treatment, plants were mechanically stimulated by one single bending per day (one forth the first day, one back the second day, ...). In 12B treatment, plants were mechanically stimulated by 12 successive

bendings (i.e. 6 forth and 6 back) each day. For each of the 3 biological repeats, a total of 35 plants were placed under each arm including 20 border plants and 15 plants in the center that were analyzed.

### **Treatment with chemical growth retardant**

Dwarfing effects of MS and of daminozide (Dazide ENHANCE® 5g/L), the plant growth regulator (PGR) used most often in production, were compared. A total of 35 plants per each of 3 biological repeats were treated with this PGR at the same developmental stage as the plants at the start of MS experiments. The chemically dwarfed plants (named PGR-treatment) were next grown under same environmental conditions as MS plants and control plants (i.e. non-MS and non-chemically dwarfed plants (C-) for 3 weeks.

### **Stem ovalization**

To compare the effects of recurrent bilateral MS (see paragraph ‘Mechanical stimulation’ above) with permanent, static flexure on the ovalization of *H. macrophylla* stem, stem of a total of 6 plants (2 plants per biological repetition) were tied permanently at an angle of 45° with reference to verticality during 3 consecutive weeks with no interruption. Approximately 55 µm cross-sections of the 1<sup>st</sup> internode (at the collar) and of the 6<sup>th</sup> internode (the last developed internode at the beginning of the experiment) were hand-cut using a razor blade. Cross-sections were stained using Mirande’s reagent and observed using a Macroscope Zeiss Axio Zoom V16 (2019) (see paragraph ‘Histological analysis’ below). At the end of the experiment, ovalization of the stem cross-sections was determined according to Niez et al. (2019). Results obtained from this experiment are shown in **Supplementary Material**.

### **Whole plant measurements**

Plant stem height was measured between the stem collar and below the apex using a ruler with a 0.5 mm accuracy, one day prior MS treatment and once a week on days 7, 14 and 21. At the beginning and at the end of each experiment, stem diameter at the collar was measured using a caliper with a 0.01 mm accuracy as well as the number of pairs of leaves and of internodes. At the end of each experiment, leaves of 5 randomly chosen plants were scanned and leaf area determined using ImageJ image processing software (version 1.52 p).

### **Histological analysis**

Approximately 55  $\mu\text{m}$  cross-sections of the 1<sup>st</sup> internode at the collar (IN1) and of the middle of the 3<sup>rd</sup> internode (IN3) were hand-cut using a razor blade. Cross-sections were 1<sup>st</sup> stained using Mirande's reagent to differentiate lignified tissues (green-blue staining) from cellulosic tissues (pink staining) (Mondolot, 2001). To avoid false positive or negative reactions, a 2<sup>nd</sup> staining with Wiesner reagent was used to reinforce the observations from the Mirande's reagent (Lewis and Yamamoto, 1990). Wiesner reagent allows quantification of lignified tissues stained in red/pink (Nakano and Meshitsuka, 1992; Ferreira et al., 2017). Maüle reagent was used to analyze spatial distribution of the two lignin units in dicotyledonous angiosperms: guaiacyl (G-type) in brown and syringyl (S-type) units in red (Nakano and Meshitsuka, 1992; Mondolot, 2001). The orange or brownish/orange coloration after Maüle reaction indicates mixed S/G lignin units (Ferreira et al., 2017). For Mirande's reagent, cross-sections were first bathed in sodium hypochlorite 9.6% for 15 minutes, then in distilled water for 3 minutes, followed by an acetic acid 20% bath for 5 minutes. Sections were then stained with Mirande's reagent (a mix of green iodine and carmine alum; Sordalab) for 15 minutes and rinsed in distilled water for 3 minutes. For Wiesner reaction, cross-sections were successively immersed in baths of sodium hypochlorite 9.6% for 10 minutes, distilled water for 3 minutes, phloroglucinol 2% for 10 minutes, hydrochloric acid 37% for few seconds and in distilled water to stop immediately the reaction. In the same way, cross-sections using Maüle's reagent were treated with potassium permanganate 1% for 20 minutes, distilled water for 3 minutes, hydrochloric acid 37% for 5 minutes, distilled water for 10 minutes and sodium bicarbonate 5% for few seconds. Cross-sections were then observed using a Macroscope Zeiss Axio Zoom V16 (2019). The software ImageJ and the color clustering plugin associated were used to analyze the images. Cell wall structures were also observed using scanning electron microscopy. Hand cross-sections (approximately 55  $\mu\text{m}$ -thick) were made using a razor blade in the 1st internode and immediately immersed in distilled water and quickly observed under a Phenom G2 PRO desktop Scanning Electron Microscope (SEM). Image analyzes were made using Phenom G2 PRO SEM software.

### **Research of candidate genes in *Hydrangea macrophylla***

As the sole *H. macrophylla* genome available to-date (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>; Nashima et al., 2021) is poorly annotated, identification of *Hydrangea macrophylla* sequences were retrieved by similarity comparison of *Arabidopsis thaliana*, *Solanum*

*lycopersicum*, *Populus trichocarpa*, *Camellia sinensis* and *Oryza sativa* protein sequences (all available on <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Accession number of sequences used in this paper are available in the supplementary data (**Supplementary Material**). Multiple sequence alignments were performed using default parameters of ClustalW in MEGAX® software (Kumar et al., 2018). Phylogenetic trees were inferred using the Neighbor-Joining method (Saitou and Nei, 1987) and were assessed by bootstrapping (1000 replicates) using MEGAX® software. Phylogenetic trees are shown in **Supplementary Material**.

### **RNA extraction, cDNA synthesis and RT-qPCR**

Following 2 weeks of mechanical treatment, basal internode IN1 and upper internode IN3 from 45 plants (15 plants per biological repetition) were collected 48h after the last mechanical-stimulation, i.e. at 10 a.m. on the second day with no mechanical treatment of that week. Approximately 60 mg of each internode type were crushed in a mortar using liquid nitrogen. RNAs were extracted using the RNA plant extraction kit (Macherey-Nagel). Quality and quantity of RNAs were checked using the Nanodrop One (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) and their integrity was analyzed on agarose gel. From 500 ng RNA, synthesis of complementary DNA (cDNA) was carried out using the iScript Reverse Transcription Supermix for RT-qPCR kit (Bio-Rad). RT-qPCR were carried out in a final volume of 15 µL containing 3 µL of cDNAs diluted to 1/50, 1 µL of primer pairs, 4 µL of SYBR Green Supermix (Bio-Rad) and 7 µL of ultrapure water. The following amplification program was used: initiation at 98°C for 3s, 40 cycles including a denaturation step at 95°C for 5s and a hybridization and elongation step at 60°C for 30s and finally a last stage of 'melting curve' with an increase of 0.5°C every 2s up to 95°C. The fluorescence was detected and measured using a CFX Connect real-time PCR system (Bio-Rad). The abundance of transcripts was expressed relative to the control condition according to the method described by Pfaffl, 2001 after normalization using already described reference genes *18S RIBOSOMAL RNA* (*Hm18SRNA*) (Chen et al., 2015) and *HmACTIN* (Peng et al., 2021), and 2 new reference genes developed in this study: *PROTEIN PHOSPHATASE 2A CATALYTIC SUBUNIT ALPHA* (*HmPP2A*) and *ELONGATION FACTOR 1 ALPHA* (*HmEF1a*). Primers developed in this paper were designed on *Hydrangea macrophylla* 'Aogashima-1' genome (GCA\_013391905.1) available on NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>; Nashima et al., 2021). All primers sequences are available as supplementary data (**Supplementary Material**).



### Statistical analysis

Graphs and tables represent the means ( $\pm$  s.e.) of 3 independent biological replicates. Number of plants per biological replicate is given in each graph and table. Statistical analyses were carried out using R Studio software version 2022.07.0. All tests (ANOVA parametric test and both Kruskal–Wallis and Wilcoxon–Mann–Whitney non-parametric tests) were done with an alpha risk error of 0.05.

## RESULTS

### MS reduces elongation of internodes in *Hydrangea macrophylla*

MS treatment caused significant reduction of stem elongation of young *Hydrangea macrophylla* plants. After 3 weeks of MS, stem height was significantly reduced by 38% for 12B treatment and by 18% for 1B treatment as compared to control (C-) (**Figure 1A**). Reduction in stem elongation was observed already the first week of MS treatment and continued further the following 2 weeks (**Figure 1B**). Interestingly, significant reduction in stem elongation was similar each week ( $P > 0.05$ , **Figure 1B**): 19%, 7% and 14% for 1B-treatment and 36%, 30% and 34% for 12B-treatment. This suggests that MS treatment efficiency was constant over the 3 weeks of the experiment. No significant difference in the number of new phytomers produced by MS-treated and by control (C-) plants was observed (**Figure 1C**) suggesting that MS does not affect shoot apical meristem (SAM) organogenic activity in *Hydrangea*. The last internode just below the SAM and still elongating at the start of the experiment (upper preformed internode IN3) and both newly-formed 4<sup>th</sup> and 5<sup>th</sup> internodes were measured at the end of the experiment. 12B treatment induced a significant reduction in length of the upper pre-formed internode IN3 as well as of both newly formed internodes in comparison to the control (C-) (**Figures 1D-F**). Such effect was less visible with 1B treatment. Together these results highlight that MS repressed stem elongation in *Hydrangea macrophylla* and acts through a reduction of internodes elongation, and not through a reduction of SAM organogenesis.

### MS promotes radial growth of basal internodes in *Hydrangea macrophylla*

Diameter of the most basal internode IN1 at the collar of the stem was measured at the beginning and the end of the 3-weeks MS treatment. IN1 had finished primary elongation and started secondary growth at the beginning of MS treatment while upper internode IN3 pursued elongation during treatment. MS induced an important radial growth at the collar of the stem with an increase of 70% for 1B and 98% for 12B of the IN1 diameter as

compared to the control (C-) (**Figure 2A**). This is confirmed by the measurement of the global area of cross-sections of this internode (**Figure 2B**). No impact of MS on the radial growth of the IN3 was measured (**Figure 2C**). Also, no ovalization of the upper and basal internodes occurred under our bilateral MS treatment. On the contrary, when a permanent static flexure was imposed during 2 weeks on *Hydrangea* stem, asymmetrical radial growth of both internodes was observed. Ovalization was particularly marked in the distal part of the stem with strong accumulation of cortical tissue in the lower side of the stem (**Figures 3A-B, Supplementary Material**).

### **MS induces cell wall thickening and lignin accumulation in secondary xylem of basal stimulated internode**

Histological analysis of cross-sections showed that MS impacted the development of the cortical zone and of the vascular tissues in basal IN1 (**Figure 3C**). After 3 weeks, cortical zone, phloem and xylem area in 12B-plants had increased respectively by 87%, 79% and 85% in comparison to the control (C-). In 1B plants, same increases were observed, yet less important: 45% for the cortex, 37% for the phloem and 60% for the xylem compared to the control (C-) (**Figure 3C**). Increase in abundance in cortical tissues and in phloem was observed already from the first week of MS treatments and continued all along the treatments. Significant expansion of xylem tissues was observed only upon the second week and continued until the end of the treatment (**Figure 3C**). In contrast, cross-sections in the upper IN3 showed no increased area in any of the tissues either after 1B or 12B treatments (**Figures 3D; 4C**). Scanning Electron Microscopy (SEM) on xylem cell walls revealed that 12B-treatment caused a strong cell wall thickening in radial parenchyma cells, xylem fibers and vessel elements in the basal IN1 (**Figure 5**). Cell walls of xylem fibers and of vessel elements were about three times thicker than those of the control (C-) (**Figures 5G-H**). Upon staining of the cross-sections with Mäule reagent, no qualitative difference was observed between the stimulated and the control plants (**Figure 6**). As in control (C-), after MS, primary xylem was composed of low S/G lignin units and secondary xylem contained both high and low S/G lignin units (**Figure 6**). Finally, MS did not induce the development of a cellulosic G-layer in vessel cell wall, nor a reduction of vessel size in *H. macrophylla* (**Figures 5C; 5F; 6A; 6C**).

### **MS reduces leaf expansion and has no impact on rooting and flowering**

Under 12B MS treatment, a significant reduction (39%) of leaf expansion occurred (**Figure 7A**). No such reduction was observed in 1B-stimulated plants. Concerning root development, no difference in the development of the root system after MS was observed (data not shown). Also, when MS plants and control plants (C-) were placed in an environment that induces floral transition, no difference in time to flower (bud emergence time-point) or in inflorescence sizes was observed (**Figure 7B**).

### **Effects of daminozide in *Hydrangea macrophylla***

Treatment using PGR daminozide, caused a strong 56% reduction of stem elongation as compared to control (C-) plants after 3 weeks (**Figures 1A-B**). Maximum reduction was reached only the second week (72%) and then daminozide decreased in efficiency (46%;  $P < 0.05$ ) during the third week (**Figures 1B; 3D**). PGR-treated plants did not increase in stem diameter but rather shrunk significantly by 30%. This reduction in diameter was true both at the collar and at the upper IN3 (**Figure 2**) and was due to the reduction of the cortical zone, of xylem and of phloem tissues (respectively of 40%, 40% and 28% in the basal internode and 30%, 63% and 29% respectively in the IN3 (**Figures 3C-D; 4B-C**). Leaf expansion was also strongly reduced (by 61%) with PGR treatment (**Figure 7A**). No impact of PGR treatment on SAM organogenic activity nor flowering was observed (**Figure 7B**).

### **Phylogenetic analysis of candidate genes in *Hydrangea macrophylla***

*H. macrophylla* genome was only recently sequenced from cv. 'Aogashima-1' young leaves (Nashima et al., 2021) and is still this poorly annotated. So far, very few genes involved in stem development in *Hydrangea* have been studied. Sequence alignments with those of other plant species (*A. thaliana*, *S. lycopersicum*, *P. trichocarpa*, *C. sinensis* and *O. sativa*) and phylogenetic analysis were therefore required to identify *Hydrangea macrophylla* homologous sequences of target genes. Nine sequences of MS-responding genes as described in literature (Martin et al., 2010 ; Pomiès et al., 2017) and involved in phenylpropanoid pathway were identified in *Hydrangea macrophylla* this way: *HmSAMS1* (*S-ADENOSYL-L-METHIONINE SYNTHETASE 1*), in lignin biosynthesis: *HmCAD1* (*CINNAMYL ALCOHOL DEHYDROGENASE 1*), in cell division: *HmCDC23* (*CELL DIVISION CYCLE 23*), in cell wall modification: *HmCESA5* (*CELLULOSE SYNTHASE 5*); *HmFLA11* (*FASCICLIN-LIKE ARABINOGLACTAN-PROTEIN 11*); *HmEXPB3* ( $\beta$ -*EXPANSINE 3*); *HmPE1* (*PECTINE ESTERASE 1*); *HmPGX3* (*POLYGALACTURONASE*

*INVOLVED IN EXPANSION 3*); *HmXTH33* (*XYLOGLUCAN:XYLOGLUCOSYL TRANSFERASE 33*). Sequence of *HmXYPI*; *XYLOGEN PROTEIN 1*, a gene so far never studied in response to MS and involved in vascular differentiation (Motosé et al., 2004) was also identified. 8 out of the 10 *H. macrophylla* isoforms had highest sequence homology with those of *S. lycopersicum* and *C. sinensis*. For *HmXYPI* and *HmPGX3*, highest homology was with *P. trichocarpa* (61%) and *A. thaliana* (89%) sequences respectively (**Supplementary Material**).

### **MS modulates expressions of cell wall-, cambium-, and lignin biosynthesis-related genes**

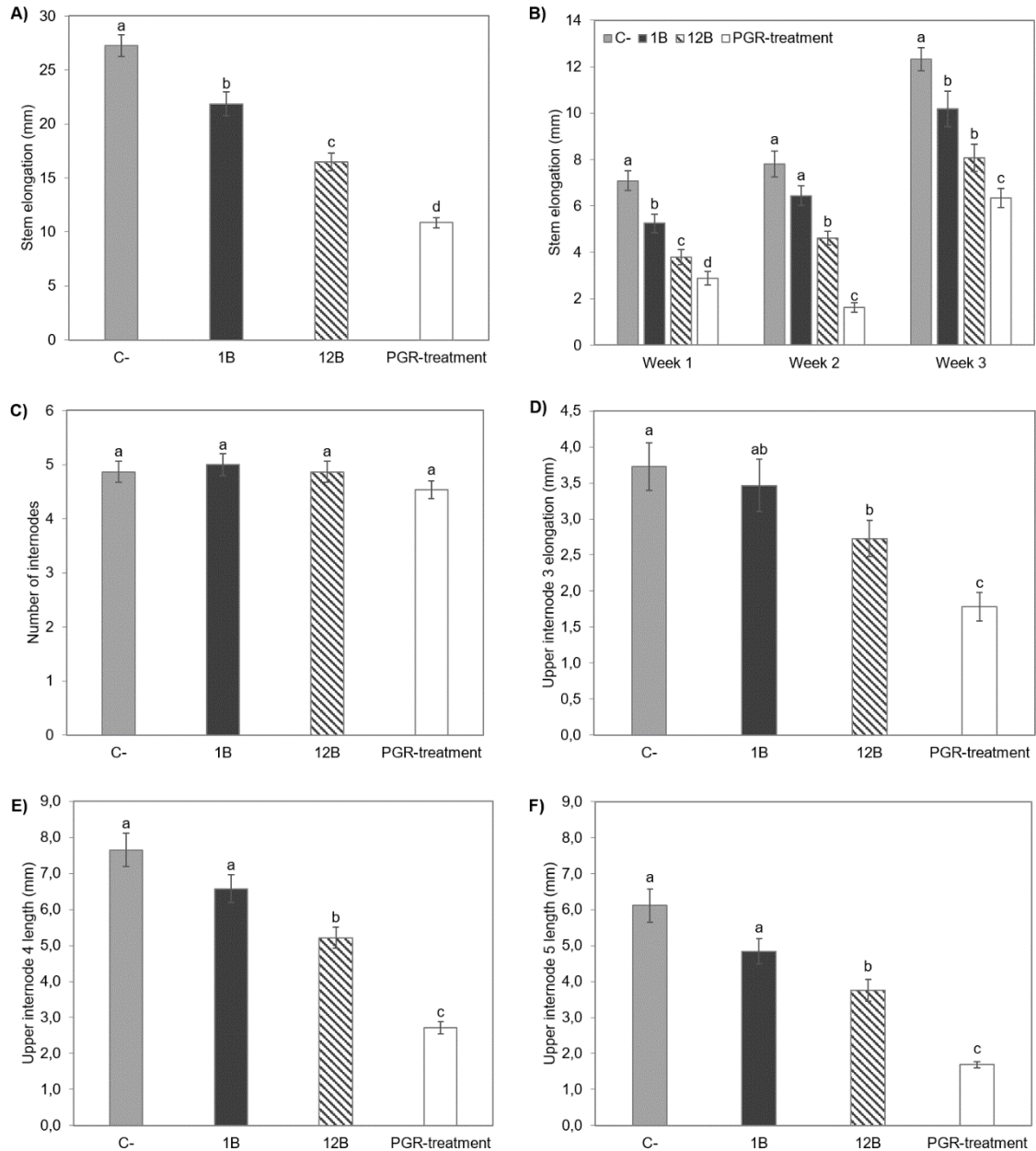
In order to investigate MS impact at molecular level, real-time quantitative PCR primers were designed for the *H. macrophylla* isoforms of the above 10 target genes (**Supplementary Material**) and transcript accumulations measured in basal internode IN1 and in upper internode IN3 collected 48h after the last stimulation of 12B treatment and in control plants (C-) (**Figure 8**). In control plants, a differential expression of some of these genes between the upper internode IN3 and the basal internode IN1 was measured. In particular, the cell cycle *HmCDC23*, lignin biosynthesis *HmCAD1* and cell wall regulator *HmFLA11* were down-regulated in the upper IN3 in comparison to the basal IN1 (**Figure 8A**). Conversely, *PECTINE ESTERASE 1* (*HmPE1*) gene was more expressed in upper IN3 than in basal IN1 (**Figure 8A**). These differences likely correlate with the different ongoing processes that take place in these internodes: elongation through primary growth and a start of secondary growth in upper IN3, and only secondary radial growth in basal IN1. Higher expression of the lignin biosynthesis *HmCAD1* gene measured in basal IN1 of control plants (C-) correlates also well with the strong development of the secondary xylem observed in this same node (**Figure 3**).

MS caused a deep transcriptional regulation of some of the target genes in these internodes (**Figures 8B-C**). In basal IN1 and in comparison, with control plants (C-), MS up-regulated the xylogenesis *HmXYPI* gene together with the lignin biosynthesis *HmCAD1* and the cell wall modification *HmFLA11* gene. MS also caused a down-expression of cell wall expansion genes *HmEXP3* and *HmXTH33* (**Figure 8B**). In upper IN3, MS significantly impacted 5 of the 10 target genes, 3 being also regulated in basal IN1, yet with different patterns. In contrast with basal IN1, xylem differentiation *HmXYPI* and lignin biosynthesis-related gene *HmCAD1* were significantly repressed by MS in upper IN3 (**Figure 8C**). Under

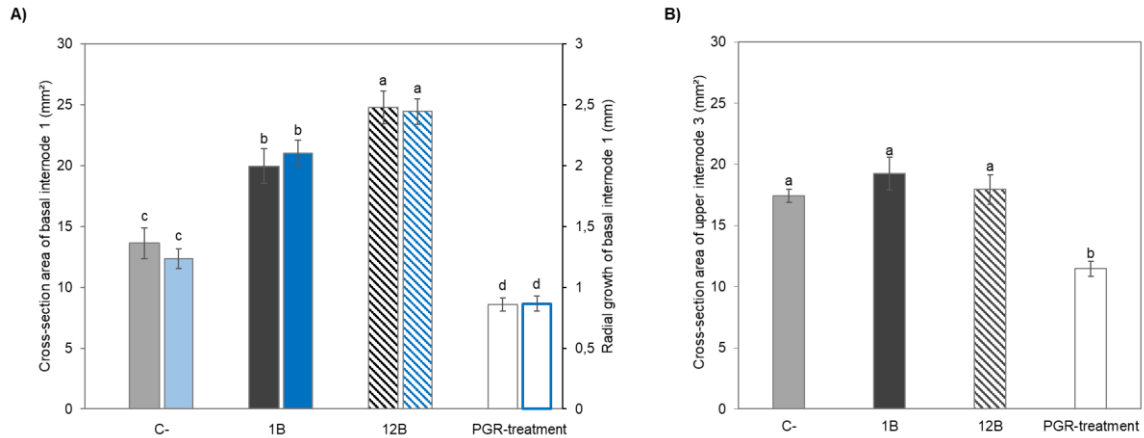
*Chapitre 2 : Des flexions symétriques récurrentes provoquent le nanisme chez l'hortensia à travers la régulation spatiale et moléculaire des parois cellulaires du xylème*

MS also, lower transcript accumulation of the cell division gene *HmCDC23* and of *S-ADENOSYL-L-METHIONINE SYNTHETASE 1 (HmSAMSI)* in upper IN3 were measured. Interestingly, MS had a stronger promotive effect on the expression of the cell wall *HmFLA11* gene in upper IN3 than in basal IN1. Conversely, MS had no impact on *HmCESA5*, *HmPE1*, *HmPGX3* genes in *H. macrophylla* stem whatever the internode.

Chapitre 2 : Des flexions symétriques récurrentes provoquent le nanisme chez l'hortensia à travers la régulation spatiale et moléculaire des parois cellulaires du xylème

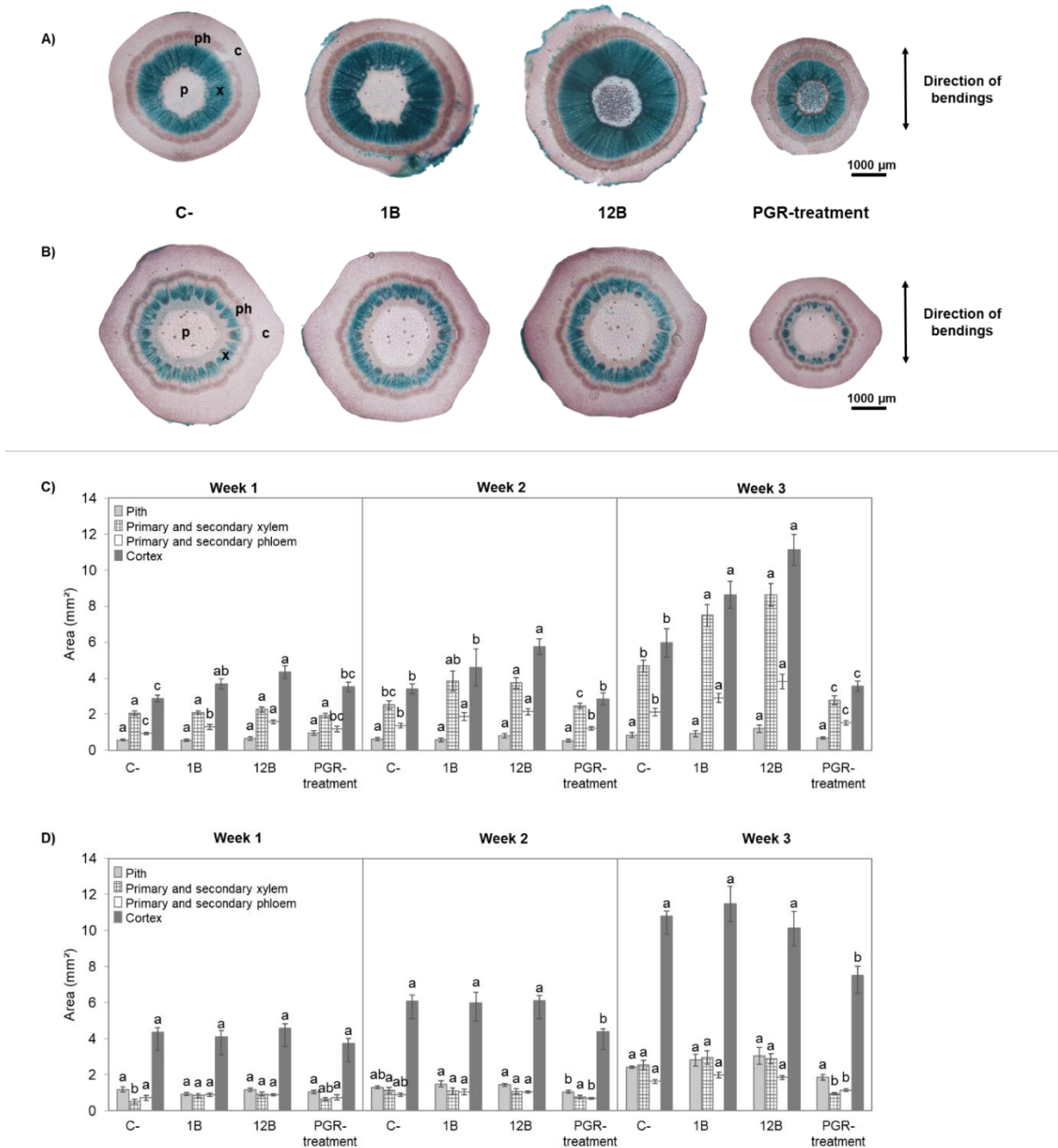


**Figure 1.** Impact of mechanical stimulation on stem and internode elongation in stimulated (1B and 12B) compared to control (C-) and PGR-treated *H. macrophylla* plants. (A) Stem elongation at the end of the 3-weeks experiment and (B) at the end of each of the 3 weeks. (C) Total number of internodes at the end of the experiment. (D) Elongation of the upper pre-formed internode IN3 and length of the (E) 4<sup>th</sup> and (F) 5<sup>th</sup> newly formed upper internodes at the end of the experiment. Data are means of 3 biological independent replicates of 15 plants  $\pm$  s.e. Letters indicate significant differences after Kruskal-Wallis non-parametric test ( $P < 0.05$ ).



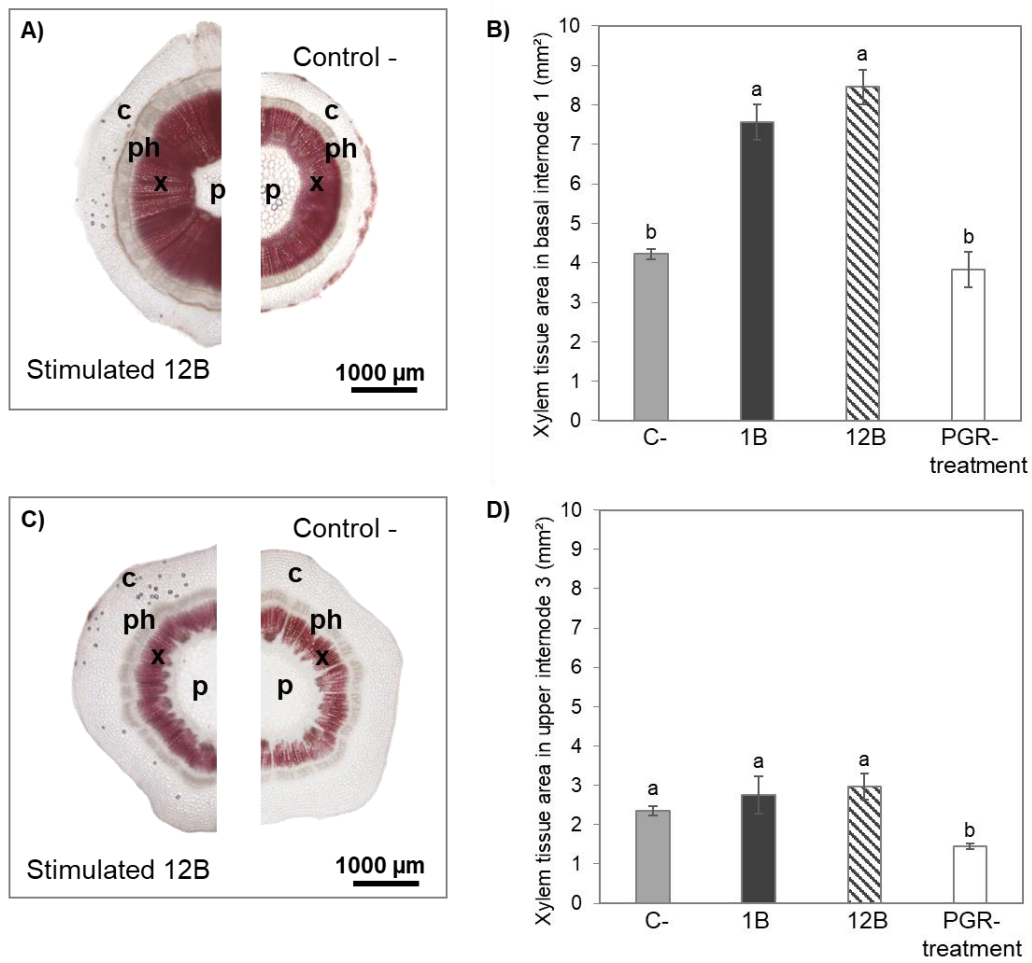
**Figure 2.** Impact of mechanical stimulation on radial growth of internodes in stimulated (1B and 12B) compared to control (C-) and PGR-treated *H. macrophylla* plants. **(A)** Cross-section area (gray bars) and radial growth (blue bars) and of the basal internode IN1 and **(B)** cross-section area at the middle of the upper internode IN3. Data are means of 3 biological independent replicates of 15 plants  $\pm$  s.e. Letters indicate significant differences after Kruskal–Wallis non-parametric test ( $P < 0.05$ ).

Chapitre 2 : Des flexions symétriques récurrentes provoquent le nanisme chez l'hortensia à travers la régulation spatiale et moléculaire des parois cellulaires du xylème

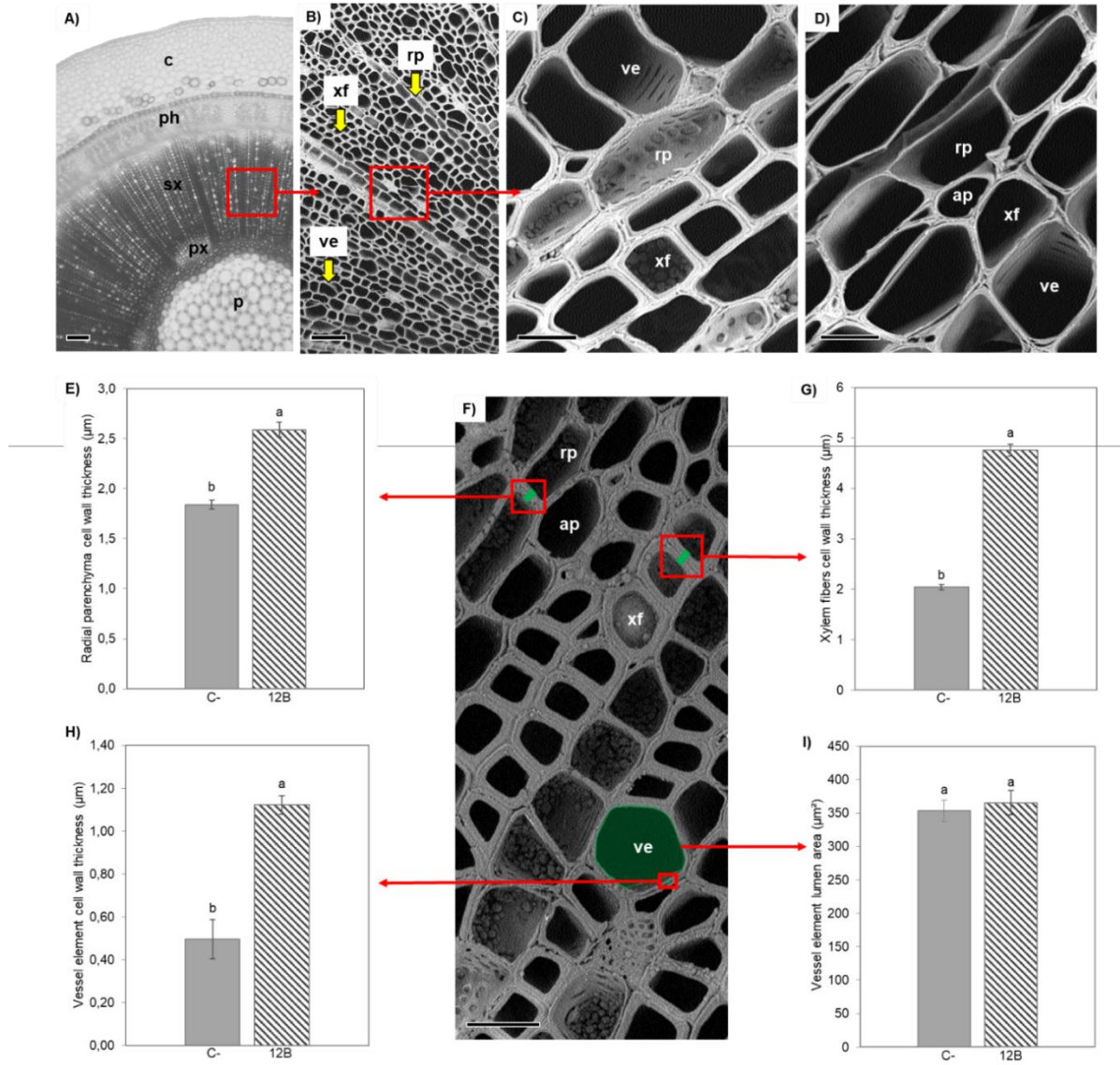


**Figure 3.** Impact of mechanical stimulation on radial growth of internodes in stimulated (1B and 12B) compared to control (C-) and PGR-treated *H. macrophylla* plants. **(A)** Radial growth of the basal internode IN1, **(B)** cross-section area of the basal internode IN1 and **(C)** cross-section area at the middle of the upper internode IN3. Data are means of 3 biological independent replicates of 15 plants  $\pm$  s.e. Letters indicate significant differences after Kruskal–Wallis non-parametric test ( $P < 0.05$ ).

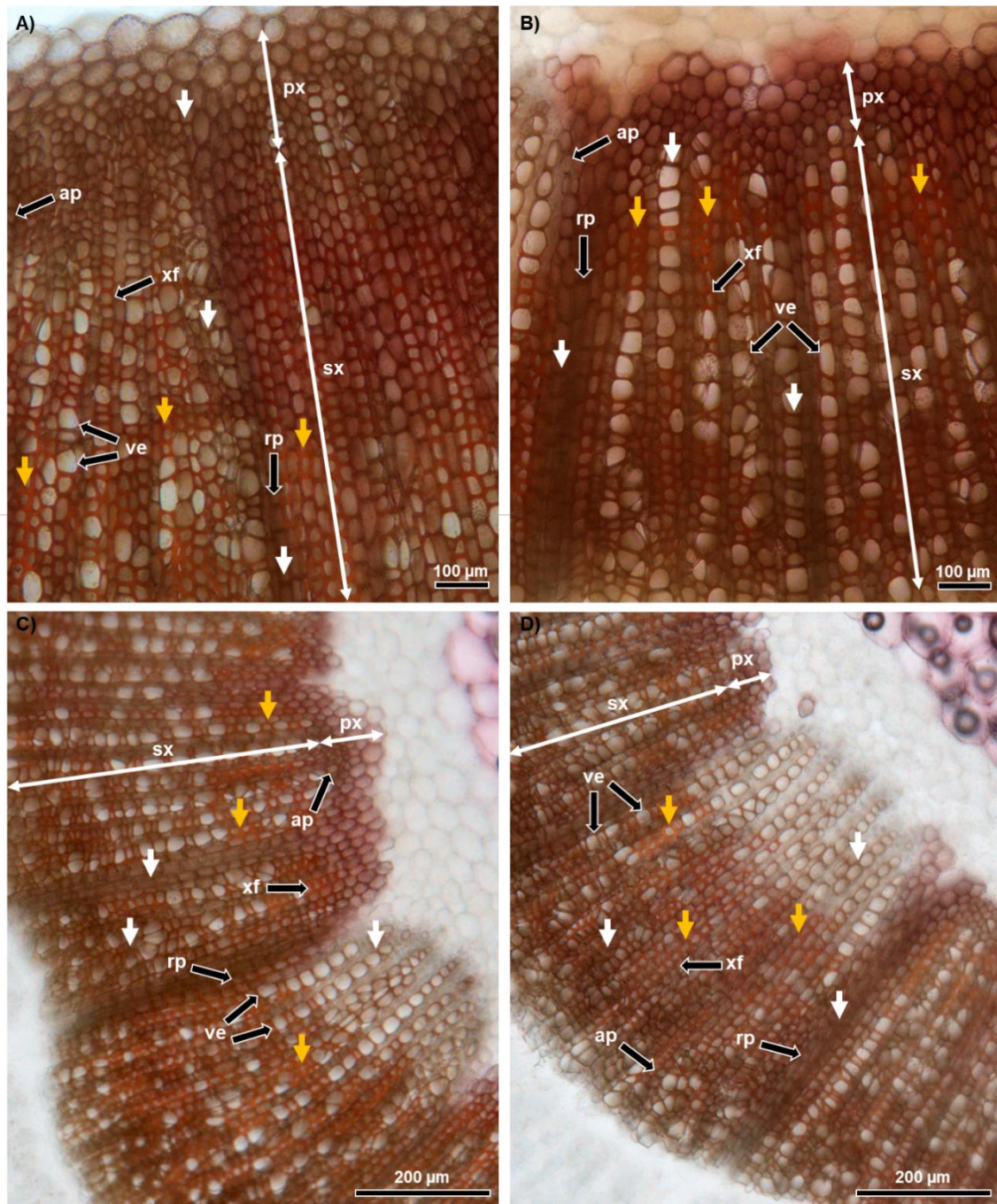




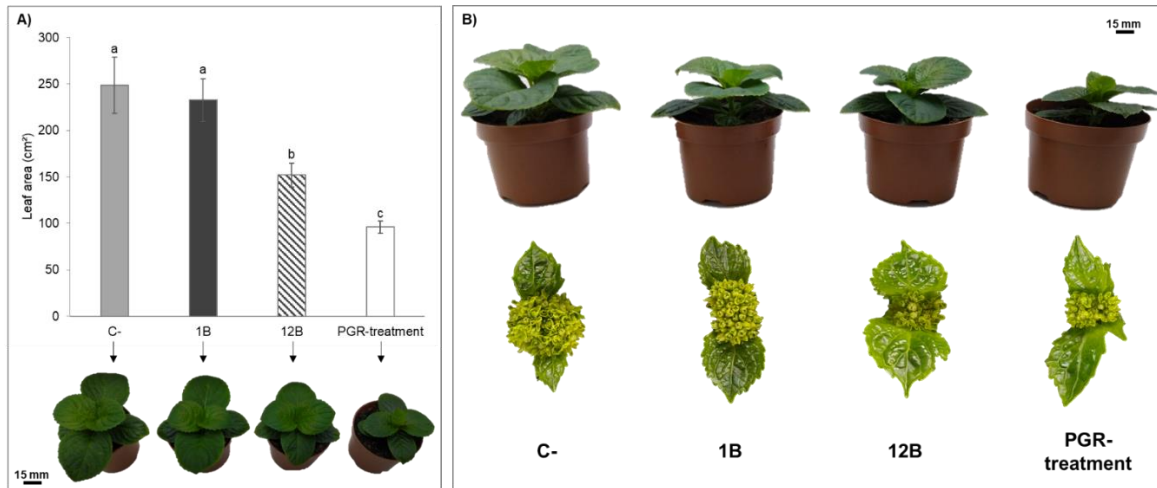
**Figure 4.** Impact of mechanical stimulation on xylem development in internodes of stimulated (1B and 12B) compared to control (C-) and PGR-treated *H. macrophylla* plants after 3 weeks. Cross-sections of the basal internode IN1 (A) and of the upper internode IN3 (C) stained with Wiesner reagent, average areas of xylem tissue in the basal IN1 (B) and upper IN3 (D) internode. Data are means of 3 biological independent replicates of 2 plants  $\pm$  s.e. Letters indicate significant differences after ANOVA parametric test ( $P < 0.05$ ). Pith (p); primary and secondary xylem (x); primary and secondary phloem (ph); cortex (c).



**Figure 5.** Impact of mechanical stimulation on xylem cell wall and vessel area in the basal internode IN1 of stimulated (12B) compared to control (C-) *H. macrophylla* plants after 3 weeks. (A) Light microscopy of cross-sections of the first internode IN1, (B-D); (F) Scanning Electron Microscopy (SEM) of secondary xylem, (C) closer SEM in 12B stimulated and (D) control plants. (E); (G-I) Histological analysis. Average cell wall thickness of 5 pairs of 2 adjacent cells of the same cells line taken randomly in (E) radial parenchyma and (G) wood fibers. (H) Averages cell wall thickness, and (I) average lumen area of the 5 largest vessel elements. Data are means of 3 independent biological replicates of 3 plants  $\pm$  s.e. Letters indicate significant differences after Wilcoxon–Mann–Whitney non-parametric test ( $P < 0.05$ ). Pith (p); primary xylem (px); secondary xylem (sx); primary and secondary phloem (ph); cortex (c); xylem fiber (xf); radial parenchyma cell (rp); axial parenchyma cell (ap); vessel element (ve). Scale bars: (A) 200  $\mu\text{m}$ ; (B) 55  $\mu\text{m}$ ; (C-D) 15  $\mu\text{m}$ ; (F) 20  $\mu\text{m}$ .

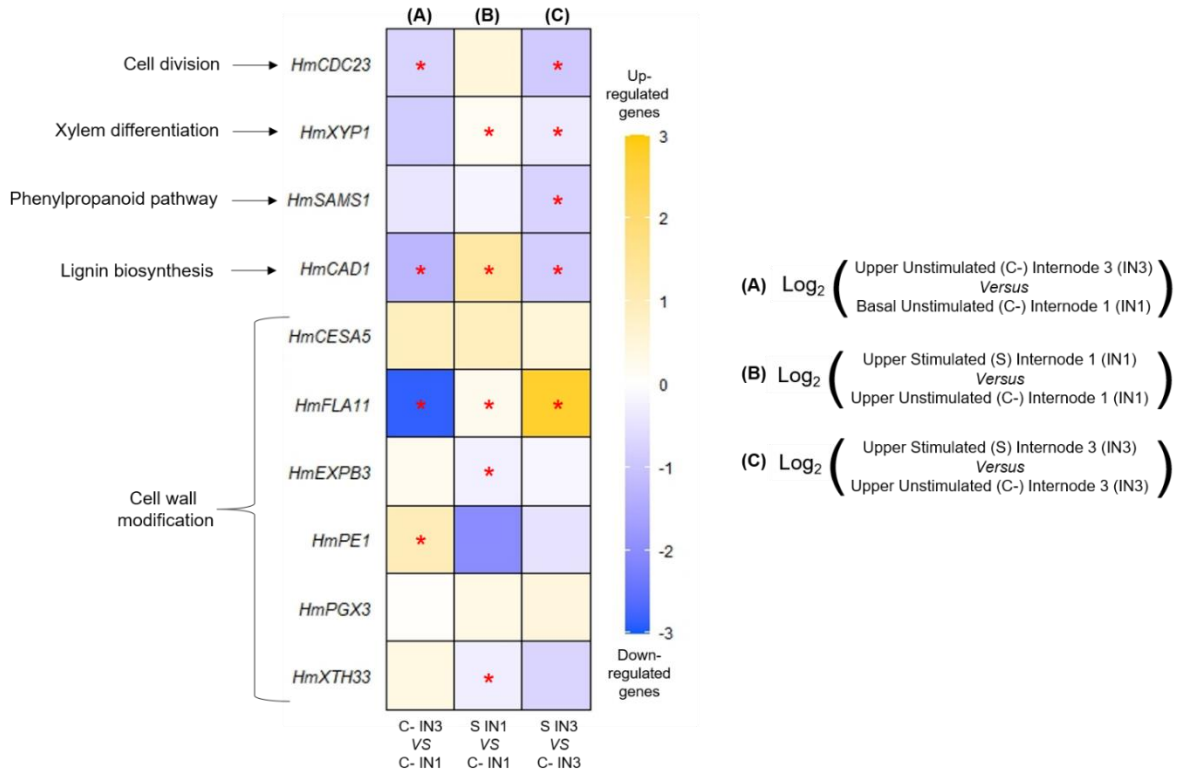


**Figure 6.** Impact of mechanical stimulation on distribution of lignin units in xylem of internodes in stimulated (12B) compared to control (C-) *H. macrophylla* plants after 3 weeks. Cross-sections stained with Maïle reagent of the basal internode IN1 (A-B) and the upper internode IN3 (C-D) of 12B-stimulated (left) and control (right). Xylem fiber (xf); axial parenchyma cell (ap); radial parenchyma cell (rp); vessel element (ve); primary xylem (px); secondary xylem (sx). Guaiacyl unit (white arrows) and syringyl units (yellow arrows).

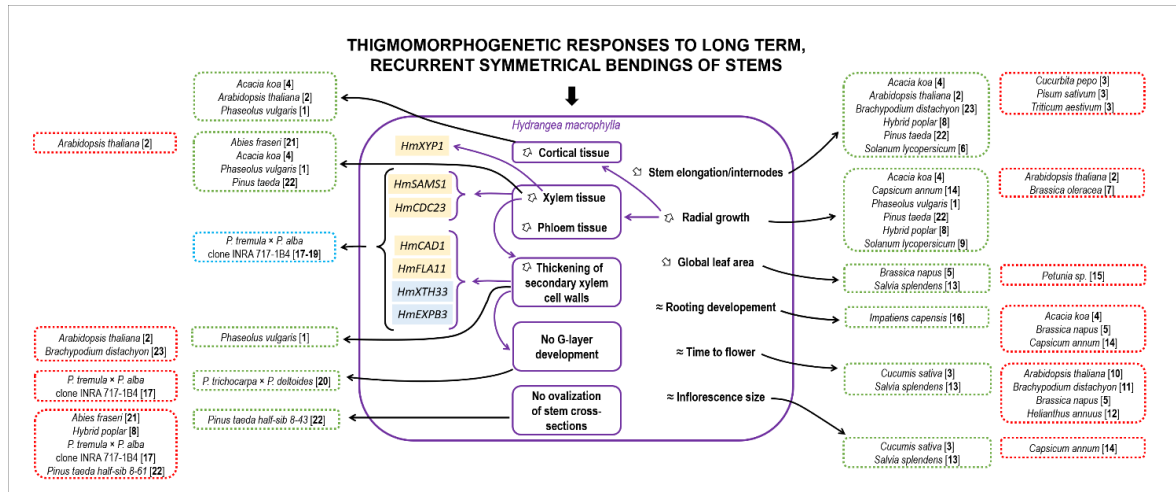


**Figure 7.** Impact of mechanical stimulation on leaf growth and development of *H. macrophylla* after 3 weeks of experiment. (A) Total leaf area per plant, (B) lateral and zenithal views after floral transition of stimulated plants (1B and 12B), unstimulated and untreated plants (C-) and PGR-treated plants. Data are means of 3 biological independent replicates of 15 plants (A) or 5 plants (B)  $\pm$  s.e. Letters indicate significant differences after Kruskal–Wallis non-parametric test ( $P < 0.05$ ).

Chapitre 2 : Des flexions symétriques récurrentes provoquent le nanisme chez l'hortensia à travers la régulation spatiale et moléculaire des parois cellulaires du xylème



**Figure 8.** Effects of mechanical stimulation on transcript accumulations of 10 target genes in *H. macrophylla* internodes. From top to bottom: *HmCDC23* (*CELL DIVISION CYCLE 23*); *HmXYP1* (*XYLOGEN PROTEIN 1*); *HmSAMS1* (*S-ADENOSYL-L-METHIONINE SYNTHETASE 1*); *HmCAD1* (*CINNAMYL ALCOHOL DEHYDROGENASE 1*); *HmCESA5* (*CELLULOSE SYNTHASE 5*); *HmFLA11* (*FASCICLIN-LIKE ARABINO GALACTAN-PROTEIN 11*); *HmEXPB3* ( $\beta$ -*EXPANSINE 3*); *HmPE1* (*PECTINE ESTERASE 1*); *HmPGX3* (*POLYGALACTURONASE INVOLVED IN EXPANSION 3*); *HmXTH33* (*XYLOGLUCAN: XYLOGLUCOSYL TRANSFERASE 33*). Upper internode IN3 of control plants (C- IN3), basal internode IN1 of control plants (C- IN1), upper internode IN3 of mechanical stimulation plants (S IN3), basal internode IN1 of MS plants (S IN1). RT-qPCR data used to build the heatmap are available as **Supplemental Material**. Data are means of  $n = 3$  biological independent replicates  $\pm$  s.e. Asterisks indicate significant differences after Wilcoxon–Mann–Whitney non-parametric test ( $P < 0.05$ ).



**Figure 9.** Summary of the main effects induced by long term, recurrent symmetrical bending in *Hydrangea macrophylla* in comparison with other plant species. Plants have developed patterns of response mechanisms to cope with symmetrical mechanical stress. These mechanisms involve changes to the aerial apparatus, such as a reduction in stem length and/or leaf area, and an increase in stem thickness, notably due to increase of vascular tissues. Changes in gene expression were also observed, but only in species subjected to asymmetrical mechanical stress. Morpho-anatomic and molecular responses of *H. macrophylla* are included in purple boxes. Genes boxed in yellow were found to be significantly up-regulated or those in blue boxes were down-regulated in *H. macrophylla* in response to mechanical bending. Green boxes indicate species with common responses with *H. macrophylla* and red boxes indicate species with opposite responses. Purple arrows link *H. macrophylla* responses that are related to each other. Black arrows link responses in other species. Literature cited: [1] Biro et al., 1980; [2] Paul-Victor and Rowe, 2011; [3] Jaffe, 1973; [4] Ishihara et al., 2017; [5] Cipollini, 1999; [6] Saidi et al., 2009; [7] Biddington and Dearman, 1985; [8] Pruyne et al., 2000; [9] Garner and Björkman, 1996; [10] Lange and Lange, 2015; [11] Gladala-Kostarz et al., 2020; [12] Goodman and Ennos, 1996; [13] Vernieri et al., 2003; [14] Graham and Wheeler, 2017; [15] Jędrzejuk et al., 2020; [16] Anten et al., 2009; [17] Roignant et al., 2018; [18] Pomiès et al., 2017; [19] Martin et al., 2010; [20] Kern et al., 2005; [21] Telewski, 1989; [22] Telewski and Jaffe, 1981; [23] Coomey et al., 2021.

## **DISCUSSION**

Little is known on the physiological and molecular processes induced by long term, recurrent mechanical stimulation mimicking wind sways, as well as on the mechanisms of accommodation to this type of mechanical loads. Also, very few plant species were investigated on this subject, giving little support for genericity of the published results. In this paper, the responses of the bush *H. macrophylla* were studied for the first time, this species representing the only second woody angiosperm examined under such MS. Histological and molecular changes after two and three weeks of light (1B) or heavy (12B) MS treatments were examined. *H. macrophylla* plants responded to repetitive symmetrical mechanical loads through reduction of stem elongation, increased basal radial growth and reduction of leaf expansion (**Figures 1A-B; 2A-B; 5A**). Since same number of internodes were produced as in control plants, reduction in stem height after MS was not due to a repressive effect of MS on SAM organogenic activity. Rather, stem bending led to a repression of internode elongation, both in those present before treatment and in the most distal internodes that emerged during treatment. According to Coutand et al. (2000), MS effect is not limited to the stimulated internodes but also to neighboring internodes. In our treatment where the entire stem is bended by the plastic curtain, each internode is mechanically stimulated, suggesting that reduced growth of each internode may also be due to direct stimulation. Whether long distance signaling between *H. macrophylla* basal and upper internodes takes place should be investigated.

Our treatment induced a strong increase in radial growth (up to 98% with 12B treatment) of the most basal internode of *H. macrophylla* stems. Upper EN3 still elongating internode did not. This is consistent with results along bell pepper stems repetitively bilaterally bended (Graham and Wheeler, 2017). Increased radial growth in stimulated *H. macrophylla* stem was caused by a great increase of the cortical zone as well as of both vascular tissues (xylem and phloem) but not of pith (**Figure 3B**). This is different from bean stems where successive bending stimulated all the zones across the stem and where the development of the pith tissue allowed the hollow stem of the bean to become solid and therefore more resistant to MS (Biro et al., 1980). Our results also differ from observation in *Arabidopsis thaliana*, where a similar mechanical treatment as on *Hydrangea* caused little variation on inflorescence axis diameter but an increase in cortical tissues together with a decrease in lignified tissue and pith (Paul-Victor and Rowe, 2011). These opposite responses likely illustrate the different strategies of plants under mechanical constraints according to their

growth habits (Niklas and Telewski, 2022): herbaceous plants as *A. thaliana* and bean with a short and flexible stem growth strategy, and woody species such as poplar tree and *Hydrangea* shrub with a short and rigid stem growth strategy for maintaining upright axes in conditions of severe mechanical perturbations (Paul-Victor and Rowe, 2011). Interestingly, when permanent flexure of the *H. macrophylla* stem was imposed, ovalization of the upper part of the stem was observed due to asymmetrical development of non-lignified cortical tissues allowing further cell and organ elongation under this constraint (**Supplementary Material**).

After bilateral recurrent MS, only one type of flexure wood (FW) developed in the stem cross sections of *Hydrangea*. This FW showed strong wall thickening in secondary xylem fibers, parenchyma and vessels in the basal internode (**Figures 3C; 4A-B; 5**) together with a high deposition of mixed S/G lignin units (**Figures 4-6**). This is consistent with observation in wind-stimulated poplars (Koehler and Telewski, 2006). Yet, while in poplar, recurrent bi-directional flexures caused a reduction in vessel lumen area (Kern et al., 2005), no impact on this factor was observed in *Hydrangea* (**Fig 5i**). This result points out to the diversity of plant responses even among angiosperm woody species. In *Hydrangea*, only wood fibers without a G-layer were formed in the stem after bilateral MS. This type of fibers thus resembles more those of the compressive flexure wood (CFW) than those of the tensile flexure wood (TFW) formed in poplar stem after successive unilateral mechanical loads (Roignant et al., 2018). While both sides of *Hydrangea* stem were each stretched and compressed successively, why only one single type of fibers differentiate should be further examined.

Our molecular data bring first knowledge on the molecular paths controlled by wind-like mechanical loads in *Hydrangea* (**Figure 8**). For the first time also, we bring evidence that mechanical load impacts expression of *XYLOGEN PROTEIN 1* (*HmXYP1*), an arabinogalactan protein involved in vascular differentiation in plants (Motosé et al, 2004; Ma et al., 2014) in accordance with the strong accumulation of secondary xylem in basal IN1. Recently, both *XYP-LIKE PROTEIN*, *XYLP1* and *XYLP2*, were revealed to promote lignin biosynthesis during *Capsicum annuum* stem development in response to drought and cold stresses (Zhang et al., 2022). Besides, the strong accumulation of mixed S/G lignin units in the secondary wood may be associated to the higher transcripts level of the major lignin synthesis gene *HmCAD1* we observed after bending. Down-regulation of *HmEXPB3* and *HmXTH33* both promoting cell wall extensibility (Yamaguchi et al., 2023), may also



contribute together with the accumulation of lignin to increasing stem stiffness in the basal part of the bended *Hydrangea* stem. Our results also show that arabinogalactan protein AGP *HmFLA11* is up regulated in basal internode IN1 upon bilateral bending. *HmFLA11* has a high similarity with *AtFLA11* (**Supplementary Material**), a gene suspected to take part in cell surface sensing of mechanical stimulation under gravitropic load in *Arabidopsis* (Ma et al., 2022a; Ma et al., 2023). In this last species, overexpression of *AtFLA11* leads to early secondary cell wall development, increased interfascicular fiber wall thickness and lignin content with lower S/G lignin ratio, and reduced inflorescence stem length (Ma et al., 2022a; Ma et al., 2023). In *Hydrangea*, concomitant up-regulation of *HmFLA11* with similar histological changes as in *Arabidopsis* (**Figures 3-5**) may indicate that *HmFLA11* has similar function as *AtFLA11*. Yet, while *HmFLA11* was also upregulated in the upper IN3 after MS, no concomitant promotive effect of MS on radial growth of this node was observed (**Figures 1D; 2C**). This could suggest that downstream steps in *HmFLA11* regulatory pathway of secondary cell wall development were repressed in this node. Interestingly, a repressive effect of bilateral bending on xylogenesis *HmXYPI* and of lignin synthesis *HmSAMS1* and *HmCAD1* expressions in this internode was measured together with secondary growth inhibition (**Figures 3C; 4C; 6C**). Whether *HmFLA11* and these three xylem-related genes belong to the same regulatory cascade need to be explored.

Our molecular data concerned one time point, i.e. 48 hours after the last bending of a two-week treatment. Further transcriptomic study in *H. macrophylla* will allow to get knowledge on more actors and on the time course of their expressions after flexure. Yet, the late molecular regulations observed 48h after the last stimulation informs us on the long-lasting impact of the mechanical stimuli on the molecular machinery. Considering also that stems received up to 120 stimulations in two weeks, and still responded at transcriptional level to the stimulus, these results also point out to limited, if at all desensitisation of *H. macrophylla* stem under our conditions. This is also illustrated by the constant reduction in stem elongation observed during each of the 3 weeks of treatment. Higher thigmomorphogenic responses under 12B as compared to 1B bending also suggest a dose-response in *Hydrangea*. This dose-response concerns primary and secondary growths of the stem as well as leaf expansion. The relationship between frequency of mechanical bending and magnitude of growth responses was reported in some species such as beans (Jaffe et al., 1980), *Ulmus americana* (Telewski and Pruyn, 1998) and *S. lycopersicum* (Coutand and Moulia, 2000).

Desensitisation to MS is an important response that needs to be evaluated prior using MS in crop production if efficient and prolonged dwarfing effect is looked for. We established that 12 bendings per day, 5 days a week did not induced such desensitization in *H. macrophylla* suggesting that at least within this frame, such treatment could be used in crop production.

Such 12B treatment was 2/3 as effective as the daminozide to increase plant compactness (**Figures 1A-B**). In contrast to PGR-treatment, MS induced an important increase in radial growth in basal part of the stem mainly resulting from the greater development of vascular and cortical tissue that was not observed in chemically dwarfed plants (**Figure 2**). This MS response will benefit to plant quality through increasing plant robustness, especially during transplanting and transportation. Additionally, no negative impact of MS was observed on rooting, time to flower and inflorescence size which are important criteria for ornamental crop production (**Figure 7B**). Thus, our results indicate that MS has strong potential to replace, all or in part, chemical dwarfing molecules in *H. macrophylla* industry.

A summary of the thigmomorphogenic effects after-long term, recurrent, symmetrical MS on *H. macrophylla* stems is presented in **figure 9** with comparison to other species. For some developmental responses, *H. macrophylla* matches certain species or is opposite to others, this independently of their growth habits (ligneous vs herbaceous). Moreover, not one single pattern of responses is observed for all parameters. For example, *H. macrophylla* responses to MS is similar to *B. napus* for reduction of leaf area but opposite to *B. napus* for root development and time to flower (Cipollini, 1999). Similarly, *H. macrophylla* share same responses to MS with *Acacia koa* for stem elongation and radial growth but nor for root development. This suggests a thin regulation of mechanosensitive responses at the species level and confirms that overall MS impacts on a species, or even a variety (Jedrzejuk et al., 2020) cannot be predicted until assayed. **Figure 9** shows also similar and divergent histological responses in comparison to *H. macrophylla* across species. At molecular level, only the grass *Brachypodium distachyon* was studied so far in responses to recurrent, long term symmetrical bending of the stem but only root transcriptome modifications were assessed (Coomey et al., 2021). In the roots of this species also, several cell wall genes were also regulated after MS loads and evidence between secondary cell wall thickening after MS and gibberellin inactivation was provided. Investigations of the hormonal responses in

bent stems of *H. macrophylla* after recurrent symmetrical MS in on the way to further unravel the regulatory pathway in this species.

### **Conflict of Interest Statement**

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

### **Author Contributions**

NL, HR, VG, LHT: Conceptualization; BLN: Formal Analysis; NL, HR: Funding Acquisition; BLN, NB: Investigation; BLN: Methodology; BLN, NL, HR: Project Administration; HR, NL: Resources; NL, HR, VG, LHT: Supervision; NL, HR, BLN, VG, LHT: Validation; BLN: Visualization; BLN, NL: Writing-Original Draft Preparation; BLN, NL, HR, VG, LHT, NB: Writing-Review & Editing.

### **Funding**

This work is produced by the Common Laboratory MATCH associating the UMR1345 IRHS (Research Institute of Horticultural and Seeds) and Hortensia France, with the financial support of the ANR (French National Research Agency). Béra Ley-Ngardigal received her PhD grant from Angers University and Hortensia France Company.

### **Acknowledgments**

This work is produced by the ANR (French National Research Agency) Common Laboratory MATCH associating the UMR1345 IRHS (Research Institute of Horticultural and Seeds) and Hortensia France. The authors thank IMAC technical platforms of SFR Quasav and especially Aurelia Rolland and Fabienne Simonneau for their advices in histological analysis. We are also grateful to Nathalie Leblanc-Fournier (UMR547 PIAF, University of Clermont), Stéphane Maury (LBLGC, INRA, University of Orléans, EA1207 USC 1328) and Philippe Morel (retired researcher of UMR1345 IRHS) for fruitful scientific discussions.

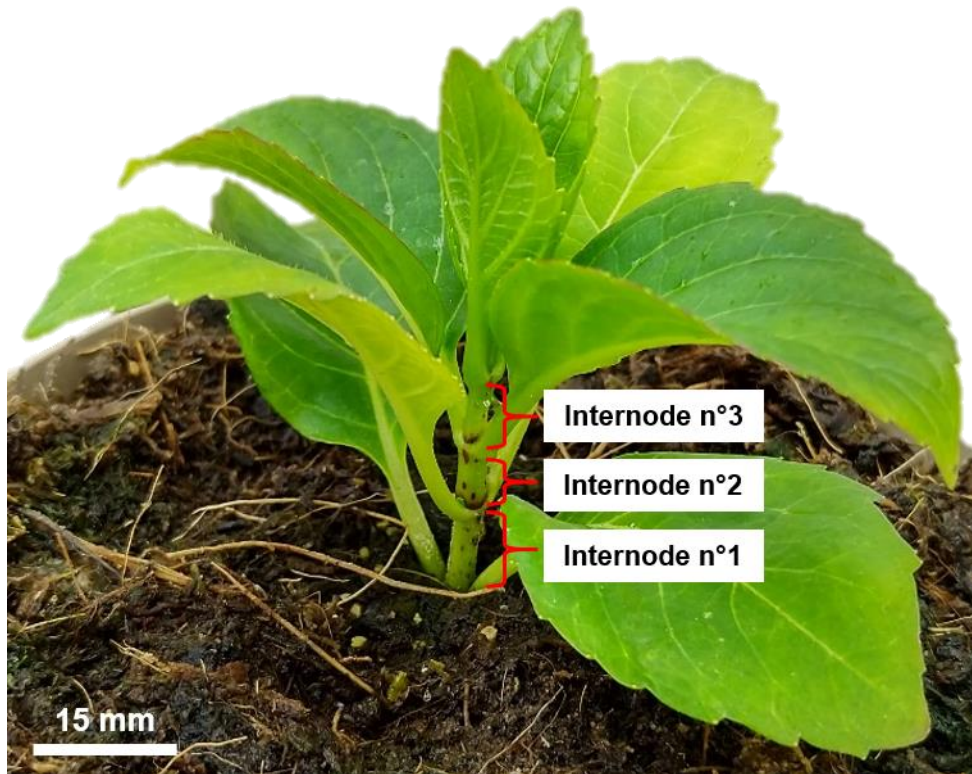
### **Data Availability Statement**

The datasets generated/analyzed for this study can be found in online repositories. The names of the repository/repositories and accession number(s) can be found in the article/Supplementary Material.

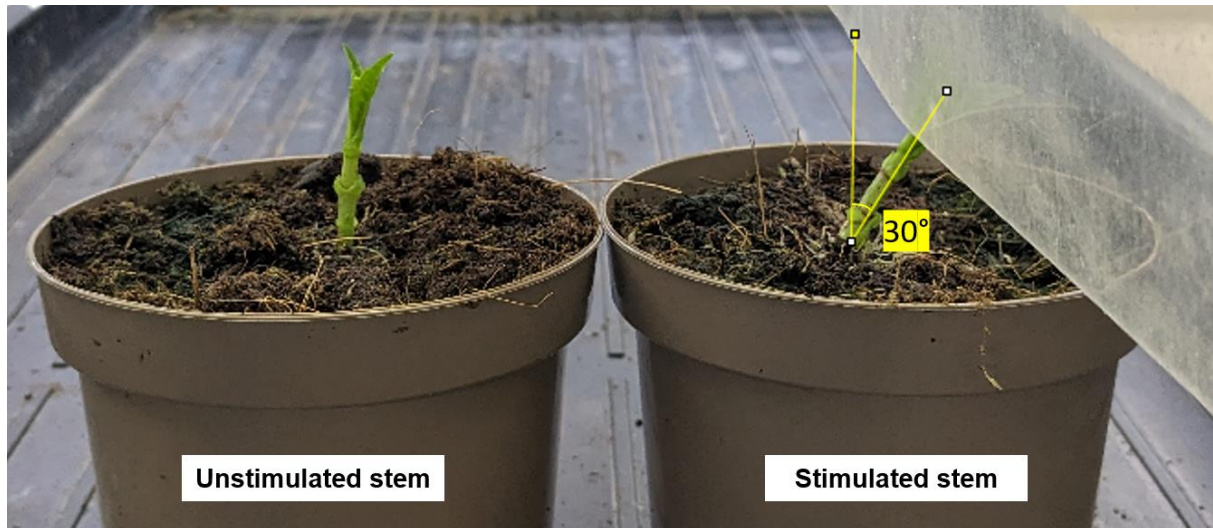
**SUPPLEMENTARY MATERIAL**

Les tableaux supplémentaires se trouvent en Annexes.

**Supplementary Figures**

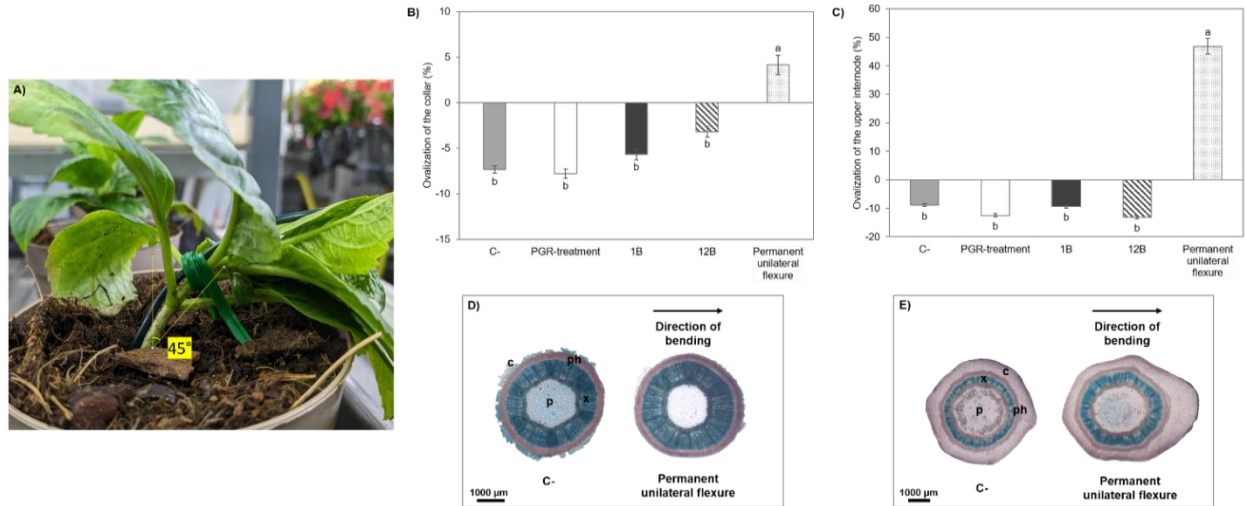


**Supplementary Figure 1.** Young *Hydrangea macrophylla* cv. 'Wudu ®' plant at the beginning of the experiment.

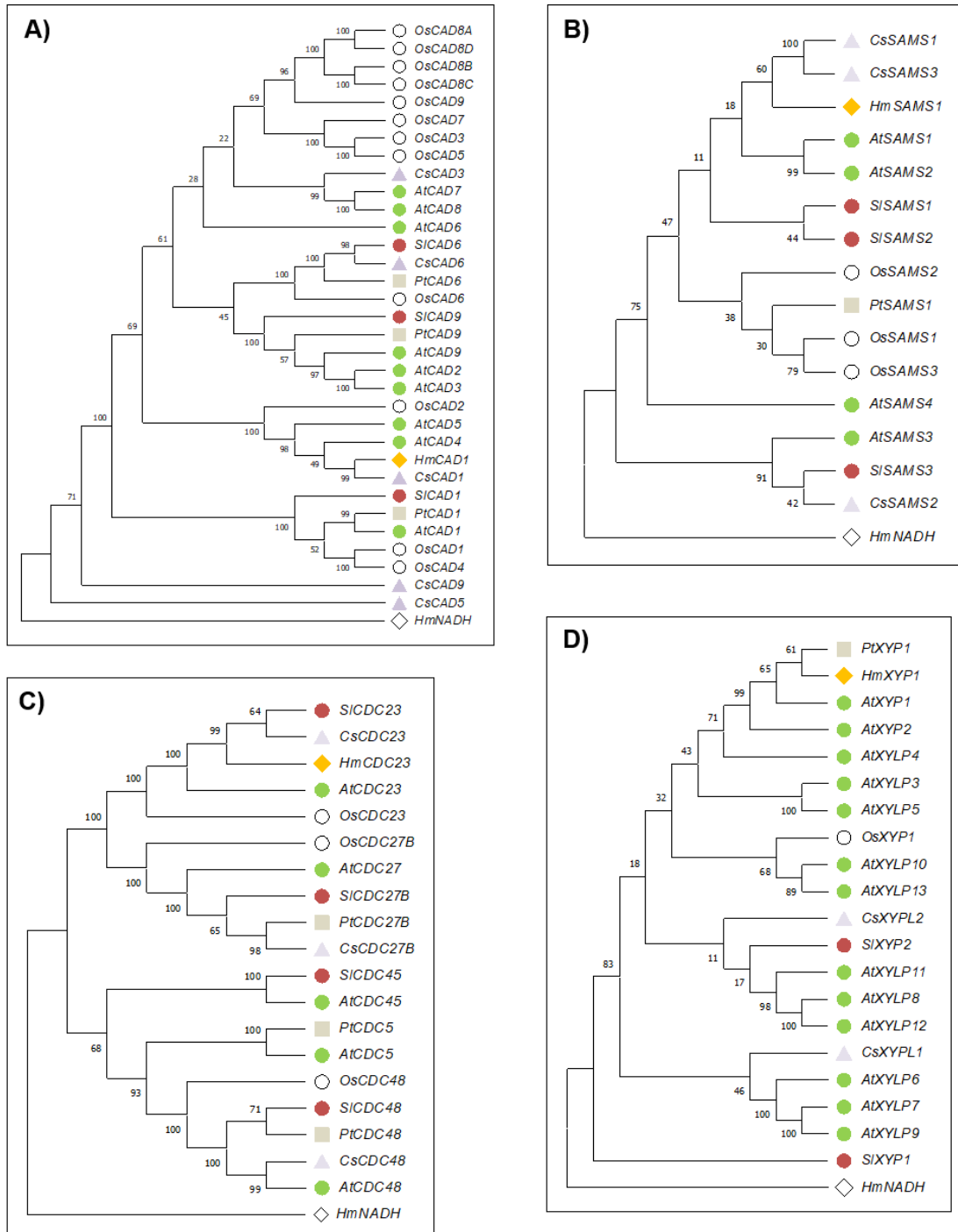


**Supplementary Figure 2.** Bended stem of *Hydrangea macrophylla* during mechanical stimulation. Plants were defoliated to facilitate angle measurements here, but not during MS experiments.

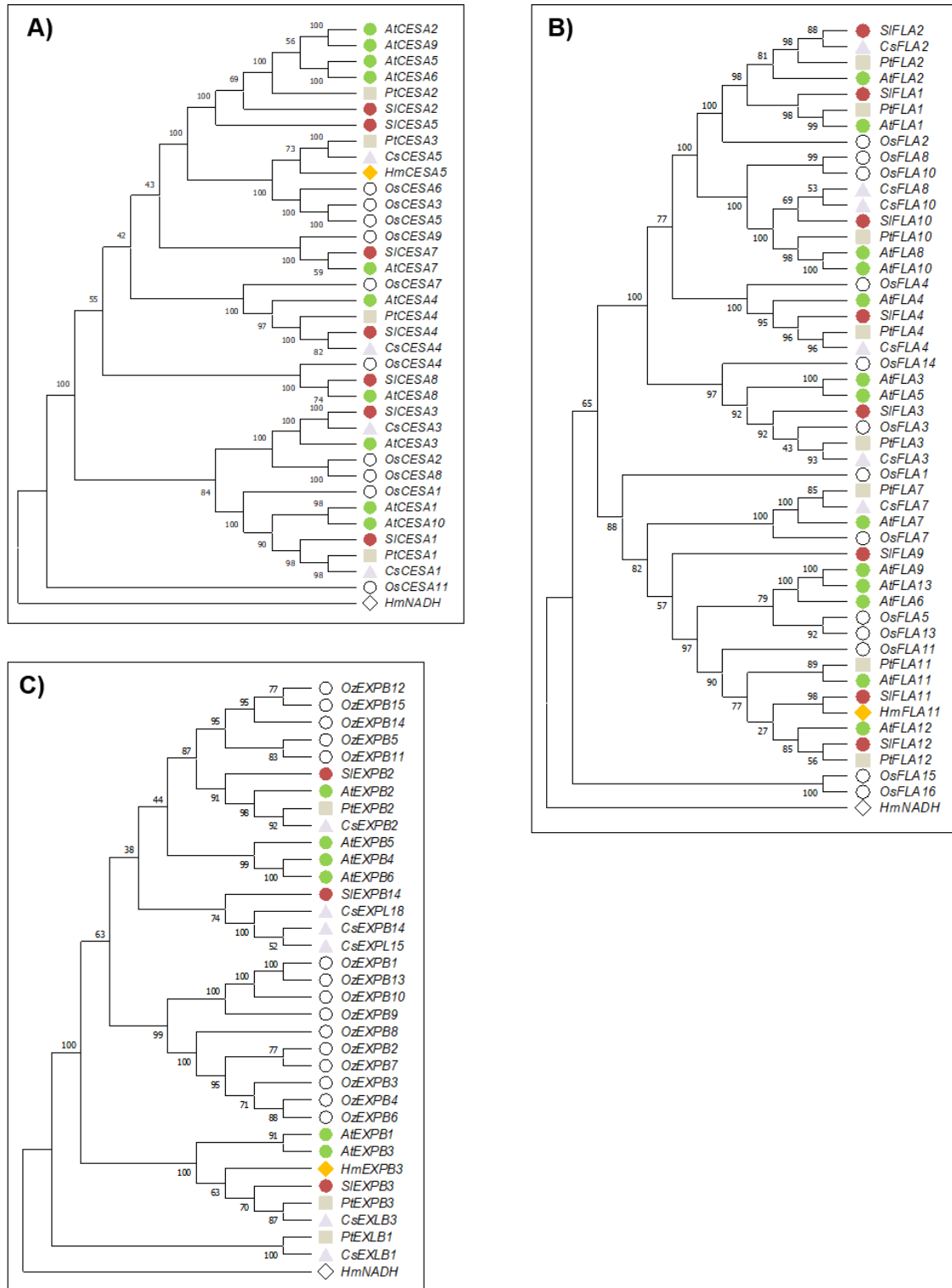
Chapitre 2 : Des flexions symétriques récurrentes provoquent le nanisme chez l'hortensia à travers la régulation spatiale et moléculaire des parois cellulaires du xylème



**Supplementary Figure 3.** Ovalization of *Hydrangea macrophylla* stem in control (C-), PGR-treated, MS 1B or 12B and in stems after permanent unilateral flexure for 3 weeks. (A) Bended stem of *H. macrophylla* during permanent unilateral flexure. Percent ovalization in the basal internode (B) and in the upper internode (C). Cross-sections realized of the basal internode (D) and of the upper internode (E) in control (left) and stem under permanent and unilateral flexure (right). A negative ovalization value means that the cross-sections have not undergone eccentric growth, while a positive value indicates an eccentric growth of cross-sections. Data are means of 3 biological independent replicates of 2 plants  $\pm$  s.e for plants under permanent unilateral flexure and of 5 plants  $\pm$  s.e for all other conditions. Letters indicate significant differences between treatments after Wilcoxon–Mann–Whitney non-parametric test ( $P < 0.05$ ). Cortex (c); primary and secondary phloem (ph); primary and secondary xylem (x); pith (p).

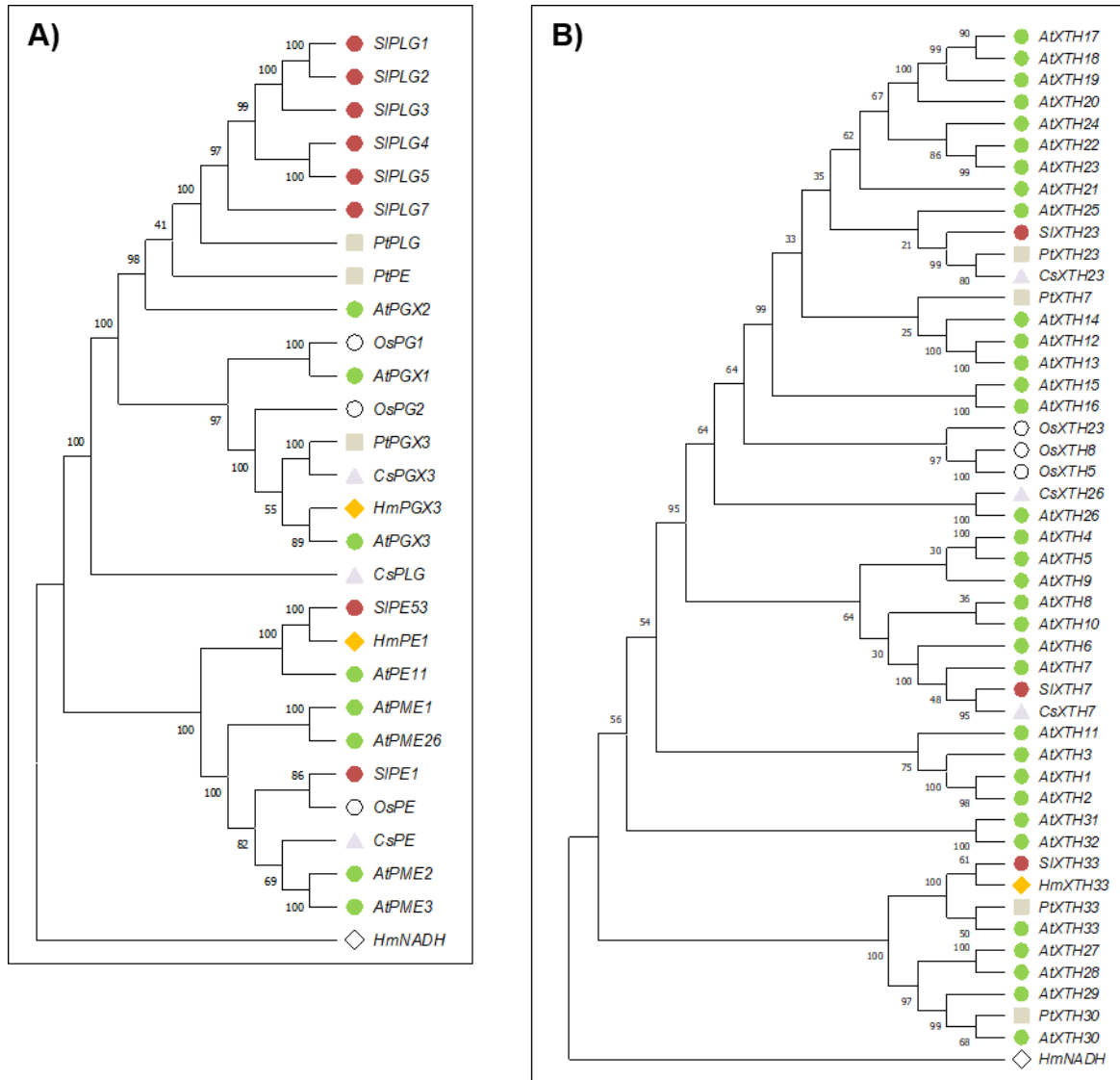


**Supplementary Figure 4.** Phylogenetic trees of (A) CAD, (B) SAMS, (C) CDC and (D) XYP homologs in *H. macrophylla*, *A. thaliana*, *S. lycopersicum*, *C. sinensis*, *P. trichocarpa* and *O. sativa*. CAD (CINNAMYL ALCOHOL DEHYDROGENASE); SAMS (S-ADENOSYL-L-METHIONINE SYNTHETASE); CDC (CELL DIVISION CYCLE); XYP (XYLOGEN PROTEIN). The percentage of replicate trees in which the associated taxa clustered together in the bootstrap test (1000 replicates) are shown next to the branches.



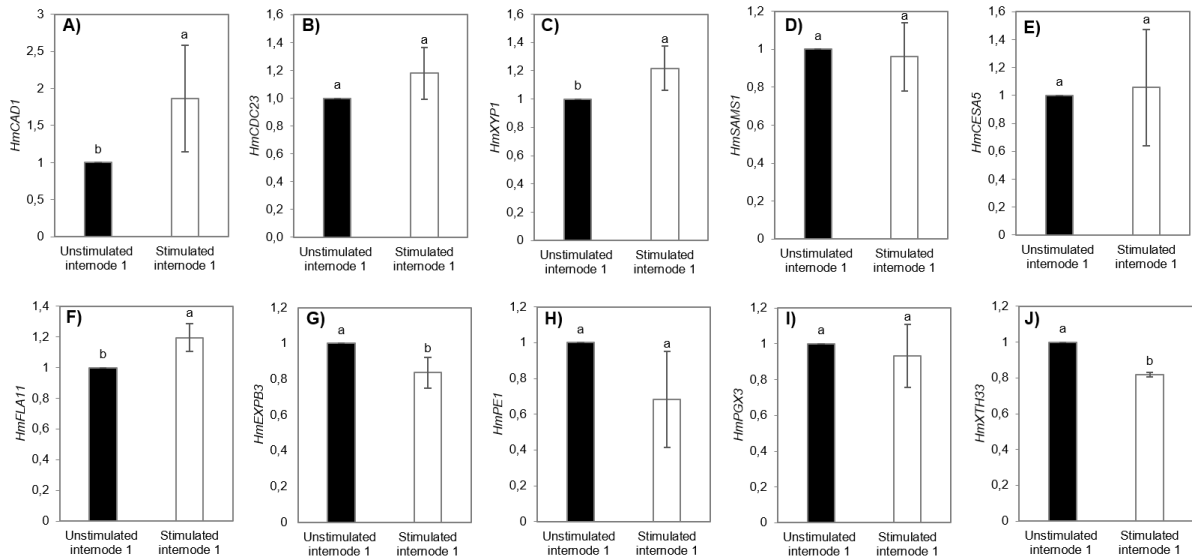
**Supplementary Figure 5.** Phylogenetic trees of (A) CESA, (B) FLA and (C) EXPB homologs in *H. macrophylla*, *A. thaliana*, *S. lycopersicum*, *C. sinensis*, *P. trichocarpa* and *O. sativa*. CESA (CELLULOSE SYNTHASE); FLA (FASCICLIN-LIKE ARABINO GALACTAN PROTEIN); EXPB ( $\beta$ -EXPANSINE); EXLB ( $\beta$ -EXPANSINE-LIKE). The percentage of replicate trees in which the associated taxa clustered together in the bootstrap test (1000 replicates) are shown next to the branches.





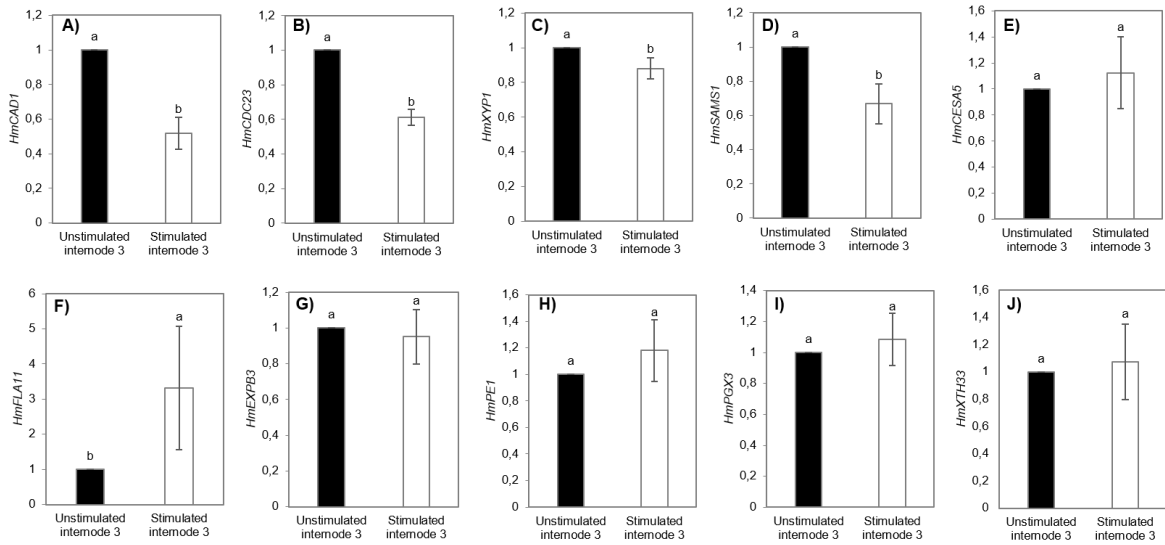
**Supplementary Figure 6.** Phylogenetic trees of (A) PECTINASES (PGX, PE) and (B) XTH homologs in *H. macrophylla*, *A. thaliana*, *S. lycopersicum*, *C. sinensis*, *P. trichocarpa* and *O. sativa*. PGX (POLY GALACTURONASE (PLG) INVOLVED IN EXPANSION); PE (PECTINE ESTERASE); PME (PECTINE METHYLESTERASE); XTH (XYLOGLUCAN:XYLOGLUCOSYL TRANSFERASE). The percentage of replicate trees in which the associated taxa clustered together in the bootstrap test (1000 replicates) are shown next to the branches.

Chapitre 2 : Des flexions symétriques récurrentes provoquent le nanisme chez l'hortensia à travers la régulation spatiale et moléculaire des parois cellulaires du xylème



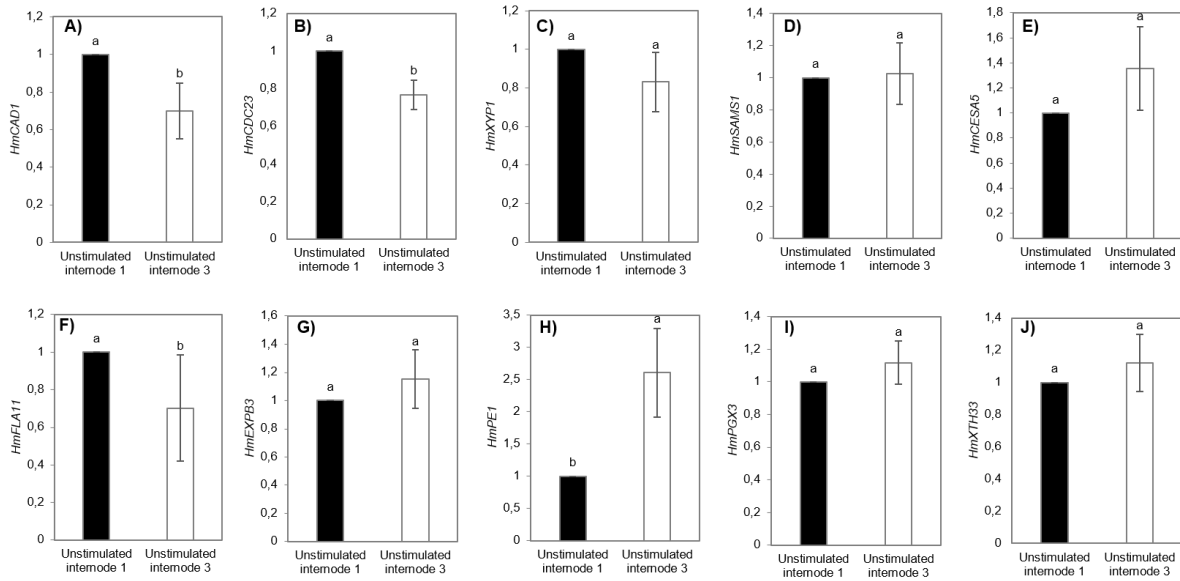
**Supplementary Figure 7.** Expression levels of 10 target genes in the first basal and third upper internodes of control *H. macrophylla* plants after 2 weeks of experiment. The expression levels of genes were determined through RT-qPCR. Data are means of  $n = 3$  biological independent replicates  $\pm$  s.e. The asterisks indicate significant differences after Wilcoxon–Mann–Whitney non-parametric test ( $P < 0.05$ ).

Chapitre 2 : Des flexions symétriques récurrentes provoquent le nanisme chez l'hortensia à travers la régulation spatiale et moléculaire des parois cellulaires du xylème



**Supplementary Figure 8.** Expression levels of 10 target genes in the first basal internodes of control and stimulated *H. macrophylla* plants after 2 weeks of experiment. Expression levels of genes were determined through RT-qPCR. Data are means of  $n = 3$  biological independent replicates  $\pm$  s.e. The asterisks indicate significant differences after Wilcoxon–Mann–Whitney non-parametric test ( $P < 0.05$ ).

Chapitre 2 : Des flexions symétriques récurrentes provoquent le nanisme chez l'hortensia à travers la régulation spatiale et moléculaire des parois cellulaires du xylème



**Supplementary Figure 9.** Expression levels of 10 target genes in the third upper internode of control and stimulated *H. macrophylla* plants after 2 weeks of experiment. Expression levels of genes were determined through RT-qPCR. Data are means of n = 3 biological independent replicates  $\pm$  s.e. The asterisks indicate significant differences after Wilcoxon–Mann–Whitney non-parametric test ( $P < 0.05$ ).

## REFERENCES

- Alem, P., Thomas, P. A., and van Iersel, M. W. (2015). Controlled Water Deficit as an Alternative to Plant Growth Retardants for Regulation of Poinsettia Stem Elongation. *HortSci* 50, 565–569. doi: [10.21273/HORTSCI.50.4.565](https://doi.org/10.21273/HORTSCI.50.4.565).
- Andersen, A. S., and Andersen, L. (2000). Growth regulation as a necessary prerequisite for introduction of new plants. *Acta Hortic.*, 183–192. doi: [10.17660/ActaHortic.2000.541.26](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2000.541.26).
- Anten, N. P. R., von Wettberg, E. J., Pawlowski, M., and Huber, H. (2009). Interactive Effects of Spectral Shading and Mechanical Stress on the Expression and Costs of Shade Avoidance. *The American Naturalist* 173, 241–255. doi: [10.1086/595761](https://doi.org/10.1086/595761).
- Autio, J., Voipio, I., and Koivunen, T. (1994). Responses of Aster, Dusty Miller, and Petunia Seedlings to Daily Exposure to Mechanical Stress. *HortSci* 29, 1449–1452. doi: [10.21273/HORTSCI.29.12.1449](https://doi.org/10.21273/HORTSCI.29.12.1449).
- Bergstrand, K.-J. I. (2017). Methods for growth regulation of greenhouse produced ornamental pot- and bedding plants – a current review. *Folia Horticulturae* 29, 63–74. doi: [10.1515/fhort-2017-0007](https://doi.org/10.1515/fhort-2017-0007).
- Biddington, N. L., and Dearman, A. S. (1985). The Effect of Mechanically Induced Stress on the Growth of Cauliflower, Lettuce and Celery Seedlings. *Annals of Botany* 55, 109–119. doi: [10.1093/oxfordjournals.aob.a086869](https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a086869).
- Biro, R. L., Hunt, E. R., Erner, Y., and Jaffe, M. J. (1980). Thigmomorphogenesis: Changes in Cell Division and Elongation in the Internodes of Mechanically-perturbed or Ethrel-treated Bean Plants\*. *Annals of Botany* 45, 655–664. doi: [10.1093/oxfordjournals.aob.a085874](https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a085874).
- Bonnesoeur, V., Constant, T., Moulia, B., and Fournier, M. (2016). Forest trees filter chronic wind-signals to acclimate to high winds. *New Phytol* 210, 850–860. doi: [10.1111/nph.13836](https://doi.org/10.1111/nph.13836).
- Börnke, F., and Rocksch, T. (2018). Thigmomorphogenesis – Control of plant growth by mechanical stimulation. *Scientia Horticulturae* 234, 344–353. doi: [10.1016/j.scienta.2018.02.059](https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.02.059).
- Boumaza, R., Huché-Thélier, L., Demotes-Mainard, S., Coz, E. L., Leduc, N., Pelleschi-Travier, S., et al. (2010). Sensory profiles and preference analysis in ornamental horticulture: The case of the rosebush. *Food Quality and Preference* 21, 987–997. doi: [10.1016/j.foodqual.2010.05.003](https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2010.05.003).
- Brenya, E., Pervin, M., Chen, Z., Tissue, D. T., Johnson, S., Braam, J., et al. (2022). Mechanical stress acclimation in plants: Linking hormones and somatic memory to thigmomorphogenesis. *Plant Cell & Environment* 45, 989–1010. doi: [10.1111/pce.14252](https://doi.org/10.1111/pce.14252).
- Carvalho S.M.P., van Noort F.R., Postma R., Heuvelink E. (2008). Possibilities for producing compact floricultural crops. Wageningen: Wageningen UR Greenhouse Horticulture (Report / Wageningen UR Greenhouse Horticulture).

*Chapitre 2 : Des flexions symétriques récurrentes provoquent le nanisme chez l'hortensia à travers la régulation spatiale et moléculaire des parois cellulaires du xylème*

- Chen, H., Lu, C., Jiang, H., and Peng, J. (2015). Global Transcriptome Analysis Reveals Distinct Aluminum-Tolerance Pathways in the Al-Accumulating Species *Hydrangea macrophylla* and Marker Identification. *PLoS ONE* 10, e0144927. doi: [10.1371/journal.pone.0144927](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144927).
- Cipollini, D. F. (1999). Costs to Flowering of the Production of a Mechanically Hardened Phenotype in *Brassica napus* L. *International Journal of Plant Sciences* 160, 735–741. doi: [10.1086/314164](https://doi.org/10.1086/314164).
- Coomey, J. H., MacKinnon, K. J.-M., Handakumbura, P. P., McCahill, I. W., Trabucco, G. M., Mazzola, J., et al. (2021). Touch-triggered bZIP translocation regulates elongation and secondary wall biosynthesis. *Plant Biology* doi: [10.1101/2021.02.03.429573](https://doi.org/10.1101/2021.02.03.429573).
- Coutand, C., Julien, J. L., Moulia, B., Mauget, J. C., & Guitard, D. (2000). Biomechanical study of the effect of a controlled bending on tomato stem elongation: global mechanical analysis. *Journal of Experimental Botany* 51, 1813–1824. doi: [10.1093/jexbot/51.352.1813](https://doi.org/10.1093/jexbot/51.352.1813).
- Coutand, C., & Moulia, B. (2000). Biomechanical study of the effect of a controlled bending on tomato stem elongation: local strain sensing and spatial integration of the signal. *Journal of Experimental Botany* 51, 1825–1842. doi: [10.1093/jexbot/51.352.1825](https://doi.org/10.1093/jexbot/51.352.1825).
- Crespel, L., Morel, P., Li-Marchetti, C., Deogratias, J.-M., Ferre, A., Stapel, O., et al. (2018). Contrôler l'architecture des plantes horticoles en prenant en compte les facteurs génétiques, environnementaux et culturels. *Innovations Agronomiques*, 63, 43–55. doi: [10.15454/1.519114396833094E12](https://doi.org/10.15454/1.519114396833094E12)
- de Langre, E. (2008). Effects of Wind on Plants. *Annu. Rev. Fluid Mech.* 40, 141–168. doi: [10.1146/annurev.fluid.40.111406.102135](https://doi.org/10.1146/annurev.fluid.40.111406.102135).
- Demotes-Mainard, S., Péron, T., Corot, A., Bertheloot, J., Le Gourrierec, J., Pelleschi-Travier, S., et al. (2016). Plant responses to red and far-red lights, applications in horticulture. *Environmental and Experimental Botany* 121, 4–21. doi: [10.1016/j.envexpbot.2015.05.010](https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.05.010).
- Dilta, B., Latpate, M., Gupta, Y., Sharma, B., Negi, N., and Kaushal, S. (2015). Influence of growing media and daminozide on growth, flowering and pot presentability of *Hydrangea macrophylla* Thunb. *International Journal of Farm Sciences* 5, 111–118.
- Dranski, J. A., Frandoloso, J. F., Malavasi, U. C., and Malavasi, M. D. M. (2018). Partição da matéria seca e de carbono em mudas de *Pinus taeda* L. submetidas à tigmomorfogênese. *Ciênc. Florest.* 28, 1394. doi: [10.5902/1980509835048](https://doi.org/10.5902/1980509835048).
- Ferreira, B. G., Falcioni, R., Guedes, L. M., Avritzer, S. C., Antunes, W. C., Souza, L. A., et al. (2017). Preventing False Negatives for Histochemical Detection of Phenolics and Lignins in PEG-Embedded Plant Tissues. *J Histochem Cytochem.* 65, 105–116. doi: [10.1369/0022155416677035](https://doi.org/10.1369/0022155416677035).
- Fluch, S., Olmo, C. C., Tauber, S., Stierschneider, M., Kopecky, D., Reichenauer, T. G., et al. (2008). Transcriptomic changes in wind-exposed poplar leaves are dependent on developmental stage. *Planta* 228, 757–764. doi: [10.1007/s00425-008-0777-2](https://doi.org/10.1007/s00425-008-0777-2).

*Chapitre 2 : Des flexions symétriques récurrentes provoquent le nanisme chez l'hortensia à travers la régulation spatiale et moléculaire des parois cellulaires du xylème*

- Galopin, G., Beaujard, F., and Gendraud, M. (1996). Intensive production of juvenile cuttings by mother microplant culture in *Hydrangea macrophylla* “Leuchtfeuer.” *Can. J. Bot.* 74, 561–567. doi: [10.1139/b96-071](https://doi.org/10.1139/b96-071).
- Gardiner, B., Barnett, J., Saranpää, P., and Gril, J. (2014). *The Biology of Reaction Wood*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg doi: [10.1007/978-3-642-10814-3](https://doi.org/10.1007/978-3-642-10814-3).
- Gardiner, B., Berry, P., and Moulia, B. (2016). Review: Wind impacts on plant growth, mechanics and damage. *Plant Science* 245, 94–118. doi: [10.1016/j.plantsci.2016.01.006](https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2016.01.006).
- Gladala-Kostarz, A., Doonan, J. H., and Bosch, M. (2020). Mechanical stimulation in *BRACHYPODIUM DISTACHYON* : Implications for fitness, productivity, and cell wall properties. *Plant Cell Environ* 43, 1314–1330. doi: [10.1111/pce.13724](https://doi.org/10.1111/pce.13724).
- Goodman, A. M., and Ennos, A. R. (1996). A comparative study of the response of the roots and shoots of sunflower and maize to mechanical stimulation. *J Exp Bot* 47, 1499–1507. doi: [10.1093/jxb/47.10.1499](https://doi.org/10.1093/jxb/47.10.1499).
- Graham, T., and Wheeler, R. (2017). Mechanical Stimulation Modifies Canopy Architecture and Improves Volume Utilization Efficiency in Bell Pepper: Implications for Bioregenerative Life-support and Vertical Farming. *Open Agriculture* 2. doi: [10.1515/opag-2017-0004](https://doi.org/10.1515/opag-2017-0004).
- Huché-Théliér, L., Boumaza, R., Demotes-Mainard, S., Canet, A., Symoneaux, R., Douillet, O., et al. (2011). Nitrogen deficiency increases basal branching and modifies visual quality of the rose bushes. *Scientia Horticulturae* 130, 325–334. doi: [10.1016/j.scienta.2011.07.007](https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.07.007).
- Huché-Théliér, L., Crespel, L., Gourrierc, J. L., Morel, P., Sakr, S., and Leduc, N. (2016). Light signaling and plant responses to blue and UV radiations—Perspectives for applications in horticulture. *Environmental and Experimental Botany* 121, 22–38. doi: [10.1016/j.envexpbot.2015.06.009](https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.06.009).
- Ishihara, K. L., Lee, E. K. W., and Borthakur, D. (2017). Thigmomorphogenesis: changes in morphology, biochemistry, and levels of transcription in response to mechanical stress in *Acacia koa*. *Can. J. For. Res.* 47, 583–593. doi: [10.1139/cjfr-2016-0356](https://doi.org/10.1139/cjfr-2016-0356).
- Jaffe, M. J. (1973). Thigmomorphogenesis: The response of plant growth and development to mechanical stimulation: With special reference to *Bryonia dioica*. *Planta* 114, 143–157. doi: [10.1007/BF00387472](https://doi.org/10.1007/BF00387472).
- Jaffe, M. J., Biro, R., and Bridle, K. (1980). Thigmomorphogenesis: Calibration of the parameters of the sensory function in beans. *Physiol Plant* 49, 410–416. doi: [10.1111/j.1399-3054.1980.tb03326.x](https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1980.tb03326.x).
- Jaffe, M. J., and Forbes, S. (1993). Thigmomorphogenesis: the effect of mechanical perturbation on plants. *Plant Growth Regul* 12, 313–324. doi: [10.1007/BF00027213](https://doi.org/10.1007/BF00027213).
- Jamwal, K., Bhattacharya, S., and Puri, S. (2018). Plant growth regulator mediated consequences of secondary metabolites in medicinal plants. *Journal of Applied*

Chapitre 2 : Des flexions symétriques récurrentes provoquent le nanisme chez l'hortensia à travers la régulation spatiale et moléculaire des parois cellulaires du xylème

*Research on Medicinal and Aromatic Plants* 9, 26–38. doi: [10.1016/j.jarmap.2017.12.003](https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2017.12.003).

Jędrzejuk, A., Kuźma, N., Nawrot, K., Budzyński, R., and Orłowski, A. (2020). Mechanical stimulation affects growth dynamics, IAA content and activity of POD and IAA oxidase in *Petunia x atkinsiana*. *Scientia Horticulturae* 274, 109661. doi: [10.1016/j.scienta.2020.109661](https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109661).

Kern, K. A., Ewers, F. W., Telewski, F. W., and Koehler, L. (2005). Mechanical perturbation affects conductivity, mechanical properties and aboveground biomass of hybrid poplars. *Tree Physiology* 25, 1243–1251. doi: [10.1093/treephys/25.10.1243](https://doi.org/10.1093/treephys/25.10.1243).

Koehler, L., and Telewski, F. W. (2006). Biomechanics and transgenic wood. *American Journal of Botany* 93, 1433–1438. doi: [10.3732/ajb.93.10.1433](https://doi.org/10.3732/ajb.93.10.1433).

Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., and Tamura, K. (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. *Molecular Biology and Evolution* 35, 1547–1549. doi: [10.1093/molbev/msy096](https://doi.org/10.1093/molbev/msy096).

Kushwah, S., Banasiak, A., Nishikubo, N., Derba-Maceluch, M., Majda, M., Endo, S., et al. (2020). Arabidopsis *XTH4* and *XTH9* Contribute to Wood Cell Expansion and Secondary Wall Formation. *Plant Physiol.* 182, 1946–1965. doi: [10.1104/pp.19.01529](https://doi.org/10.1104/pp.19.01529).

Lange, M. J. P., and Lange, T. (2015). Touch-induced changes in Arabidopsis morphology dependent on gibberellin breakdown. *Nature Plants* 1, 14025. doi: [10.1038/nplants.2014.25](https://doi.org/10.1038/nplants.2014.25).

Lewis, N. G., and Yamamoto, E. (1990). Lignin: Occurrence, Biogenesis and Biodegradation. *Annual review of plant biology* 41, 455–496. doi: [10.1146/annurev.pp.41.060190.002323](https://doi.org/10.1146/annurev.pp.41.060190.002323).

Ley-Ngardigal, B., Guérin, V., Huché-Théliier, L., Brouard, N., Eveleens, T., Roman, H., et al. (2023). Impact of mechanical stimulation on *Hydrangea macrophylla*. *Acta Hort.*, 275–282. doi: [10.17660/ActaHortic.2023.1372.36](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2023.1372.36).

Li, Y., Xiong, W., He, F., Qi, T., Sun, Z., Liu, Y., et al. (2022). Down-regulation of *PvSAMS* impairs S-adenosyl-L-methionine and lignin biosynthesis, and improves cell wall digestibility in switchgrass. *Journal of Experimental Botany* 73, 4157–4169. doi: [10.1093/jxb/erac147](https://doi.org/10.1093/jxb/erac147).

Li-Marchetti, C., Le Bras, C., Relion, D., Citerne, S., Huché-Théliier, L., Sakr, S., et al. (2015). Genotypic differences in architectural and physiological responses to water restriction in rose bush. *Front. Plant Sci.* 06. doi: [10.3389/fpls.2015.00355](https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00355).

Ma, T., Ma, H., Zhao, H., Qi, H., and Zhao, J. (2014). Identification, characterization, and transcription analysis of xylogen-like arabinogalactan proteins in rice (*Oryza sativa* L.). *BMC Plant Biol* 14, 299. doi: [10.1186/s12870-014-0299-y](https://doi.org/10.1186/s12870-014-0299-y).

Ma, Y., MacMillan, C. P., de Vries, L., Mansfield, S. D., Hao, P., Ratcliffe, J., et al. (2022a). FLA11 and FLA12 glycoproteins fine-tune stem secondary wall properties in response to mechanical stresses. *New Phytologist* 233, 1750–1767. doi: [10.1111/nph.17898](https://doi.org/10.1111/nph.17898).



*Chapitre 2 : Des flexions symétriques récurrentes provoquent le nanisme chez l'hortensia à travers la régulation spatiale et moléculaire des parois cellulaires du xylème*

- Ma, Y., Shafee, T., Mudiyanse, A. M., Ratcliffe, J., MacMillan, C. P., Mansfield, S. D., et al. (2023). Distinct functions of FASCICLIN-LIKE ARABINOGALACTAN PROTEINS relate to domain structure. *Plant Physiology* 192, 119–132. doi: [10.1093/plphys/kiad097](https://doi.org/10.1093/plphys/kiad097).
- Ma, Y., Stafford, L., Ratcliffe, J., Bacic, A., and Johnson, K. L. (2022b). WAKL8 Regulates Arabidopsis Stem Secondary Wall Development. *Plants* 11, 2297. doi: [10.3390/plants11172297](https://doi.org/10.3390/plants11172297).
- MacMillan, C. P., Mansfield, S. D., Stachurski, Z. H., Evans, R., and Southerton, S. G. (2010). Fasciclin-like arabinogalactan proteins: specialization for stem biomechanics and cell wall architecture in Arabidopsis and Eucalyptus: FLAs specialized for stem biomechanics and cell walls. *The Plant Journal* 62, 689–703. doi: [10.1111/j.1365-313X.2010.04181.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2010.04181.x).
- Martin, L., Leblanc-Fournier, N., Julien, J.-L., Moulia, B., and Coutand, C. (2010). Acclimation kinetics of physiological and molecular responses of plants to multiple mechanical loadings. *Journal of Experimental Botany* 61, 2403–2412. doi: [10.1093/jxb/erq069](https://doi.org/10.1093/jxb/erq069).
- Megersa, H., Lemma, D., and Banjawu, D. (2018). Effects of Plant Growth Retardants and Pot Sizes on the Height of Potting Ornamental Plants: A Short Review. *J Horticulture* 05. doi: [10.4172/2376-0354.1000220](https://doi.org/10.4172/2376-0354.1000220).
- Mensuali-Sodi, A., Serra, G., Veiga de Vincenzo, M. C., Tognoni, F., and Ferrante, A. (2006). Ethylene response to mechanical stress perturbation of *Salvia splendens* L. potted plants. *Acta Horticulture*, 421–426. doi: [10.17660/ActaHortic.2006.723.59](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2006.723.59).
- Mondolot, L. (2001). New Applications for an Old Lignified Element Staining Reagent. *The Histochemical Journal*, 33, 379–385. doi: [10.1023/a:1013798426161](https://doi.org/10.1023/a:1013798426161)
- Morel, P., Crespel, L., Galopin, G., and Moulia, B. (2012). Effect of mechanical stimulation on the growth and branching of garden rose. *Scientia Horticulture* 135, 59–64. doi: [10.1016/j.scienta.2011.12.007](https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.12.007).
- Motose, H., Sugiyama, M., and Fukuda, H. (2004). A proteoglycan mediates inductive interaction during plant vascular development. *Nature* 429, 873–878. doi: [10.1038/nature02613](https://doi.org/10.1038/nature02613).
- Moulia, B., and Fournier, M. (2009). The power and control of gravitropic movements in plants: a biomechanical and systems biology view. *Journal of experimental botany*, 60, 461–486. doi: [10.1093/jxb/ern341](https://doi.org/10.1093/jxb/ern341)
- Nakano, J., and Meshitsuka, G. (1992). “The Detection of Lignin,” in *Methods in Lignin Chemistry* Springer Series in Wood Science., eds. S. Y. Lin and C. W. Dence (Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg), 23–32. doi: [10.1007/978-3-642-74065-7\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-642-74065-7_2).
- Nashima, K., Shirasawa, K., Ghelfi, A., Hirakawa, H., Isobe, S., Suyama, T., et al. (2021). Genome sequence of *Hydrangea macrophylla* and its application in analysis of the double flower phenotype. *DNA Research* 28, dsaa026. doi: [10.1093/dnares/dsaa026](https://doi.org/10.1093/dnares/dsaa026).

*Chapitre 2 : Des flexions symétriques récurrentes provoquent le nanisme chez l'hortensia à travers la régulation spatiale et moléculaire des parois cellulaires du xylème*

- Niez, B., Dlouha, J., Gril, J., Ruelle, J., Toussaint, E., Moulia, B., et al. (2020). Mechanical properties of “flexure wood”: compressive stresses in living trees improve the mechanical resilience of wood and its resistance to damage. *Annals of Forest Science* 77, 17. doi: [10.1007/s13595-020-0926-8](https://doi.org/10.1007/s13595-020-0926-8).
- Niez, B., Dlouha, J., Moulia, B., and Badel, E. (2019). Water-stressed or not, the mechanical acclimation is a priority requirement for trees. *Trees* 33, 279–291. doi: [10.1007/s00468-018-1776-y](https://doi.org/10.1007/s00468-018-1776-y).
- Niklas, K. J., and Telewski, F. W. (2022). Environmental–biomechanical reciprocity and the evolution of plant material properties. *Journal of Experimental Botany* 73, 1067–1079. doi: [10.1093/jxb/erab411](https://doi.org/10.1093/jxb/erab411).
- Paul-Victor, C., and Rowe, N. (2011). Effect of mechanical perturbation on the biomechanics, primary growth and secondary tissue development of inflorescence stems of *Arabidopsis thaliana*. *Annals of Botany* 107, 209–218. doi: [10.1093/aob/mcq227](https://doi.org/10.1093/aob/mcq227).
- Peng, J., Xue, C., Dong, X., Zeng, C., Wu, Y., and Cao, F. (2021). Gene cloning and analysis of the pattern of expression of the transcription factor HymMYB2 related to blue flower formation in *Hydrangea macrophylla*. *Euphytica* 217, 115. doi: [10.1007/s10681-021-02839-3](https://doi.org/10.1007/s10681-021-02839-3).
- Pfaffl, M. W. (2001). A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Research* 29, 45e–445. doi: [10.1093/nar/29.9.e45](https://doi.org/10.1093/nar/29.9.e45).
- Pomiès, L., Decourteix, M., Franchel, J., Moulia, B., and Leblanc-Fournier, N. (2017). Poplar stem transcriptome is massively remodelled in response to single or repeated mechanical stimuli. *BMC Genomics* 18, 300. doi: [10.1186/s12864-017-3670-1](https://doi.org/10.1186/s12864-017-3670-1).
- Pruyn, M. L., Ewers, B. J., and Telewski, F. W. (2000). Thigmomorphogenesis: changes in the morphology and mechanical properties of two *Populus* hybrids in response to mechanical perturbation. *Tree Physiology* 20, 535–540. doi: [10.1093/treephys/20.8.535](https://doi.org/10.1093/treephys/20.8.535).
- Rademacher, W. (2015). Plant Growth Regulators: Backgrounds and Uses in Plant Production. *J Plant Growth Regul* 34, 845–872. doi: [10.1007/s00344-015-9541-6](https://doi.org/10.1007/s00344-015-9541-6).
- Rademacher, W. (2017). “Chemical Regulators of Gibberellin Status and Their Application in Plant Production,” in *Annual Plant Reviews online*, ed. J. A. Roberts (Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd), 359–403. doi: [10.1002/9781119312994.apr0541](https://doi.org/10.1002/9781119312994.apr0541).
- Ramos, P., Provost, G. L., Gantz, C., Plomion, C., and Herrera, R. (2012). Transcriptional analysis of differentially expressed genes in response to stem inclination in young seedlings of pine. *Plant Biology, Plant Biology*, 14, 923–933. doi: [10.1111/j.1438-8677.2012.00572.x](https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2012.00572.x).
- Roignant, J., Badel, É., Leblanc-Fournier, N., Brunel-Michac, N., Ruelle, J., Moulia, B., et al. (2018). Feeling stretched or compressed? The multiple mechanosensitive responses of wood formation to bending. *Annals of Botany* 121, 1151–1161. doi: [10.1093/aob/mcx211](https://doi.org/10.1093/aob/mcx211).

*Chapitre 2 : Des flexions symétriques récurrentes provoquent le nanisme chez l'hortensia à travers la régulation spatiale et moléculaire des parois cellulaires du xylème*

- Runkle, E. S., Meng, Q., and Park, Y. (2019). LED applications in greenhouse and indoor production of horticultural crops. *Acta Hortic.*, 17–30. doi: [10.17660/ActaHortic.2019.1263.2](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2019.1263.2).
- Saidi, I., Ammar, S., Demont-Caulet, N., Thévenin, J., Lapierre, C., Bouzid, S., et al. (2009). Thigmomorphogenesis in *Solanum lycopersicum*: Morphological and biochemical responses in stem after mechanical stimulation. *Plant Science* 177, 1–6. doi: [10.1016/j.plantsci.2009.03.002](https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2009.03.002).
- Saitou, N., and Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 406–425. doi: [10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454](https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454).
- Sorensen, M. T., and Danielsen, V. (2006). Effects of the plant growth regulator, chlormequat, on mammalian fertility. *Int J Androl* 29, 129–133. doi: [10.1111/j.1365-2605.2005.00629.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.2005.00629.x).
- Telewski, F. W. (1989). Structure and function of flexure wood in *Abies fraseri*. *Tree Physiology* 5, 113–121. doi: [10.1093/treephys/5.1.113](https://doi.org/10.1093/treephys/5.1.113).
- Telewski, F. W. (2016). Chapter 5 - Flexure Wood: Mechanical Stress Induced Secondary Xylem Formation. Academic Press.
- Telewski, F. W., and Pruyn, M. L. (1998). Thigmomorphogenesis: a dose response to flexing in *Ulmus americana* seedlings. *Tree Physiology* 18, 65–68. doi: [10.1093/treephys/18.1.65](https://doi.org/10.1093/treephys/18.1.65).
- Telewski, F. W., & Jaffe, M. J. (1981). Thigmomorphogenesis: changes in the morphology and chemical composition induced by mechanical perturbation in 6-month-old *Pinus taeda* seedlings. *Canadian Journal of Forest Research*, 11, 381–388. doi: [10.1139/x81-051](https://doi.org/10.1139/x81-051).
- Vernieri, P., Mugnai, S., and Tognoni, F. (2003). Growth control by mechanical conditioning in *Salvia splendens* Sellow ex Schult. *Acta Hortic.*, 307–312. doi: [10.17660/ActaHortic.2003.614.46](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2003.614.46).
- Xu, W., Purugganan, M. M., Polisensky, D. H., Antosiewicz, D. M., and Braamay, J. (1995). Arabidopsis TCH4, Regulated by Hormones and the Environment, Encodes a Xyloglucan Endotransglycosylase. *The Plant Cell* 7, 1555–1567. doi: [10.1105/tpc.7.10.1555](https://doi.org/10.1105/tpc.7.10.1555).
- Yamaguchi, A., Soga, K., Wakabayashi, K., and Hoson, T. (2023). Modification of Xyloglucan Metabolism during a Decrease in Cell Wall Extensibility in 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylic Acid-Treated Azuki Bean Epicotyls. *Plants* 12, 367. doi: [10.3390/plants12020367](https://doi.org/10.3390/plants12020367).
- Zhang, M., Zhang, Q., Cheng, L., Li, Q., He, X., Wang, K., et al. (2022). Pepper (*Capsicum annuum*) xylogen-like arabinogalactan protein (XYLP) 1 and XYLP2 promote synthesis of lignin during stem development to cope with stresses. *V* 2, 1–10. doi: [10.48130/VR-2022-0015](https://doi.org/10.48130/VR-2022-0015).

*Chapitre 2 : Des flexions symétriques récurrentes provoquent le nanisme chez l'hortensia à travers la régulation spatiale et moléculaire des parois cellulaires du xylème*

Zhdanov, O., Blatt, M. R., Zare-Behtash, H., and Busse, A. (2021). Wind-evoked anemotropism affects the morphology and mechanical properties of Arabidopsis. *Journal of Experimental Botany* 72, 1906–1918. doi: [10.1093/jxb/eraa541](https://doi.org/10.1093/jxb/eraa541).

### **3. Effet de la stimulation mécanique sur le débourrement des bourgeons axillaires des tiges d'hortensia**

#### 3.1 Contexte de l'étude

Dans l'article présenté précédemment (cf. **Chapitre 2, partie 2**), nous avons montré que les traitements de stimulation mécanique (1 ou 12 flexions par jour pendant 3 semaines) induisaient une réduction de l'élongation des tiges ainsi qu'une augmentation de la croissance diamétrale celles-ci. Dans cette partie, nous avons cherché à savoir si nos traitements mécaniques avaient un effet sur le débourrement des bourgeons axillaires des tiges d'hortensia. En effet, chez plusieurs espèces végétales telles que le rosier, le liseron, le pétunia, le concombre et le pommier, la stimulation mécanique peut stimuler le débourrement et la ramification des plantes (Jaffe, 1973; Prasad and Cline, 1985; Lauri and Lespinasse, 2001; Han et al., 2007; Morel et al., 2012; Jędrzejuk et al., 2020). À l'inverse, d'autres espèces, telles que *Arabidopsis thaliana*, *Mimosa pudica* et *Salvia splendens*, affichent un retard de débourrement des bourgeons axillaires et floraux (Jaffe, 1973; Vernieri et al., 2003; Chehab et al., 2008). La filière ornementale attache une grande importance à l'obtention de plantes présentant des caractéristiques de compacité incluant une augmentation de la ramification notamment basale chez les plantes buissonnantes, et d'homogénéité du port. Dans cette optique, nous avons formulé plusieurs hypothèses de travail :

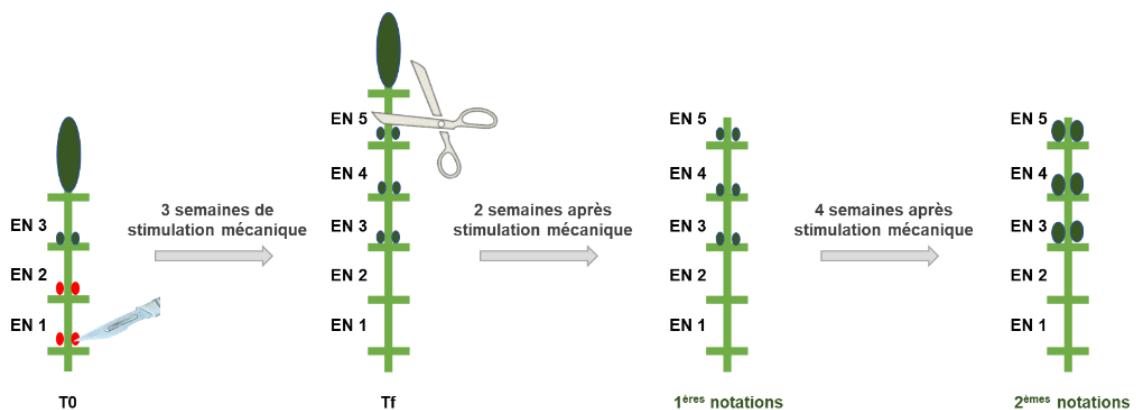
- (1) La stimulation mécanique pourrait favoriser le débourrement des bourgeons axillaires de l'hortensia, accélérant ainsi le processus de ramification. Les travaux de Prasad and Cline (1985) ont montré chez le liseron que la stimulation mécanique inhibait la dominance apicale et stimulait le débourrement des bourgeons latéraux en 48h. Chez le rosier et le pétunia, la stimulation mécanique augmente le nombre de ramification par rapport à des plantes non stimulées mécaniquement (Morel et al., 2012; Jędrzejuk et al., 2020).
- (2) Il est possible que chez l'hortensia la stimulation mécanique ait un effet sur le gradient de débourrement des bourgeons axillaires le long de la tige. Dans l'étude de Morel et al. (2012), la stimulation mécanique a augmenté la ramification des jeunes plants de rosiers au niveau basal. Chez l'hortensia, le gradient de débourrement le long d'un axe est généralement acrotone.

(3) La variabilité de fréquence et de durée des flexions (1 flexion par jour dure 1 minute et 12 flexions par jour durent 1 heure, cf. **Chapitre 1, partie 1**), pourrait avoir un effet sur le débourrement. Augmenter les fréquences et les durées de stimulation aura-t-il pour conséquence d'augmenter ou de diminuer le débourrement ? Par exemple, chez le rosier, il a été observé que la diminution du nombre de ramifications était corrélée à l'augmentation du nombre de flexions (Morel et al., 2012). En effet, les plantes ayant reçu un total de 42 flexions symétriques pendant 21 jours présentaient une augmentation de 5 % du nombre de ramifications par rapport aux plantes ayant subi un total de 190 flexions symétriques sur 25 jours.

### 3.2 Matériel et méthodes

Comme dans les expérimentations précédentes, les traitements mécaniques ont consisté en 1 flexion (1F) ou 12 flexions (12F) par jour pendant 3 semaines. Les plantes non stimulées mécaniquement et nanifiées avec un retardateur de croissance chimique (daminozide) (C+) et les plantes non stimulées mécaniquement et non nanifiées chimiquement (C-) ont également été utilisées pour les besoins de l'expérimentation. À la fin des 3 semaines de traitement mécanique et afin d'induire la levée de dormance des bourgeons axillaires, les plants d'hortensia ont été pincés au milieu de l'entre-nœud n°5, correspondant au premier entre-nœud néoformé au cours des 3 semaines d'expérimentation (**Figure 28**). Avant chaque expérimentation, les bourgeons des entre-nœuds les plus basaux (entre-nœuds n°1 et n°2) avaient été soigneusement retirés car certains d'entre eux avaient tendance à débourrer naturellement. Ainsi, les notations ont été réalisées uniquement sur les bourgeons axillaires situés au niveau des entre-nœuds n°3, n°4 et n°5 (**Figure 28**).

Les stades de développement des bourgeons, par ordre croissant, ont été décrit comme tel : (1) bourgeon dormant, (2) bourgeon gonflé, (3) bourgeon débourré, (4) bourgeon débourré avec une paire de feuilles visible hors des écailles (PF), (5) nouvel axe formé comportant un entre-nœud et une paire de feuilles développées (A1PF), et (6) nouvel axe formé comportant deux entre-nœuds et deux paires de feuilles développées (A2PF).



**Figure 28.** Plan expérimental utilisé pour l'étude du débourrement des bourgeons axillaires chez *Hydrangea macrophylla* cv. 'Wudu®' suite à une stimulation mécanique. Les ronds rouges correspondent aux bourgeons axillaires retirés avant le début du traitement mécanique. Les plantes des conditions contrôles (C- et C+) ont également été pincées au niveau de l'entre-nœud n°5 et les bourgeons des entre-nœuds n°1 et n°2 ont également été retirés.

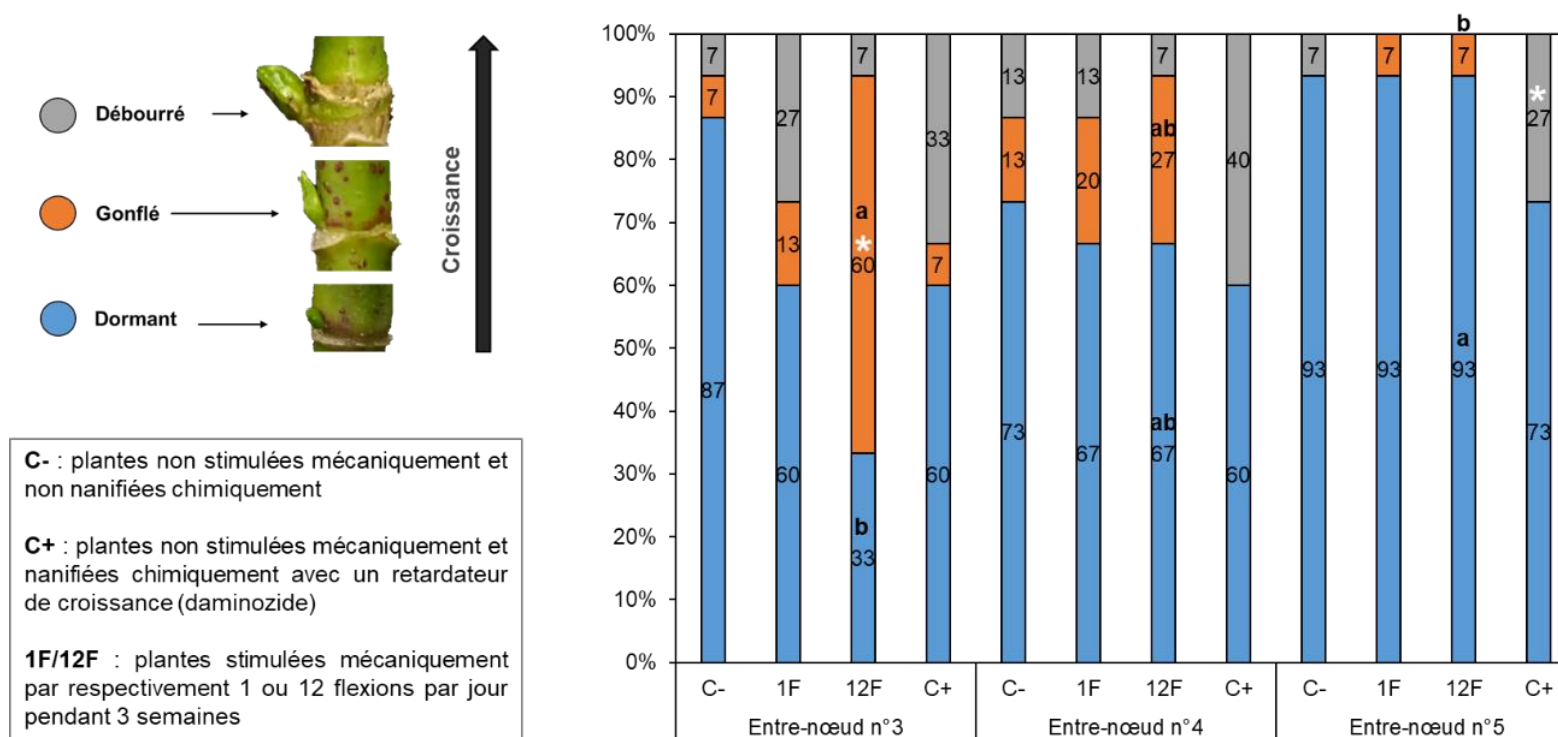
### 3.3 Résultats

Les observations ont débuté lorsque les bourgeons ont commencé à débourrer 2 semaines après la fin du traitement mécanique.

Au bout de 2 semaines, des différences marquées ont été observées entre les plantes contrôles et les plantes stimulées mécaniquement (**Figure 29**). Ainsi, les bourgeons de l'entre-nœud n°3, les plus basaux, des plantes contrôles (C-) sont restés à 87% dormants et seuls 13% ont entamé une croissance. Au contraire, les bourgeons de l'entre-nœud n°3 des plantes ayant subi une stimulation mécanique, et notamment ceux du traitement 12F ont pour plus de 67% d'entre eux entamé une croissance. Peu de différences ont été observées pour les bourgeons de l'entre-nœud n°4 de ces plantes. Au niveau de l'entre-nœud n°5, la stimulation mécanique semble au contraire retarder le débourrement. Les bourgeons de l'entre-nœud n°5 des plantes stimulées 1F et 12F restent dormants ou gonflés alors que certains bourgeons ont déjà débourré chez les plantes contrôles (C-). Ces résultats suggèrent que la stimulation mécanique a eu un effet accélérateur sur le débourrement des bourgeons axillaires basaux de l'hortensia favorisant un gradient basitone de débourrement.

Il est intéressant de noter que le traitement chimique au daminozide a un effet très différent sur le débourrement des bourgeons : il stimule en effet fortement le débourrement des bourgeons de l'entre-nœud n°5, favorisant ainsi un gradient plus acrotone de débourrement que les plantes contrôles (C-) ou stimulées mécaniquement (**Figure 29**).



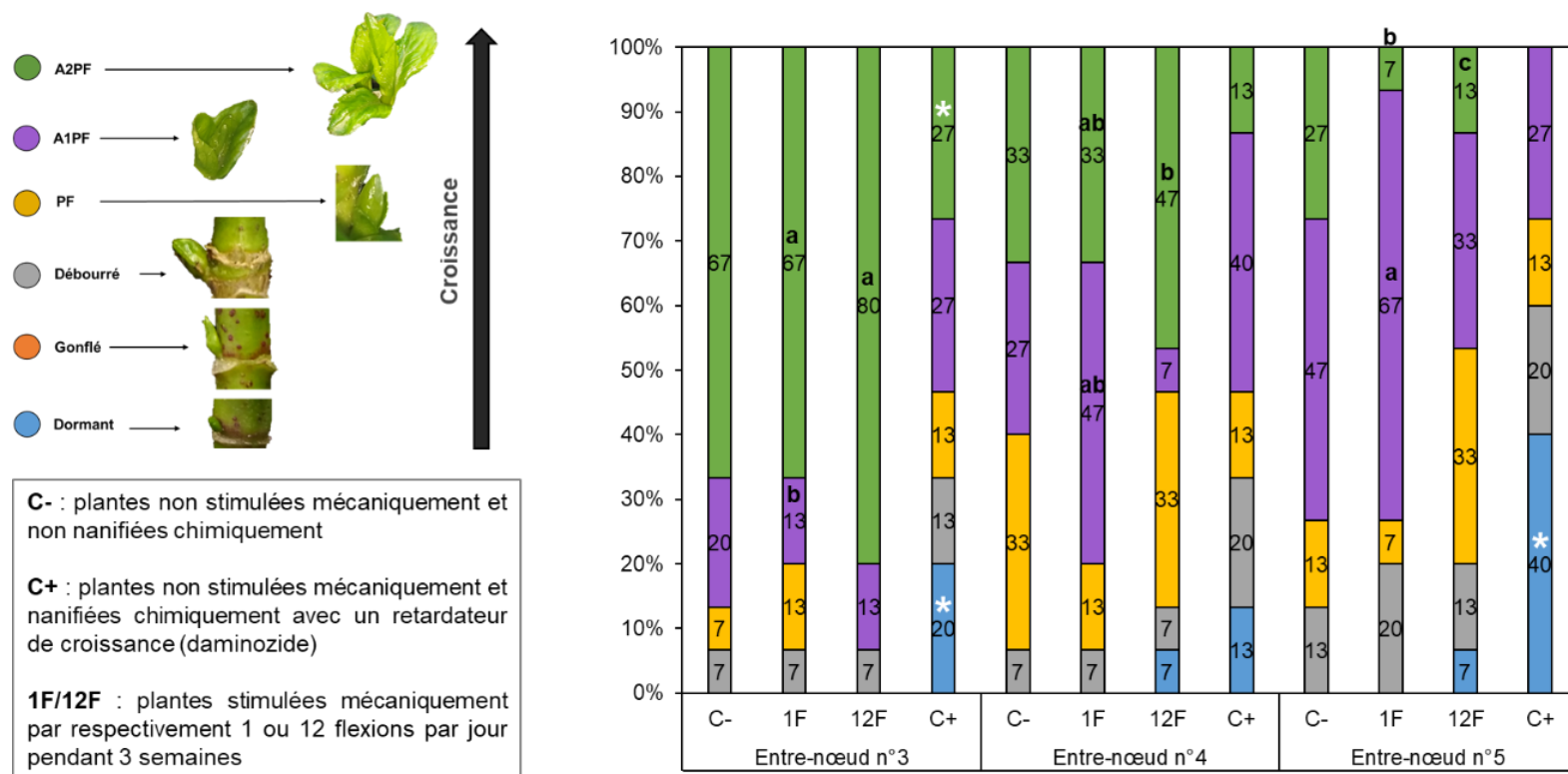


**Figure 29.** Stade de développement des bourgeons axillaires chez *Hydrangea macrophylla* cv. 'Wudu®' observé 2 semaines après la stimulation mécanique. Les données représentent le pourcentage de bourgeons, répartis sur les différents entre-nœuds, en fonction de leur stade de développement. Les valeurs correspondent aux moyennes de 3 répétitions biologiques indépendantes de 5 plantes. Les astérisques indiquent les différences significatives entre toutes les conditions pour les bourgeons de même stade et positionné sur un entre-nœud donné après le test non-paramétrique de Kruskal – Wallis ( $P < 0,05$ ). Les lettres indiquent les différences significatives pour une condition donnée entre les bourgeons de même stade et positionné sur différents entre-nœuds après le test non-paramétrique de Kruskal – Wallis ( $P < 0,05$ ).

*Chapitre 2 : Des flexions symétriques récurrentes provoquent le nanisme chez l'hortensia à travers la régulation spatiale et moléculaire des parois cellulaires du xylème*

Les plantes ont ensuite été observées 4 semaines après les traitements. À ce stade, les différences entre les plantes stimulées (1F et 12F) et les plantes contrôles non nanifiées chimiquement (C-) sont davantage estompées, même si un développement plus avancé des bourgeons basaux reste encore visible chez les plantes stimulées 12F (**Figure 30**).

Concernant, les plantes nanifiées chimiquement (C+) une proportion encore plus élevée de bourgeons dormants est observée au bout de 4 semaines au niveau des entre-nœuds n°3 et n°5, ainsi qu'une plus faible proportion de bourgeons ayant déjà donné un axe portant 2 paires de feuilles développées a été observée au niveau de l'entre-nœud n°3. Ces résultats révèlent que le nanifiant chimique (daminozide) retarde le débourrement des bourgeons axillaires chez l'hortensia (**Figure 30**).



**Figure 30.** Stade de développement des bourgeons axillaires chez *Hydrangea macrophylla* cv. 'Wudu®' observé 4 semaines après la stimulation mécanique. Les données représentent le pourcentage de bourgeons, répartis sur différents entre-nœuds, en fonction de leur stade de développement. Les valeurs correspondent aux moyennes de 3 répétitions biologiques indépendantes de 5 plantes. Les astérisques indiquent les différences significatives entre toutes les conditions pour les bourgeons de même stade et positionné sur un entre-nœud donné après le test non-paramétrique de Kruskal – Wallis ( $P < 0,05$ ). Les lettres indiquent les différences significatives pour une condition donnée entre les bourgeons de même stade et positionnés sur différents entre-nœuds après le test non-paramétrique de Kruskal – Wallis ( $P < 0,05$ ).

### 3.4 Conclusions

Nos résultats ont montré que la stimulation mécanique avait un impact significatif sur le débourrement des bourgeons chez *Hydrangea macrophylla*. L'hypothèse selon laquelle la stimulation mécanique pourrait favoriser le débourrement des bourgeons axillaires, et donc accélérer le processus de ramification, a été partiellement corroborée par nos résultats. En effet, nous avons observé dès la 2<sup>ème</sup> semaine après la levée de la dominance apicale, un développement plus rapide des bourgeons axillaires chez les plantes stimulées (12F) par rapport aux plantes non stimulées (C- et C+) (**Figure 29**). Cependant, cette accélération n'a pas été moindre chez les plantes stimulées (1F). Cela suggère que l'augmentation de la fréquence, et par conséquent de la durée des stimulations, accélère le débourrement chez l'hortensia.

En accord avec les travaux de Morel et al. (2012), nos observations ont démontré que l'application de la stimulation mécanique pouvait exercer une influence significative sur le gradient de débourrement des bourgeons axillaires chez l'hortensia. En effet, un gradient plus basitone a été observé après stimulation mécanique. Il est également important de noter que cette modification du gradient s'est maintenue, bien que moins marqué jusqu'à 4 semaines après le traitement mécanique (**Figure 30**). Des stimulations mécaniques imposées chaque semaine pourraient peut-être maintenir ce gradient basitone, caractéristique d'un port buissonnant bien marqué et recherché en production.

Notre étude a aussi révélé que l'usage du nanifiant chimique, en l'occurrence le daminozide, engendrait un retard significatif du débourrement des bourgeons axillaires de l'hortensia. À partir de la 2<sup>ème</sup> semaine suivant la levée de dormance, la proportion la plus élevée de bourgeons dormants, ainsi que la proportion la plus faible de bourgeons donnant naissance à un axe avec deux paires de feuilles développées, étaient observées chez les plantes ayant subi une nanification chimique (C+) (**Figure 29**). Cette tendance a perduré jusqu'à 4 semaines après le traitement (**Figure 30**). Ces résultats révèlent un autre avantage de la stimulation mécanique sur le traitement chimique, qui peut se révéler important dans la gestion de la croissance des plantes en production.

#### 4. Conclusions générales

L'ensemble de ces travaux a démontré que les réponses de l'hortensia (*Hydrangea macrophylla*) étaient proportionnelles au nombre de flexions appliquées, et qu'aucun signe de désensibilisation ne semblait avoir été observé au cours de 3 semaines de stimulation mécanique.

L'étude des réponses histologiques et moléculaires induites par les traitements mécaniques a révélé qu'elles étaient spécifiquement localisées et étroitement associées aux phases de croissance primaire ou secondaire des différents entre-nœuds.

Notre analyse moléculaire a mis en évidence que les 12 flexions avaient une incidence sur l'expression de plusieurs gènes jusqu'à 2 semaines après les premières stimulations, et que cette modification était corrélée avec les caractéristiques histologiques des plantes. Plus précisément, les gènes *HmXYP1*, *HmFLA11* et *HmCAD1*, impliqués dans des processus tels que la xylogénèse, l'épaississement de la paroi cellulaire et le dépôt de lignine dans le xylème, étaient surexprimés dans l'entre-nœud le plus basal affichant une importante croissance diamétrale. En revanche, ce traitement a réprimé l'expression des gènes *HmEXP3* et *HmXTH33*, en lien avec l'arrêt de l'élongation de cet entre-nœud. Dans l'entre-nœud où les croissances primaire et secondaire coexistent, les 12 flexions ont également réprimé l'expression des gènes *HmXYP1*, *HmCAD1*, *HmSAMS1* et *HmCDC23*, ce qui est en corrélation avec la faible croissance diamétrale observée dans cet entre-nœud.

En outre, nos investigations ont révélé que l'application de 12 flexions mécaniques par jour était environ deux tiers aussi efficaces que l'utilisation d'un retardateur de croissance chimique pour réduire l'allongement des tiges, tout en favorisant simultanément leur croissance diamétrale.

Une autre observation intéressante est que la stimulation mécanique a eu un effet positif sur le débourrement des bourgeons axillaires chez l'hortensia. Elle a favorisé une accélération du débourrement des bourgeons axillaires basaux et une ramification basitone, critère de qualité des buissons d'ornement. Cela contraste avec l'effet du régulateur de croissance chimique, qui retarde le débourrement des bourgeons et favorise plutôt un débourrement acrotone.

*Chapitre 2 : Des flexions symétriques récurrentes provoquent le nanisme chez l'hortensia à travers la régulation spatiale et moléculaire des parois cellulaires du xylème*

Pris dans leur globalité, nos résultats suggèrent que l'utilisation de ces traitements de stimulation mécanique représente une alternative prometteuse aux retardateurs de croissance chimiques pour diminuer l'élongation des tiges, stimuler le débourrement et favoriser le port buissonnant de l'hortensia. Ces résultats mettent en lumière l'importance de la stimulation mécanique dans la régulation du développement de l'hortensia, offrant ainsi des perspectives précieuses en production.



## Chapitre 3 : La mémoire d'*Hydrangea macrophylla* à la stimulation mécanique

### 1. Étude de la croissance diamétrale des tiges

Pour examiner si nos traitements mécaniques engendrent des mécanismes de mémorisation, nous avons entrepris deux études distinctes. La première étude s'est concentrée sur des aspects morphologiques en analysant la croissance en diamètre des tiges d'hortensia. La seconde étude, quant à elle, a abordé des aspects moléculaires en se penchant sur l'état de compaction de la chromatine.

#### 1.1 Contexte de l'étude

Dans cette partie de la thèse, nous avons entrepris d'examiner les potentiels réponses de mémorisation de l'hortensia induites par les deux traitements mécaniques testés, à savoir 1 ou 12 flexions symétriques par jour pendant une période de 3 semaines. Cette étude fait suite aux recherches menées par Martin et al. (2010), qui ont démontré que de jeunes plants de peuplier soumis à 2 flexions asymétriques finissaient par développer une moindre sensibilité au signal de stress mécanique, ce qui entraînait une réduction de la croissance diamétrale. Dans le contexte où la stimulation mécanique est utilisée comme méthode pour nanifier les plantes en production, une telle réponse de désensibilisation n'est pas souhaitable. Par conséquent, il est essentiel d'explorer l'existence d'une telle réaction chez l'hortensia et de déterminer les fréquences et les durées de stimulation mécanique susceptibles de conduire à cette désensibilisation potentielle.

#### 1.2 Matériel et méthodes

Pour répondre à cette question, nous avons utilisé des pinces dendrométriques (2Grow, Phyto-IT, Brecht, Belgique) (**Figure 31**) qui ont permis de suivre en continu la croissance diamétrale des tiges d'hortensia. Plusieurs séries d'expérimentations ont été menées pour cette étude :

- *1<sup>ère</sup> expérimentation* : le traitement de stimulation a consisté au passage d'1 ou 12 flexions symétriques par jour entre 9h et 10h du matin pendant 5 jours consécutifs suivi



de 2 jours de pause, et ce pendant 3 semaines (traitements mécaniques précédemment étudiés).

- 2<sup>ème</sup> expérimentation : le traitement de stimulation a consisté au passage d'1 ou 12 flexions symétriques par jour entre 9h et 10h du matin pendant 5 jours consécutifs suivi de 2 jours de pause, et ce pendant 5 semaines.
- 3<sup>ème</sup> expérimentation : le traitement de stimulation a consisté au passage de 12 flexions symétriques par jour entre 9h et 10h du matin pendant 5 jours consécutifs suivi de 2 jours de pause, ou pendant 7 jours consécutifs (sans jour de pause), et ce pendant 3 semaines. Pour cette expérimentation nous avons également suivi l'élongation des tiges.

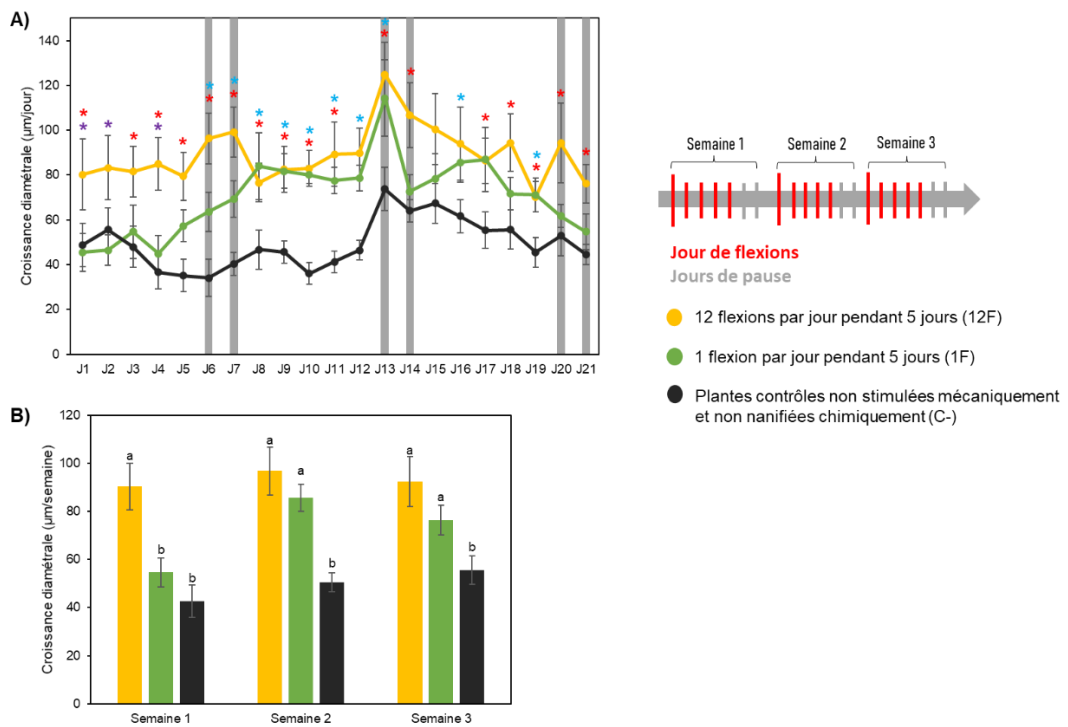


**Figure 31.** Pince dendrométrique utilisée pour étudier l'effet de la stimulation mécanique sur la croissance diamétrale des tiges d'*Hydrangea macrophylla*. Les pinces ont été placées au niveau du collet des tiges d'hortensia correspondant à l'entre-nœud le plus basal.

Avant de procéder au traitement, les données collectées à l'aide des pinces dendrométriques ont été soumises à une étape de filtrage. En effet, les données enregistrées en journée ont été exclues, car les moindres variations des conditions environnementales (comme l'augmentation du nombre de personnes dans la chambre de culture, entraînant une augmentation de la température ambiante, les arrosages des plantes, l'ouverture et la fermeture des portes, ...) pouvaient être captées par les pinces. Par conséquent, seules les données enregistrées pendant la nuit ont été conservées. Ensuite, les données recueillies quotidiennement pour chaque plante ont été moyennées.

1.3 Effet d'1 ou 12 flexions par jour pendant 3 semaines (1<sup>ère</sup> expérimentation)

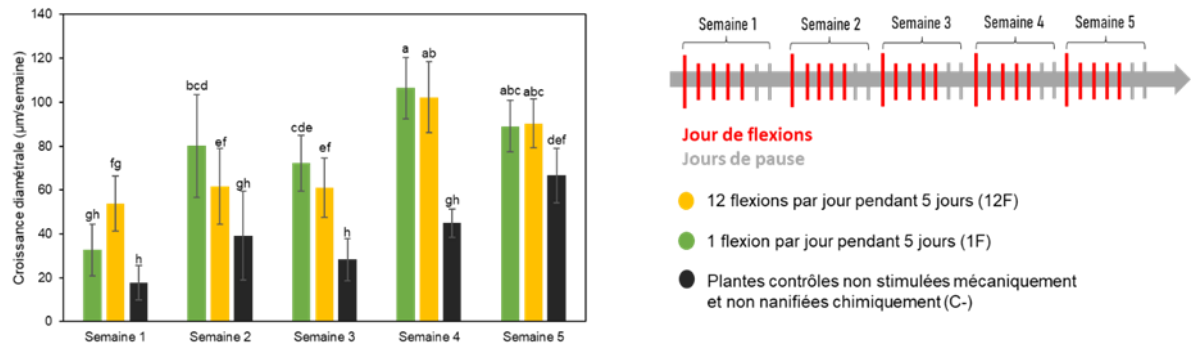
Les résultats relatifs à la croissance diamétrale des plantes, calculée pour chaque jour de traitement, mettent en évidence une augmentation de la croissance diamétrale des tiges au cours des 3 semaines de traitement mécanique (**Figure 32**). Dès la 1<sup>ère</sup> semaine, seules les 12 flexions ont eu un effet significatif sur la croissance diamétrale des tiges. L'effet d'1 flexion par jour n'a été observé qu'à partir de la 2<sup>ème</sup> semaine et s'est maintenu jusqu'à la 3<sup>ème</sup> semaine de traitement (**Figure 32**). Parallèlement, l'augmentation de la croissance diamétrale des plantes soumises à 12 flexions a été constante tout au long des 3 semaines de traitement (**Figure 32B**). Ces résultats suggèrent que même après 3 semaines de stimulation, les hortensias continuent à réagir au signal de stress provoqué par 1 ou 12 flexions par jour et avec la même intensité. Il semble donc que les plantes ne se soient pas désensibilisées à ces traitements de stimulation mécanique.



**Figure 32.** Effet de la stimulation mécanique sur la croissance diamétrale journalière (**A**) et hebdomadaire (**B**) des tiges d'*Hydrangea macrophylla* cv. 'Wudu®'. Les valeurs correspondent aux moyennes de 4 répétitions biologiques indépendantes (N= 10 plantes) pour la condition 12F, 3 répétitions biologiques indépendantes (N= 9 plantes) pour la condition 1F et 5 répétitions biologiques indépendantes (N= 13 plantes) pour la condition contrôle (C-). (**A**) Les astérisques indiquent les différences significatives après le test non-paramétrique de Kruskal – Wallis ( $P < 0,05$ ) entre les comparaisons : 12F *versus* C- en rouge, 1F *versus* C- en bleu et 1F *versus* 12F en violet. (**B**) Les lettres indiquent les différences significatives entre les différentes conditions après le test non-paramétrique de Kruskal – Wallis ( $P < 0,05$ ).

1.4 Effet d'1 ou 12 flexions par jour pendant 5 semaines (2<sup>ème</sup> expérimentation)

Afin de vérifier l'absence de désensibilisation sur une plus grande durée de traitement, nous avons suivi la réponse des tiges pendant 5 semaines (**Figure 33**). Comme précédemment, une croissance diamétrale significativement plus élevée chez les plantes soumises à la stimulation mécanique par rapport aux plantes témoins a été mesurée. À nouveau, aucune désensibilisation n'a été observée sur cette durée, puisqu'à l'inverse, une plus grande croissance diamétrale a été mesurée à partir de la 4<sup>ème</sup> semaine par rapport aux précédentes chez les plantes stimulées 1F et 12F

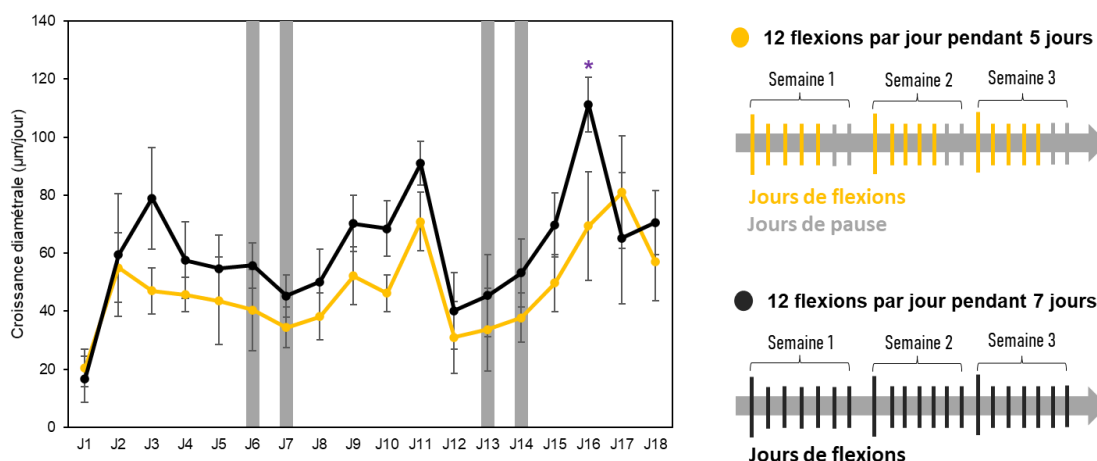


**Figure 33.** Effet de la stimulation mécanique sur la croissance diamétrale hebdomadaire des tiges d'*Hydrangea macrophylla* cv. 'Wudu®'. Les valeurs correspondent aux valeurs moyennes de 3 plantes par condition, soit 1 répétition biologique (N = 9). Les lettres indiquent les différences significatives entre les différentes conditions après le test non-paramétrique de Kruskal – Wallis (P < 0,05).

1.5 Effet d'1 ou 12 flexions 5j/7j ou 7j/7j (3<sup>ème</sup> expérimentation)

Suite aux résultats précédents, nous avons formulé l'hypothèse d'un éventuel effacement de la mémoire de l'hortensia qui se produirait au cours des 2 jours de pause suivant les 5 jours de flexions mécaniques. Par conséquent, nous avons choisi d'étudier l'effet du traitement mécanique qui a provoqué la plus grande croissance diamétrale (12 flexions par jour) pendant 5 jours consécutifs ou pendant 7 jours consécutifs, excluant ainsi les 2 jours de pause initiaux. Les traitements ont été appliqués sur une période de 3 semaines.

Les résultats démontrent que le traitement 12F 7j/7j stimule de manière similaire voir plus forte la croissance diamétrale des tiges que le traitement 12F 5j/7j (**Figure 34**). Cette observation suggère que dans nos conditions (0 ou 2 jours de pause hebdomadaire), les jours de pause ne semblent pas participer à un éventuel effacement d'une mémoire des tiges au traitement mécanique. Même traité en continu pendant 3 semaines l'hortensia continue de percevoir le signal de stress mécanique et d'y réagir sans signe de désensibilisation.



**Figure 34.** Effet de la stimulation mécanique sur la croissance diamétrale hebdomadaire des tiges d'*Hydrangea macrophylla* cv. 'Wudu®' avec 0 ou 2 jours de pause hebdomadaire. Les valeurs correspondent aux moyennes de 3 répétitions biologiques indépendantes (N= 6 plantes par condition). L'astérisque indique les différences significatives entre les différentes conditions après le test non-paramétrique de Kruskal – Wallis ( $P < 0,05$ ).

## 1.6 Conclusions

L'hypothèse selon laquelle les plantes d'hortensia pourraient se désensibiliser aux traitements mécaniques n'a pas été confirmée par nos résultats. Les plantes continuent de réagir positivement, montrant que le signal de stress mécanique est toujours perçu même après 5 semaines d'exposition. L'hypothèse de l'effacement d'une mémoire de l'hortensia par les jours de pause n'est donc pas validée. Les plantes exposées à des traitements mécaniques avec ou sans jours de pause ont montré des réponses de croissance similaires. Les résultats soulignent donc la persistance de la sensibilité de l'hortensia aux flexions symétriques de la tige sur une période prolongée.

Nos résultats semblent en contradiction avec les travaux de Martin et al. (2010), qui ont montré que le peuplier perdait sa sensibilité au stress mécanique après seulement 2 flexions asymétriques successives. Cette discordance peut être attribuée à la nature des flexions qui engendrent des contraintes mécaniques distinctes et des réponses variées chez les plantes. Les flexions asymétriques peuvent générer des contraintes mécaniques différentes de celles des flexions symétriques, où la force est répartie de manière équilibrée des deux côtés de la tige. La réponse peut aussi dépendre de la sensibilité de chaque espèce, ainsi que des caractéristiques précises de la stimulation mécanique, telles que la fréquence, l'amplitude et la durée des forces appliquées.

En conclusion, l'hortensia semble maintenir sa sensibilité au stress mécanique induit par des flexions symétriques de la tige, même après plusieurs semaines d'exposition. Ces traitements de stimulation mécanique, et en l'absence de désensibilisation que nous avons montrée, ouvrent ainsi des perspectives prometteuses pour le transfert de cette méthode en système de production de l'hortensia.

## 2. Étude de la compaction de l'ADN

### 2.1 Contexte de l'étude

D'un point de vue morphologique, les traitements de stimulation mécanique précédemment étudiés ne révèlent pas la présence d'un processus de mémorisation visible au cours de la croissance diamétrale des tiges chez l'hortensia. Il est toutefois intéressant d'étudier d'éventuelles réponses au niveau cellulaire et moléculaire. L'étude des stress mécaniques chez les plantes a en effet montré que les premières réponses liées à la perception du signal de stress étaient visibles dès quelques secondes (Choi et al., 2016; Telewski, 2021) et que des modifications épigénétiques avaient lieu lorsque des plantes étaient exposées à un stress de longue durée. Parmi ces modifications, le remodelage de la chromatine permet aux facteurs de transcriptions un accès plus ou moins facile à l'ADN pour de réguler l'expression de certains gènes cibles en réponse au stress. Aucun travail n'a jusqu'ici montré un impact de la stimulation mécanique sur la compaction de la chromatine des plantes. Aussi, nous avons entrepris d'étudier l'effet de notre traitement sur l'état de compaction de l'ADN de l'hortensia. Pour cela, nous avons extrait et étudié la chromatine de tiges ayant subi 12 flexions symétriques successives pendant 1 heure.

### 2.2 Matériel et méthodes

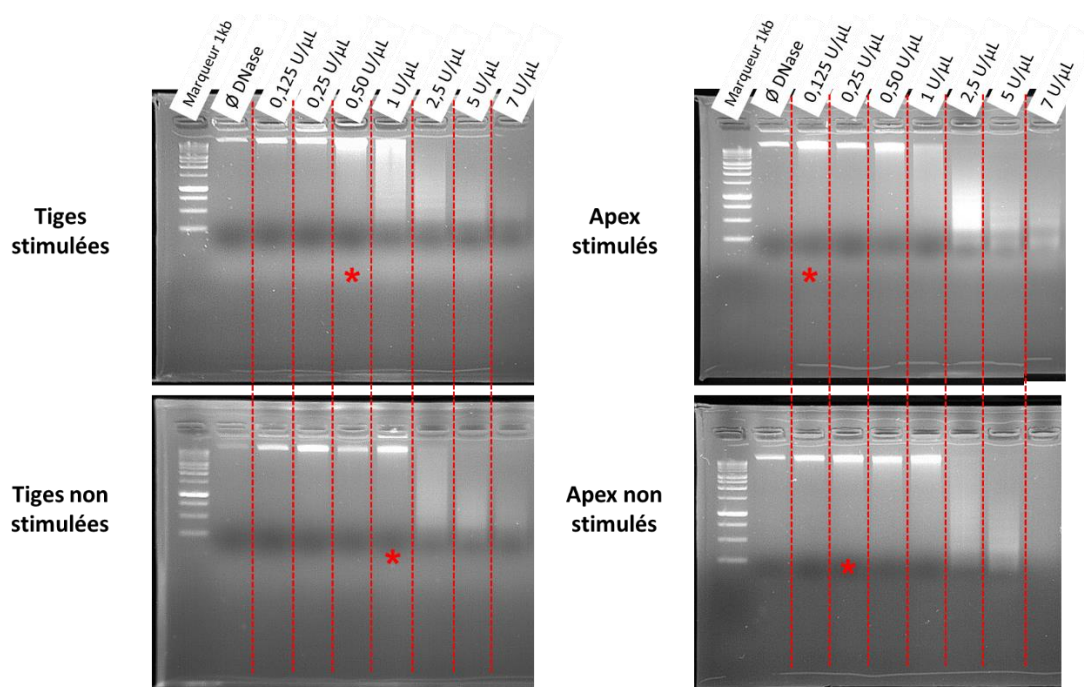
La tige entière (3 entre-nœuds) et l'apex des tiges de 160 plantes stimulées, par 12 flexions symétriques successives pendant 1 heure, et non stimulée ont été prélevés 1 heure après la première flexion, soit immédiatement après la fin du traitement mécanique.

Afin d'observer si la compaction de la chromatine est différente entre des plantes stimulées et des plantes non stimulées, la chromatine extraite des tiges et des apex a été digérée par une DNase I, une enzyme sensible à la compaction de la chromatine. Un gradient de concentration de DNase I a été utilisé afin de déterminer le seuil de concentration permettant la digestion de la chromatine. Plus le seuil est bas, plus la chromatine est décompactée. Le protocole complet d'extraction de la chromatine est présenté en annexe (**Annexe II**).

### 2.3 Résultats

Les premières traces de dégradation de la chromatine des tiges ont été obtenues à partir d'une concentration de DNase I de 0,5 U/ $\mu$ L pour les plantes stimulées et de 1 U/ $\mu$ L pour les plantes non stimulées (**Figure 35**). Pour les apex des tiges stimulées et non stimulées mécaniquement, les 1<sup>ère</sup> traces de dégradation de la chromatine s'observent respectivement à partir de 0,125 U/ $\mu$ L et de 0,25 U/ $\mu$ L.

Ces premiers résultats semblent donc indiquer que la chromatine des tiges et des apex des plantes stimulées soit plus décompactée que celle des tiges et des apex des plantes non stimulées.



**Figure 35.** Migration de la chromatine issues des différents organes d'*Hydrangea macrophylla*. La stimulation mécanique a consisté en l'application de 12 flexions symétriques et successives pendant 1 heure. Les astérisques rouges indiquent les premières traces de dégradation de la chromatine après la digestion enzymatique par une DNase I.

## 2.4 Conclusions

Les résultats ont indiqué que la chromatine des tiges et des apex des plantes soumises à la stimulation mécanique semble présenter une décompaction de l'ADN plus prononcée par rapport aux tiges et aux apex des plantes non stimulées. Cette observation suggère que le stress mécanique, généré par les 12 flexions successives pendant 1 heure, provoque des modifications structurales au niveau de la chromatine, ce qui aurait pour effet de rendre l'ADN plus accessible aux facteurs de transcription et à d'autres protéines régulatrices. Cette décompaction pourrait faciliter l'expression de gènes nécessaires à la mise en place des réponses liées au stress mécanique, notamment ceux impliqués dans le relâchement pariétal et dans la croissance secondaire renforçant ainsi les structures cellulaires pour résister à ces forces mécaniques.

Ces conclusions sont basées sur des observations préliminaires de dégradation de la chromatine, et des recherches complémentaires sont indispensables pour approfondir notre compréhension des mécanismes sous-jacents à cette décompaction de l'ADN et pour clarifier son rôle précis dans la réponse des plantes au stress mécanique.



### **3. Conclusions générales**

L'ensemble de cette étude a non seulement consolidé les résultats obtenus dans le chapitre précédent, mais a également approfondi notre compréhension de la réponse de l'hortensia au stress mécanique. Il est désormais évident que l'hortensia maintient sa sensibilité au stress mécanique, qu'il s'agisse d'1 seule flexion ou de 12 flexions symétriques de la tige par jour, et ce, sur une période allant jusqu'à 5 semaines d'expérimentation, même en l'absence de jours de pause sans stimulation mécanique.

Une décompaction de la chromatine plus prononcée après 12 flexions appliquées en 1h suggère que des mécanismes de réponse d'ordre épigénétique pourrait se mettre rapidement en place en réponse à des stimulations mécaniques. Il est plausible que d'autres modifications épigénétiques puissent en complément activer ou désactiver les gènes impliqués dans le relâchement et la synthèse de la paroi cellulaire, ainsi que dans la synthèse de lignine visant ainsi à accroître l'épaisseur des tiges. Par exemple, des groupes méthyles peuvent être ajoutés ou retirés de l'ADN, modifiant la manière dont certains de ces gènes sont exprimés en réponse au stress mécanique. Cette forme de mémoire épigénétique pourrait permettre aux tiges d'hortensia de mieux résister aux contraintes mécaniques récurrentes.

Il est essentiel de souligner que ces découvertes ouvrent un nouvel axe de recherche passionnant, exigeant davantage d'investigations pour vérifier et élucider les mécanismes précis de cette mémoire épigénétique et son impact sur la capacité de l'hortensia à répondre de manière plus efficace au stress mécanique. Ces études futures pourraient également révéler des moyens de manipuler les mécanismes épigénétiques pour renforcer la résistance des plantes à un large éventail de contraintes environnementales, ce qui aurait des implications significatives pour l'agriculture durable et la protection de l'environnement.

## Chapitre 4 : Étude des réponses à la stimulation mécanique chez *Hydrangea macrophylla* au travers un profilage transcriptomique et métabolomique

### 1. Contexte de l'étude

Jusqu'à présent, et à notre connaissance, seulement six études ont été menées à l'échelle transcriptomique pour explorer les réponses des plantes à la stimulation mécanique. Très peu d'entre-elles se sont intéressées à l'impact de la stimulation mécanique sur les régulations hormonales.

L'étude pionnière a été réalisée par Lee et al. (2004), et s'est penchée sur les réponses transcriptomiques des plants d'*Arabidopsis thaliana* soumis à des flexions symétriques récurrentes des feuilles. La 2<sup>ème</sup> étude, menée par Pomiès et al. (2017), a analysé le transcriptome de jeunes peupliers soumis à 1 ou 2 flexions asymétriques sur une portion de la tige. La 3<sup>ème</sup> étude s'est concentrée sur l'analyse du transcriptome et la quantification des GAs, AUX, et JA, après le brossage de feuilles de plantules d'*Arabidopsis thaliana* présentant des mutations dans des gènes codants pour des protéines mitochondriales (Xu et al., 2019). La 4<sup>ème</sup> étude a porté sur l'analyse transcriptomique et la mesure des niveaux de JA, SA, AUX, CKs et ABA après la pulvérisation d'eau sur des plantules d'*Arabidopsis thaliana* présentant des mutations dans des gènes impliqués dans la signalisation jasmonique (Van Moerkercke et al., 2019). La 5<sup>ème</sup> étude a également porté sur l'analyse transcriptomique d'*Arabidopsis thaliana* après la pulvérisation d'eau sur les plantules ou le touché de celles-ci avec une pince (Van Aken et al., 2016). Enfin, la 6<sup>ème</sup> étude a été entreprise sur les racines de *Brachypodium distachyon* en réponse à des flexions symétriques récurrentes de la tige (Coomey et al., 2021). Récemment, une méta-analyse a été réalisée à partir des données transcriptomiques des travaux de Lee et al. (2004), Xu et al. (2019), et Van Moecker et al. (2019), et s'est notamment intéressée à l'implication des différentes voies hormonales (ABA, JA, SA, éthylène, AUX et BRs) dans les réponses des plantes à la stimulation mécanique (Brenya et al., 2022).

#### *Chapitre 4 : Étude des réponses à la stimulation mécanique chez *Hydrangea macrophylla* au travers un profilage transcriptomique et métabolomique*

Toutes ces études révèlent des mécanismes moléculaires similaires entre espèces végétales, et mettent également en évidence la variabilité des réponses. Cette variabilité dépend à la fois des génotypes et des organes étudiés, ainsi que de la nature de la contrainte mécanique appliquée. Par conséquent, une compréhension plus complète des différents mécanismes impliqués dans la réponse des plantes à la stimulation mécanique est nécessaire et revêt une grande importance, en particulier dans le contexte où des traitements mécaniques seraient appliqués en production végétale en remplacement des régulateurs de croissance chimiques.

Aussi, ce dernier chapitre de la thèse se concentre-t-il sur l'étude du transcriptome des tiges d'*Hydrangea macrophylla* soumis à la stimulation mécanique avec un focus particulier sur les régulations hormonales engendrées. À ce jour, nos travaux représentent la première étude à grande échelle combinant l'analyse du transcriptome et du métabolome hormonal, englobant les GAs, l'ABA, le JA, le SA, les BRs, l'AUX et les CKs, au sein d'une espèce ornementale soumise à la stimulation mécanique. Ces travaux ont été menés en collaboration avec Sandra Pelletier de l'équipe BIDEFI au sein de l'IRHS (INRAE, Angers), ainsi qu'avec l'équipe d'Ondřej Novák de l'Université Palacký d'Olomouc (République tchèque). Dans cette expérience, les tiges ont été fléchies 12 fois symétriquement en 1 heure puis prélevées 1h, 3h, 24h et 72h après la dernière flexion mécanique.

Les résultats de l'analyse globale du transcriptome de l'hortensia soumis à la stimulation mécanique sont présentés dans une première partie sous la forme d'un article scientifique qui a été soumis en août 2023 dans le journal *Data in Brief* (en cours de relecture). Les résultats se focalisant sur les processus hormonaux couplant les données transcriptomiques et métabolomiques sont présentés dans une seconde partie.

## 2. Décryptage de la réponse transcriptomique de la tige d'*Hydrangea macrophylla* à la stimulation mécanique : assemblage *de novo* et annotation fonctionnelle

L'article intitulé « Unraveling the dataset transcriptomic response of *Hydrangea macrophylla* stem to mechanical stimulation: *de novo* assembly and functional annotation » a été soumis en août 2023 dans le journal *Data in Brief* et est actuellement en cours de relecture.

Dans cette étude, nous avons réalisé l'assemblage *de novo* du transcriptome d'*Hydrangea macrophylla* cv. 'Wudu®' en réponse à 12 flexions symétriques successives appliquée pendant 1 heure sur une seule journée. Ce travail d'analyse a abouti à une annotation fonctionnelle couvrant pas moins de 78 398 transcrits. Une des découvertes majeures de cette étude réside dans la dynamique temporelle des réponses transcriptionnelles de l'hortensia face au stress mécanique. Les résultats ont montré que la régulation des gènes démarrait au moins dès 1 heure après la dernière flexion mécanique et persistait au moins jusqu'à 72 heures. Cette observation met en évidence la rapidité de mise en place des réponses au stress mécanique, ainsi que leur persistance dans le temps, même en l'absence de nouvelles flexions. Parmi les moments temporels examinés, les premières heures, soit 1 heure et 3 heures après la dernière des 12 flexions mécaniques, ont montré la plus grande proportion de gènes différentiellement exprimés (DEGs). Ces gènes englobent une variété de facteurs de transcription, soulignant l'importance des mécanismes de régulation génique dans la réponse de l'hortensia au stress mécanique. De plus, d'autres DEGs sont impliqués dans des processus clés tels que la transduction du signal de stress, la phosphorylation des protéines et des processus métaboliques liés aux lipides. Ces découvertes offrent un aperçu de la complexité des réponses de l'hortensia au stress mécanique, mettant en lumière certains des mécanismes moléculaires qui orchestrent cette réponse.

**Unraveling the dataset transcriptomic response of *Hydrangea macrophylla* stem to mechanical stimulation: *de novo* assembly and functional annotation**

**Béra Ley-Ngardigal<sup>1,2</sup>, Sandra Pelletier<sup>1</sup>, Vincent Guérin<sup>1</sup>, Lydie Huché-Théliér<sup>1</sup>, Nathalie Brouard<sup>1</sup>, Hanaé Roman<sup>2</sup>, Nathalie Leduc<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup> Univ Angers, Institut Agro, INRAE, IRHS, SFR QUASAV, F-49000 Angers, France

<sup>2</sup> Hortensia France, La Bodinière, 49460 Soucelles, Rives-du-Loir-en-Anjou

**Corresponding author's email address**

nathalie.leduc@univ-angers.fr

**Abstract**

A crucial attribute of potted ornamental plants is compactness characterized by well branched plants with rather short stems bearing numerous flowers. To gain plant compactness, producers use plant growth regulators (PGRs), in particular growth retardants during culture. However, due to their negative environmental impacts, growth retardants are progressively withdrawn from the market. As a response, eco-friendly alternative methods to chemicals need to be developed. One method consists in mimicking mechanical stimulation (MS) imposed by wind on plants which causes reduction in stem elongation, an increase in stem diameter and an increase in branching, all contributing to plant compactness. So far, few plant species were studied under MS and little is known on molecular response mechanisms to MS. This first transcriptomic data after MS in *Hydrangea macrophylla* will contribute unravelling how plants respond to mechanical stimuli. RNAseq data were obtained from total mRNA of stems collected 15 min before MS and 1 h, 3 h, 24 h and 72 h after MS treatment. RNA from non-MS treated plants were used as control. MS treatment consisted in 12 consecutive bendings (i.e. 6 forth and 6 back) applied at 9 a.m. during 1 h and for a single day. From RNAseq data a *de novo* assembly of the transcriptome was produced and 78,398 transcripts functionally annotated. These transcriptomic data also contribute to a better knowledge of how outdoor crop respond to the increasing frequency of strong harmful winds under climate change.

**Keywords**

Transcriptional analysis; RNA sequencing; alternative to PGR; ornamental species; plant compactness; mechanical stress; stem bending; bi-lateral stem flexures

## SPECIFICATIONS TABLE

<b>Subject</b>	Agricultural and Biological Sciences
<b>Specific subject area</b>	Omics: Transcriptomics Plant Science: Plant Physiology
<b>Data format</b>	Analyzed RNA-seq data files (DEGs lists per comparison)
<b>Type of data</b>	Tables Figures
<b>Data collection</b>	Mechanical stimulation (MS) of <i>Hydrangea macrophylla</i> stems consisted in 12 consecutive bendings applied at 9 a.m. during 1 h and for a single day. Stem samples were collected 15 min before MS and 1 h, 3 h, 24 h and 72 h after MS. Non-MS plants were used as control and collected at same time points. Total RNA sequencing was performed by Novogene using an Illumina NovaSeq 6000 platform. Transcriptome assembly was performed using Trinity v2.6.6, CORSET v4.6 and EvidentialGene pipeline. A quantitative assessment of completeness in terms of the expected gene content of the transcriptome was evaluated using BUSCO v3.0.2. Gene functional annotation was performed using 8 databases: NCBI non-redundant protein/nucleotide sequences, PFAM, PROSITE, UniProtKB/Swiss-Prot, KOG/COG, KEGG and GO.
<b>Data source location</b>	Institution: Growth chambers from the Institut de Recherche en Horticulture et Semences, INRAE City: Beaucouzé 49020 Country: France GPS coordinates: 47°28'37.7"N 0°36'42.1"W
<b>Data accessibility</b>	Repository name: NCBI GEO Data identification number: GSE238196 Direct URL to data: <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE238196">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE238196</a>

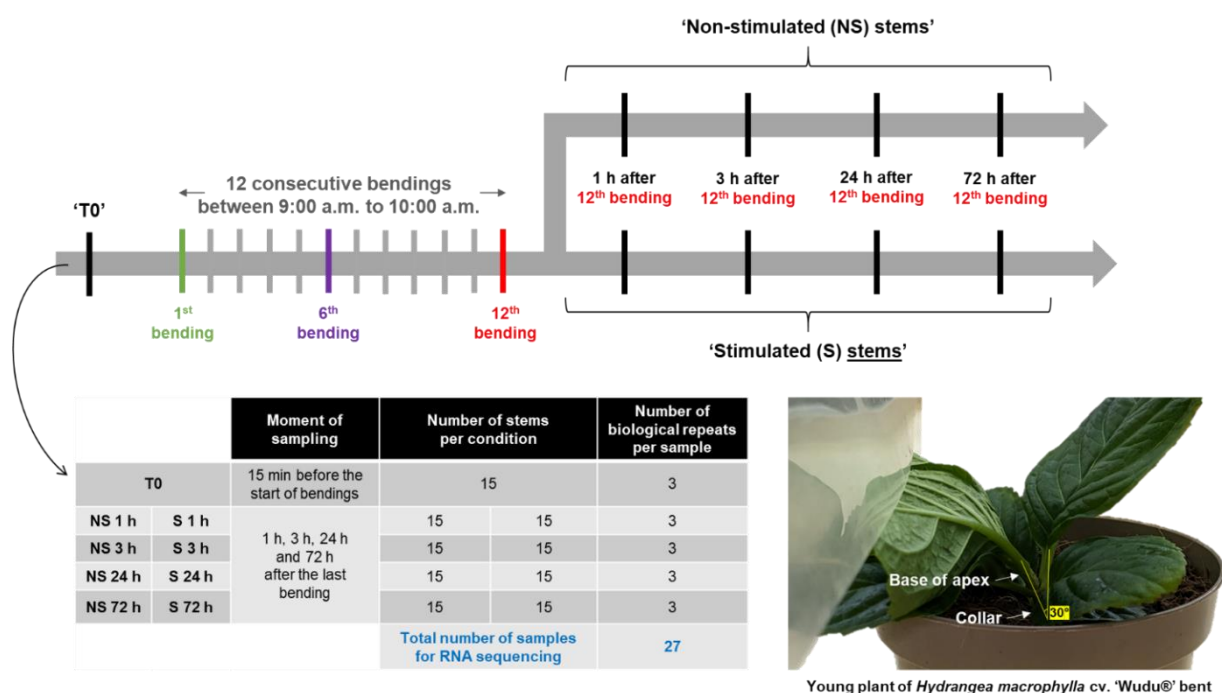
## VALUE OF THE DATA

- The present study displays the first transcriptomic dataset from an ornamental species (*Hydrangea macrophylla* cv. ‘Wudu’®) in response to mechanical stimulation.

- This dataset considerably increases the amount of information available for *Hydrangea* species, and is proving useful as a reference for other plant species subjected to abiotic (e.g. wind, rain, touch) or biotic (e.g. wounding) mechanical stress.
- Further analysis of the transcriptomic dataset described here will also provide useful information for developing mechanical stimulation markers to use in engineering and varietal selection.

## DATA DESCRIPTION

This study presents a de novo transcriptome sequencing and assembly of *Hydrangea macrophylla* cv. ‘Wudu’® plants subjected to mechanical stimulation (MS). Transcriptomic data were obtained from whole stem collected 15 min before MS (T0) and 1 h, 3 h, 24 h and 72 h after 12 consecutive bendings (S group) or without bendings (NS group) (**Figure 1**). Novogene (UK) Company Limited conducted RNA sequencing using the Illumina NovaSeq 6000 platform, resulting in an average of 24M paired-end reads with a length of 150 bp per sample. The short reads produced a total output of 195 Gb (**Table 1**), the assembly of which generated 142,123 transcripts. Finally, a new transcriptome assembly reduced the list of generated transcripts to 78,398. Differentially expressed genes (DEGs) and the top of gene ontology (GO) categories were analyzed by pairwise comparison: S versus NS groups at different points in time, and S versus T0 groups (**Figure 2**).



**Figure 1.** Schematic experimental design.

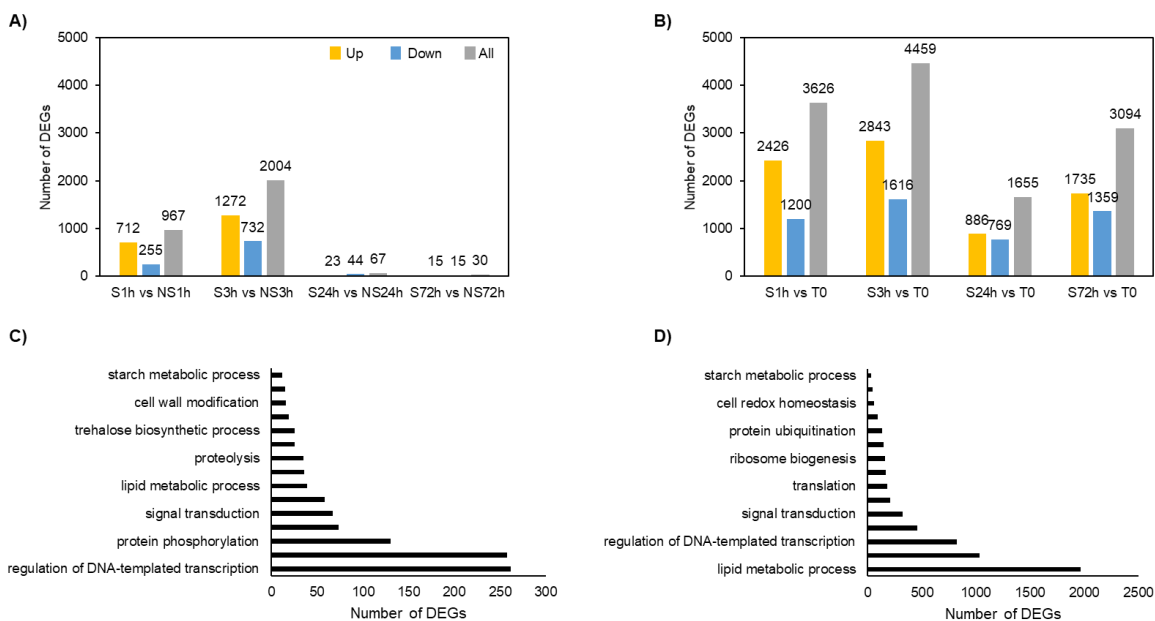
*Chapitre 4 : Étude des réponses à la stimulation mécanique chez Hydrangea macrophylla au travers un profilage transcriptomique et métabolomique*

**Table 1.** Descriptive summary of dataset after quality control.

Samples	Library	Raw reads	Raw bases	Clean reads	Clean bases	Error rate	Q20	Q30	GC %
T0R1	ERRA220002973-1a	20257075	6.08G	20046940	6.01G	0.03	96.73	91.59	45.04
T0R2	ERRA220002974-1a	21223987	6.37G	21005112	6.3G	0.03	96.88	91.95	45.32
T0R3	ERRA220002975-1a	24932564	7.48G	24677218	7.4G	0.03	96.70	91.54	44.70
S1HR1	ERRA220002976-1a	22871797	6.86G	22648948	6.79G	0.03	96.85	91.83	44.75
S1HR2	ERRA220002977-1a	23163991	6.95G	22921145	6.88G	0.03	96.59	91.32	44.85
S1HR3	ERRA220002978-1a	27097344	8.13G	26808375	8.04G	0.03	96.02	90.04	44.54
NS1HR1	ERRA220002979-1a	19653906	5.9G	19453297	5.84G	0.03	95.46	88.91	44.46
NS1HR2	ERRA220002980-1a	21204925	6.36G	20993690	6.3G	0.03	95.78	89.58	44.73
NS1HR3	ERRA220002981-1a	24423428	7.33G	24156831	7.25G	0.03	95.98	89.99	44.57
S3HR1	ERRA220002982-1a	24381328	7.31G	24135552	7.24G	0.03	95.73	89.47	44.67
S3HR2	ERRA220002983-1a	25385251	7.62G	25129181	7.54G	0.03	95.81	89.61	44.60
S3HR3	ERRA220002984-1a	23745142	7.12G	23444458	7.03G	0.03	95.85	89.71	44.44
NS3HR1	ERRA220002985-1a	24624545	7.39G	24391479	7.32G	0.03	95.92	89.86	44.53
NS3HR2	ERRA220002986-1a	20911557	6.27G	20684652	6.21G	0.03	95.77	89.57	44.89
NS3HR3	ERRA220002987-1a	26931716	8.08G	26627121	7.99G	0.03	96.68	91.51	44.38
S24HR1	ERRA220002988-1a	28896246	8.67G	28569379	8.57G	0.03	96.60	91.32	44.65
S24HR2	ERRA220002989-1a	22321251	6.7G	22093999	6.63G	0.03	96.56	91.25	44.38
S24HR3	ERRA220002990-1a	21839641	6.55G	21608623	6.48G	0.03	96.83	91.81	44.46
NS24HR1	ERRA220002991-1a	26959563	8.09G	26648131	7.99G	0.03	96.69	91.54	44.28
NS24HR2	ERRA220002992-1a	28425970	8.53G	28137092	8.44G	0.03	96.71	91.59	44.61
NS24HR3	ERRA220002993-1a	22261608	6.68G	22034695	6.61G	0.03	96.64	91.42	44.52
S72HR1	ERRA220002994-1a	23623775	7.09G	23372707	7.01G	0.03	96.66	91.45	44.12
S72HR2	ERRA220002995-1a	25917809	7.78G	25645385	7.69G	0.03	96.84	91.83	44.49
S72HR3	ERRA220002996-1a	21321198	6.4G	21063403	6.32G	0.03	95.88	89.81	44.17
NS72HR1	ERRA220002997-1a	31481028	9.44G	31141929	9.34G	0.03	96.74	91.64	44.49
NS72HR2	ERRA220002998-1a	28752692	8.63G	28462807	8.54G	0.03	96.82	91.81	44.55
NS72HR3	ERRA220002999-1a	23227177	6.97G	22984286	6.9G	0.03	96.70	91.55	44.84



Chapitre 4 : Étude des réponses à la stimulation mécanique chez *Hydrangea macrophylla* au travers un profilage transcriptomique et métabolomique



**Figure 2.** Differentially expressed genes (DEGs) and GO terms in response to mechanical stimulation (**A, C**) in stimulated (S) plants compared to non-stimulated (NS) or (**B, D**) to plants sampled at T0 before mechanical stimulation.

## EXPERIMENTAL DESIGN, MATERIALS AND METHODS

### *Plant material and growth conditions*

Micro-cuttings of *Hydrangea macrophylla* cv. 'Wudu'® were produced by Hortensia France (Rives-du-Loir-en-Anjou, France) for the purposes of the experiment. After approximately 5 weeks, when the root system of the micro-cuttings had completely filled the micro-plugs (Green Products, Jongkind substrate: 35% Swedish peat/27.5% brown peat/37.5% perlite; v/v/v), the plants were transferred into 10 cm diameter pots containing a mixed substrate of peat and fertilized coconut (75%/25%; v/v) fertilized by 0.70 kg Pg-Mix Haifa 12-14-25, 0.3 kg microelements, 0.70 kg limestone, 1 kg dolomite lime and 5 kg clay per m<sup>3</sup>. At the beginning of the experiment, young plants bore 3 pairs of well-developed leaves from a single unbranched stem (1.9 cm length on average) composed of 3 internodes, the first of which (at the collar) had an average diameter of around 2.7 mm. MS experiments were carried in a growth chamber (T° day/night: 23/21°C; RH: 80%) where plants were sub-irrigated 2 days before the start of the experiment with a nutrient solution (Angibaud-Solveg® ALC 47; EC: 1.8 mS/cm; pH: 6). Plants were grown under a 16 h/day photoperiod from artificial light using light-emitting diodes (Topband) with a photon flux density [380-

780 nm] of  $100 \pm 2 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ . Not mechanically stimulated plants (T0 and NS groups) were grown under same environmental conditions as mechanically stimulated plants (S group).

#### *Mechanical stimulation treatment*

MS device as described by Ley-Ngardigal et al. (2023) is composed of 2 arms allowing 2 simultaneous mechanical treatments, each arm moving back and forth at a speed of 12 m/h over a 2.1 m<sup>2</sup> surface area (2.1 m length x 1.0 m width) [1]. MS consisted in 12 consecutive bendings (i.e. 6 forth and 6 back) applied in the morning between 9:00 and 10:00 a.m. for a single day. The stimulation material was an unfringed 2 mm thick plastic curtain (2.3 kg/m<sup>2</sup>) with the lower part of the curtain placed 0.5 cm below the plant apex. Stems were bent by the curtain at an angle of 30° with reference to verticality for about 30 seconds (**Figure 1**).

#### *Stem sampling*

Samples consisted in the whole stem (from the base of the apex to the collar, without leaves) of the plants and were collected 15 minutes before mechanical stimulation treatment (T0) then, following 12 consecutive bendings, at 1 h, 3 h, 24 h and 72 h after the last bending (stimulated batches (S), **Figure 1**). Four other batches collected on non-stimulated plants were also harvested at the same times (NS 1 h to NS 72 h). A total of 45 plants were collected per batch forming 3 biological repeats of 15 plants.

#### *RNA isolation, library preparation and sequencing*

Approximately 70 mg of stems were crushed in a mortar using liquid nitrogen. RNAs were extracted using the RNA plant extraction kit (Macherey-Nagel). Quality and quantity of RNAs were checked using the Nanodrop One (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA), a 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) and their integrity was analyzed on agarose gel. All samples were of good quality (mean values for OD 260/280 ratio =  $2.2 \pm 0.01$ , OD 260/230 ratio =  $2.3 \pm 0.3$ ; RNA Integrity Number, RIN =  $8.6 \pm 0.8$ ; 28S/18S ratio =  $1.7 \pm 0.1$ ) and were sent to the Novogene (UK) Company Limited (United Kingdom; <https://www.novogene.com>). Libraries of the 27 samples were sequenced using the Illumina NovaSeq 6000 PE150 (Novogene, United Kingdom) and yielding an average 24M of 150 bp reads per sample.

#### RNA seq data analyses

Reads containing adapters, low-quality sequences ( $\leq Q20$ ) and with more than 10% poly-N sequences were removed using a Novogene in-house workflow before *de novo* transcriptome assembly. Quality assessment of the reads is shown in **Table 1**. Transcriptome assembly was performed by Trinity v2.6.6 software, followed by CORSET v4.6 software to remove redundancy from Trinity results [2, 3]. BUSCO v3.0.2 was then used to assess the quality of structural annotation of the transcriptome [4]. Finally, the EvidentialGenes pipeline [5] was executed on the Novogene assembly, reducing the number of transcripts from 142,123 to 78,398. Gene functional annotation was performed using InterProScan-5.60-92.0 [6-7], Diamond v0.8.22 [8-9], NCBI blast v2.9.0, Hmmscan HMMER 3.1 [10], blast2go (b2g4pipe\_v2.5) [11] with 8 databases: NR (NCBI non-redundant protein sequences), NT (NCBI nucleotide sequences), PFAM (Protein family), PROSITE (Protein families and domains), UniProtKB/Swiss-Prot (UniProt Knowledgebase), KOG/COG (euKaryotic Orthologous Groups/Cluster of Orthologous Groups of proteins), KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genome) and GO (Gene Ontology). Gene expression levels were estimated for each sample using RSEM v1.2.28 software [12]. Differential expression analysis was performed using DESeq2 [13] package from AnaDiff v4.3 [14]. Genes with  $\log_2$  Fold Change  $\geq 1$  or  $\leq -1$  and Benjamini-Hochberg adjusted p-values  $\leq 0.05$  were considered as differentially expressed. An overview of the bioinformatic tools and parameters used to analyze the *Hydrangea macrophylla* transcriptome is presented in **Table 2**.

**Table 2.** Bioinformatic tools used to assemble and analyze the *Hydrangea macrophylla* transcriptome.

Analysis	Software	References	Parameters	Databases	Websites
Assembly	Trinity v2.6.6	[2]	minKmerCov=3,min_glue=4	-	<a href="https://github.com/trinityrnaseq/trinityrnaseq/wiki">https://github.com/trinityrnaseq/trinityrnaseq/wiki</a>
	CORSE T v4.6	[3]	-f ture, Default, -m 10	-	<a href="https://github.com/Oshlack/Corset/wiki">https://github.com/Oshlack/Corset/wiki</a>
	BUSCO v3.0.2	[4]	-m tran	-	<a href="http://busco.ezlab.org/">http://busco.ezlab.org/</a>
	EvidentialGene	[5]	tr2aacds2.pl -MINCDS=90	-	<a href="http://eugenenes.org/EvidentialGene/evigene/">http://eugenenes.org/EvidentialGene/evigene/</a>
Gene Functional Annotation	InterPro Scan-5.60-92.0	[6-7]	-	PROSITE, PFAM annotation	<a href="https://prosite.expasy.org/">https://prosite.expasy.org/</a> <a href="http://pfam.xfam.org">http://pfam.xfam.org</a>
	Diamond v0.8.22	[8]	e-value = 1e-5	NR, KOG/COG, UniProtKB/Swiss-Prot	<a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/COG/">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/COG/</a> <a href="http://www.ebi.ac.uk/uniprot/">http://www.ebi.ac.uk/uniprot/</a>
	Diamond v0.8.22, KAAS	[9]	e-value = 1e-5	KEGG annotation	<a href="http://www.genome.jp/kegg/">http://www.genome.jp/kegg/</a>
	NCBI blast v2.9.0	-	e-value = 1e-5	NT annotation	<a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/</a>
	Hmmscan (HMME R 3.1 package)	[10]	e-value = 0.01	PFAM annotation	<a href="http://pfam.xfam.org">http://pfam.xfam.org</a>
	blast2go (b2g4pipe v2.5)	[11]	e-value = 1e-6	GO annotation	<a href="http://www.geneontology.org/">http://www.geneontology.org/</a>
Quantification	RSEM v1.2.28	[12]	-estimate-rspd -mismatch-rate 0.3	-	<a href="https://github.com/deweylab/RSEM">https://github.com/deweylab/RSEM</a>
Differential Expression Analysis	AnaDiff v4.3 (DESeq 2 package)	[13-14]	-	-	<a href="https://zenodo.org/record/6477918">https://zenodo.org/record/6477918</a>

## LIMITATIONS

None.

## ETHICS STATEMENT

This work does not contain any studies with human or animal subjects.

#### **CREDIT AUTHOR STATEMENT**

**Béra Ley-Ngardigal:** Formal Analysis, Investigation, Data Curation, Methodology, Project Administration, Validation, Visualization, Writing – Original Draft Preparation, Writing – Re-view & Editing. **Sandra Pelletier:** Formal Analysis, Software, Data Curation, Methodology, Project Administration, Resources, Supervision, Validation, Writing – Re-view & Editing. **Vincent Guérin:** Conceptualization, Supervision, Validation, Writing – Re-view & Editing. **Lydie Huché-Thélier:** Conceptualization, Supervision, Validation, Writing – Re-view & Editing. **Nathalie Brouard:** Investigation. **Hanaé Roman:** Conceptualization, Funding Acquisition, Project Administration, Resources, Supervision, Validation, Writing – Re-view & Editing. **Nathalie Leduc:** Conceptualization, Funding Acquisition, Project Administration, Resources, Supervision, Validation, Writing – Original Draft Preparation, Writing – Re-view & Editing.

#### **ACKNOWLEDGEMENTS**

This work is produced by the ANR (French National Research Agency) Common Laboratory MATCH associating the UMR1345 IRHS (Research Institute of Horticultural and Seeds) and Hortensia France. Béra Ley-Ngardigal received her PhD grant from Angers University and Hortensia France Company. The authors thank ANAN technical platforms of SFR Quasav and especially Muriel Bahut for her advices in molecular analysis. We are also grateful to Jean-Pierre Renou (retired researcher of UMR1345 IRHS), Nathalie Leblanc-Fournier (UMR547 PIAF, University of Clermont), Stéphane Maury (LBLGC, INRA, University of Orléans, EA1207 USC 1328) and Philippe Morel (retired researcher of UMR1345 IRHS) for fruitful scientific discussions.

#### **DECLARATION OF COMPETING INTERESTS**

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

## REFERENCES

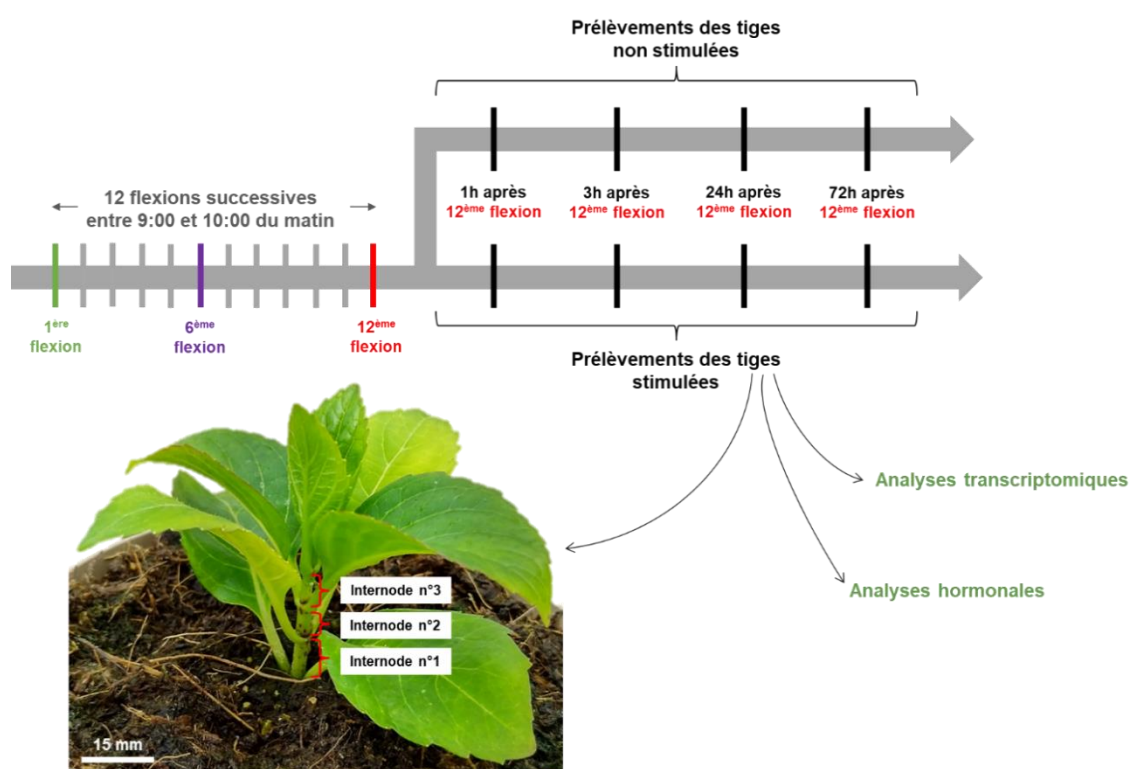
- [1] B. Ley-Ngardigal, V. Guérin, L. Huché-Thélier, N. Brouard, T. Eveleens, H. Roman, N. Leduc, Impact of mechanical stimulation on *Hydrangea macrophylla*, *Acta Hort.* (2023) 275–282.
- [2] M.G. Grabherr, B.J. Haas, M. Yassour, J.Z. Levin, D.A. Thompson, I. Amit, X. Adiconis, L. Fan, R. Raychowdhury, Q. Zeng, Z. Chen, E. Mauceli, N. Hacohen, A. Gnirke, N. Rhind, F. di Palma, B.W. Birren, C. Nusbaum, K. Lindblad-Toh, N. Friedman, A. Regev, Full-length transcriptome assembly from RNA-Seq data without a reference genome, *Nat Biotechnol.* 29 (2011) 644–652.
- [3] N.M. Davidson, A. Oshlack, Corset: enabling differential gene expression analysis for de novo assembled transcriptomes, *Genome Biol.* 15 (2014) 410.
- [4] M. Manni, M.R. Berkeley, M. Seppy, E.M. Zdobnov, BUSCO: Assessing Genomic Data Quality and Beyond, *Current Protocols.* 1 (2021).
- [5] D. Gilbert, Genomes built from mRNA seq not genome DNA. 7th annual arthropod genomics symposium (2013). Notre Dame. <http://arthropods.eugenes.org/EvidentialGene/about/EvigeneRNA2013poster.pdf> and <http://globalhealth.nd.edu/7th-annual-arthropod-genomics-symposium/> and [doi:10.7490/f1000research.1112594.1](https://doi.org/10.7490/f1000research.1112594.1)
- [6] M. Blum, H.-Y. Chang, S. Chuguransky, T. Grego, S. Kandasamy, A. Mitchell, G. Nuka, T. Paysan-Lafosse, M. Qureshi, S. Raj, L. Richardson, G.A. Salazar, L. Williams, P. Bork, A. Bridge, J. Gough, D.H. Haft, I. Letunic, A. Marchler-Bauer, H. Mi, D.A. Natale, M. Necci, C.A. Orengo, A.P. Pandurangan, C. Rivoire, C.J.A. Sigrist, I. Sillitoe, N. Thanki, P.D. Thomas, S.C.E. Tosatto, C.H. Wu, A. Bateman, R.D. Finn, The InterPro protein families and domains database: 20 years on, *Nucleic Acids Research.* 49 (2021) D344–D354.
- [7] P. Jones, D. Binns, H.-Y. Chang, M. Fraser, W. Li, C. McAnulla, H. McWilliam, J. Maslen, A. Mitchell, G. Nuka, S. Pesseat, A.F. Quinn, A. Sangrador-Vegas, M. Scheremetjew, S.-Y. Yong, R. Lopez, S. Hunter, InterProScan 5: genome-scale protein function classification, *Bioinformatics.* 30 (2014) 1236–1240.
- [8] B. Buchfink, C. Xie, D.H. Huson, Fast and sensitive protein alignment using DIAMOND, *Nat Methods.* 12 (2015) 59–60.
- [9] Y. Moriya, M. Itoh, S. Okuda, A.C. Yoshizawa, M. Kanehisa, KAAS: an automatic genome annotation and pathway reconstruction server, *Nucleic Acids Research.* 35 (2007) W182–W185.
- [10] R.D. Finn, J. Tate, J. Mistry, P.C. Coghill, S.J. Sammut, H.-R. Hotz, G. Ceric, K. Forslund, S.R. Eddy, E.L.L. Sonnhammer, A. Bateman, The Pfam protein families database, *Nucleic Acids Research.* 36 (2007) D281–D288.

*Chapitre 4 : Étude des réponses à la stimulation mécanique chez Hydrangea macrophylla  
au travers un profilage transcriptomique et métabolomique*

- [11] S. Gotz, J.M. Garcia-Gomez, J. Terol, T.D. Williams, S.H. Nagaraj, M.J. Nueda, M. Robles, M. Talon, J. Dopazo, A. Conesa, High-throughput functional annotation and data mining with the Blast2GO suite, *Nucleic Acids Research*. 36 (2008) 3420–3435.
- [12] B. Li, C.N. Dewey, RSEM: accurate transcript quantification from RNA-Seq data with or without a reference genome, (2011).
- [13] M.I. Love, W. Huber, S. Anders, Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2, *Genome Biol.* 15 (2014) 550.
- [14] S. Pelletier, AnaDiff: A tool for differential analysis of microarrays and RNAseq (v4.3), (2022), doi: [10.5281/zenodo.6477918](https://doi.org/10.5281/zenodo.6477918).

### 3. Étude de l'effet de 12 flexions symétriques successives sur l'hortensia : approche transcriptomique et métabolomique

Les réponses transcriptomiques et hormonales de l'hortensia à 12 flexions symétriques successives ont été analysées 1h, 3h, 24h et 72h après la dernière flexion mécanique (**Figure 36**). Les résultats intégrant à la fois les données transcriptomiques et métabolomiques sont présentés ci-dessous pour les voies métaboliques associées au JA, SA, ABA, GAs, CKs, AUX et BRs. Le matériel et méthode concernant l'analyse transcriptomique est identique à celui présenté dans la partie précédente et la méthode de dosage de ces 7 phytohormones a été décrite par Šimura et al. (2018). Bien que les SLs et l'éthylène n'ont pu être dosés dans nos échantillons, les données transcriptomiques liées à ces hormones sont tout de même présentées. Les différentes sections de ce chapitre sont organisées sous la forme de résultats et de discussions pour chacune des voies métaboliques examinées.



**Figure 36.** Plan expérimental de l'étude de l'effet de 12 flexions symétriques successives. Quelques jours avant le début de l'expérimentation, les bourgeons axillaires des tiges ont été supprimés. Les échantillons ont été prélevés en récupérant les tiges entières des plants d'hortensia, depuis le collet jusqu'à la base de l'apex, incluant 3 entre-nœuds : un en croissance secondaire et deux en croissance primaire et secondaire.



### 3.1 Effet de stimulation mécanique sur le métabolisme et la signalisation de l'acide jasmonique

L'analyse des teneurs en JA dans les tiges montrent une accumulation de cette hormone 1h après la dernière stimulation mécanique. En parallèle et sur les mêmes échantillons, les données transcriptomiques ont permis d'identifier 9 gènes différentiellement exprimés (DEGs) qui jouent un rôle crucial à la fois dans la voie métabolique et la signalisation du JA (**Figure 37A**). L'un d'eux code pour une lipoxygénase (LOX) dont l'activité est essentielle dans la voie de biosynthèse du JA (Wasternack and Hause, 2013). Les résultats montrent que ce gène présente une surexpression significative par rapport aux plantes contrôles dès 1h après la dernière flexion mécanique. Ce résultat est en accord avec les conclusions de publications antérieures sur d'autres espèces végétales indiquant que les contraintes mécaniques induisaient l'accumulation de JA et stimulaient l'expression des lipoxygénases (Mauch et al., 1997; Lee et al., 2004; Van Moerkercke et al., 2019; Telewski, 2021). Inversement, le gène *LOX5* responsable de la dégradation de l'acide alpha-linoléique (**Figure 37C**), était significativement sous-régulé 3h après la dernière flexion mécanique. L'augmentation des teneurs en JA dans les tiges stimulées pourraient ainsi être expliquée par une stimulation de sa synthèse au travers la surexpression de *LOX* et une répression de sa dégradation par l'inhibition de l'expression de *LOX5* en réponse à la stimulation mécanique.

De façon inattendue, les gènes *HPL1* et *HPL2*, qui sont responsables de la formation d'intermédiaires métaboliques essentiels pour la synthèse du JA tels que le 13(S)-HODE (**Figure 37C**), présentent une sous-expression notable à la fois à 1h et à 3h après la dernière flexion mécanique. Cela est cohérent avec la littérature où il a été admis que la régulation des teneurs en JA impliquait notamment le contrôle de la concentration en 13(S)-HODE par la répression de l'expression des gènes codant pour des hydroperoxydases (Wasternack and Hause, 2013). Par exemple, les travaux de Tong et al. (2012) ont montré que l'expression d'une *HPL* chez *Oryza sativa* entraînait une diminution des teneurs de JA.

De même, la concentration de 12-OPDA, l'un des précurseurs essentiels de la voie du JA (Sparke and Wünsche, 2020), n'a pas présenté d'augmentation significative dans les tiges d'hortensia soumises à la stimulation mécanique (**Figure 37B**). En effet, chez d'autres espèces, on observe une forte augmentation de la concentration de ce métabolite lors de stimulation mécanique, tel le mouvement d'enroulement des vrilles de *Bryonia dioica* sur

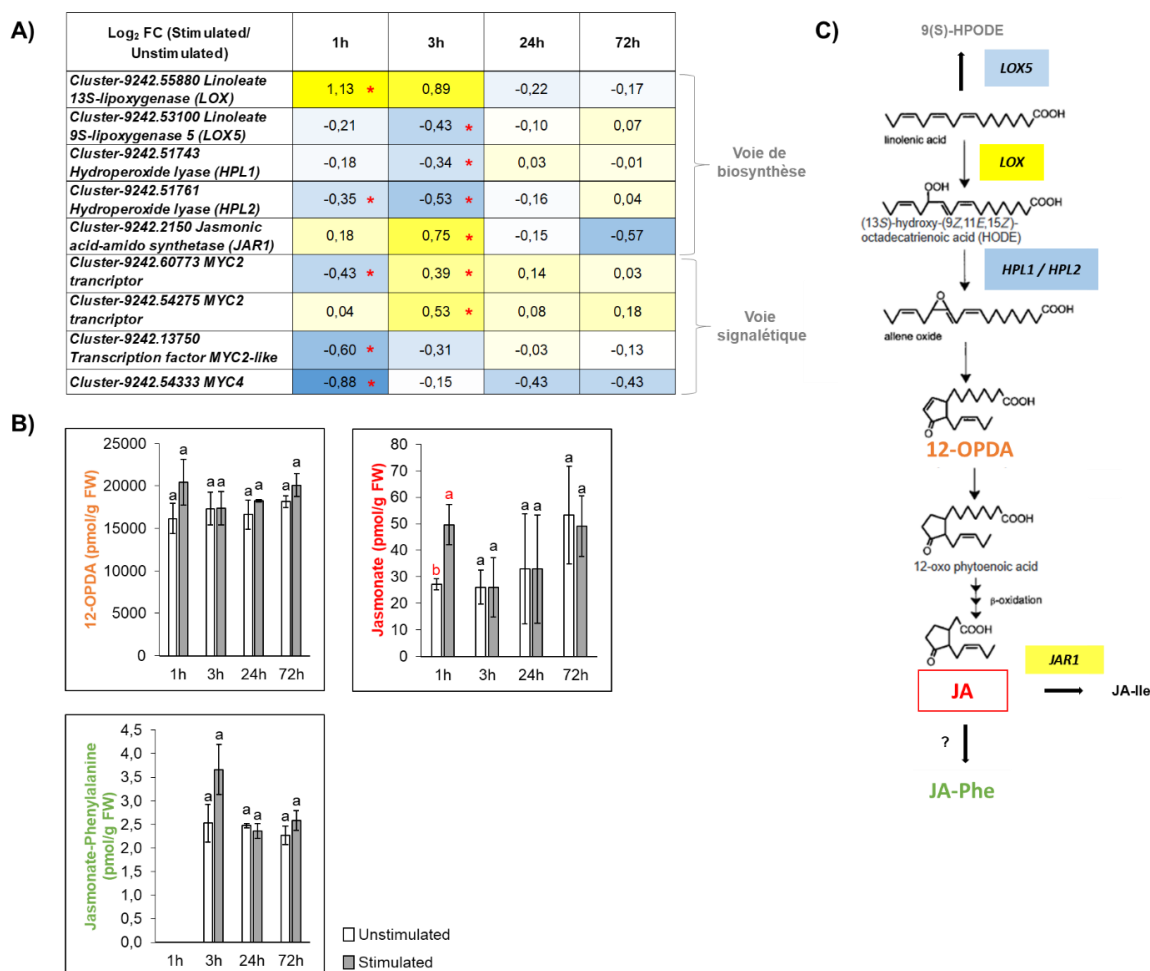
leur support ou après le frottement des entre-nœuds de *Phaseolus vulgaris* (Stelmach et al., 1998). Cependant, chez d'autres espèces telles qu'*Arabidopsis thaliana*, il a également été observé que la stimulation mécanique par la pulvérisation d'eau sur les feuilles n'induisait pas l'accumulation du 12-OPDA (Van Moerkercke et al., 2019). L'absence d'augmentation de la teneur en 12-OPDA chez l'hortensia stimulé est peut-être due au rôle de signal que joue cette molécule indépendamment de la synthèse de JA. Le 12-OPDA, déclenche en effet parfois des réponses spécifiques qui peuvent être plus efficaces que celles provoquées par le JA (Wasternack and Hause, 2013; Sohn et al., 2022). En outre, les travaux de Koo and Howe (2009) ont montré que la présence de JA, JA-Ile (JA-Isoleucine) et une forte expression de *JAR1* entraînaient une forte diminution des niveaux de 12-OPDA. Dans notre étude, le gène *JAR1*, qui est responsable de la synthèse de JA-Ile, est surexprimé dans les tiges stimulées prélevées 3h après la dernière flexion mécanique (**Figure 37A**).

Le JA-Ile est l'une des molécules signal les plus abondamment synthétisées en réponse à divers types de stress (Ali and Baek, 2020; Sparke and Wünsche, 2020). Malgré notre incapacité à mesurer directement les niveaux de JA-Ile dans nos échantillons en raison de leur faible concentration, non détectable par les appareils de chromatographie, nos résultats suggèrent la présence de cette forme conjuguée du JA dans les tiges d'hortensia fléchies, compte tenu de la surexpression du gène de synthèse *JAR1* (**Figure 37A**). Quant à l'autre forme conjuguée de jasmonate, le JA-Phe, nos résultats n'ont pas révélé d'effet significatif du traitement mécanique sur sa concentration dans les tiges stimulées (**Figure 37B**). Jusqu'à présent, les gènes responsables de sa synthèse restent inconnus (Macioszek et al., 2023), ce qui complexifie l'étude de la synthèse de composé.

Pour finir, 4 gènes codant les facteurs de transcription (FTs) *MYC2*, *MYC2-like* et *MYC4* ont présenté une sous-régulation significative 1h après la dernière flexion mécanique, suivie d'une surexpression consécutive à 3h pour deux des transcrits codant pour *MYC2*. Les FTs de type *MYC* sont d'importants régulateurs des gènes de réponses induites par le JA (Wasternack and Hause, 2013). Une étude transcriptomique réalisée chez *Arabidopsis thaliana* a révélé que plusieurs FTs *MYC2/3/4* étaient activés dès 30 minutes après la pulvérisation d'eau sur les feuilles (Van Moerkercke et al., 2019). Les auteurs ont également démontré que l'augmentation des niveaux de JA et de JA-Ile était positivement régulée par l'expression de ces FTs. La surexpression de ces FTs pourrait donc aussi avoir contribué à l'augmentation de ces 2 formes de JA dans les tiges d'hortensia après stimulation

Chapitre 4 : Étude des réponses à la stimulation mécanique chez *Hydrangea macrophylla* au travers un profilage transcriptomique et métabolomique

mécanique. Il serait intéressant de connaître les cibles de ces FTs, en particulier de connaître leur interaction potentielle avec les gènes de synthèse *LOX*, *JAR1* et de dégradation *LOX5* dont nous avons observé la régulation par la stimulation mécanique.



**Figure 37.** Effet de 12 flexions symétriques successives sur la voie métabolique et signalétique de l'acide jasmonique (JA) chez de jeunes plants d'*Hydrangea macrophylla* cv. 'Wudu®'. **(A)** Log<sub>2</sub> Fold Change (FC) d'expressions géniques au sein de tiges stimulées par rapport à des tiges non stimulées. Les différences significatives sont indiquées par un astérisque rouge ( $P_{adj} < 0,05$ ). Le dégradé de couleur du bleu au jaune indique une augmentation de l'expression du gène d'une valeur négative à une valeur positive. **(B)** Teneurs des composés impliqués dans la voie métabolique du JA. Les lettres indiquent les différences significatives entre les conditions à un temps donné après le test non-paramétrique de Wilcoxon–Mann–Whitney ( $P \leq 0,05$ ). **(C)** Schéma synthétique représentant les métabolites et les transcrits identifiés. **Abréviation** : FW : Fresh Weight.

### 3.2 Effet de stimulation mécanique sur la signalisation de l'acide salicylique

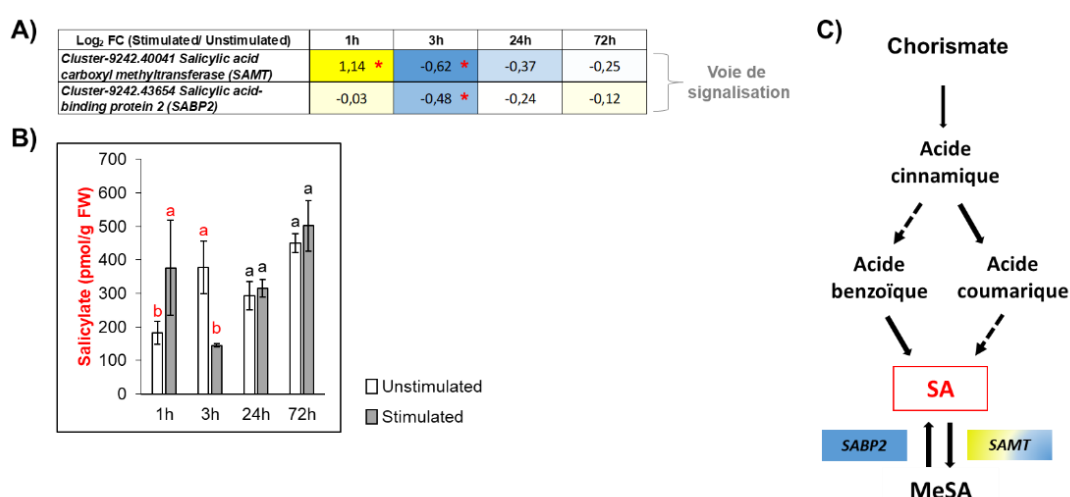
Dans la littérature, une méta-analyse réalisée à partir des données transcriptomiques d'*Arabidopsis thaliana* dont les feuilles ont été soumises à différentes contraintes mécaniques, telles que le brossage (Xu et al., 2019), la pulvérisation d'eau (Van Moecker et al., 2019) ou des flexions symétriques récurrentes (Lee et al., 2004), a révélé que la plupart des gènes impliqués dans la voie hormonale du SA étaient sous-régulés par la contrainte mécanique (Brenya et al., 2022).

Chez l'hortensia, une réponse opposée est observée. En effet, les dosages hormonaux montrent une forte accumulation de SA 1h après la dernière stimulation mécanique. Ce niveau revient et reste ensuite à son niveau basal après 3h (**Figure 38B**). De plus, les données transcriptomiques ont révélé 2 DEGs impliqués dans la voie de signalisation du SA (**Figure 38A**). Le premier de ces gènes, codant pour une SA carboxyl methyltransferase (SAMT), est sur-exprimé 1h après la dernière flexion mécanique, suivie d'une sous-expression à 3h. Ce gène est impliqué dans la méthylation du SA pour produire du méthyl salicylate (MeSA), une molécule signal essentielle pour le déclenchement des réponses induites par le SA (Li et al., 2019b). Le MeSA agit comme une molécule volatile qui joue le rôle d'un signal systémique pour induire la résistance systémique acquise (SAR) chez les plantes en réponse à une infection provoquée par un agent pathogène (Boba et al., 2017). Ce résultat suggère que l'accumulation de SA 1h après la dernière stimulation mécanique engendre aussitôt une forte signalisation SA. Des travaux de recherche ont montré qu'une fois le signal émis, le MeSA était de nouveau converti en SA grâce à l'activité estérase d'une protéine de liaison au SA (SABP2). Dans notre étude, le gène *SABP2* a montré une sous-régulation significative 3h après la dernière flexion mécanique suggérant que la voie signalétique induit par le MeSA pourrait encore être active.

Cette modulation d'expressions géniques que nous observons chez l'hortensia pourrait être liée à la surexpression des FTs *MYC2* décrite précédemment et à leur interaction avec des FTs *NAC*. En effet, les travaux de Zheng et al. (2012) ont démontré que l'activation des FTs *NAC* par les FTs *MYC2* stimulait l'expression de la SA carboxyl methyltransferase (SAMT), en réponse à l'infection par un agent phytopathogène. Par ailleurs, dans l'étude transcriptomique menée par Pomiès et al. (2017), les auteurs ont mis en évidence qu'une proportion significative des FTs surexprimés en réponse à 1 ou 2 flexions successives chez

le peuplier était de type NAC. Cela a aussi été montré chez *Arabidopsis thaliana* en réponse à la pulvérisation d'eau sur les plantules ou le touché de celles-ci (Van Aken et al., 2016). Notre analyse transcriptomique a montré que 7 des 9 FTs de type NAC étaient également surexprimés 1h et 3h après la dernière flexion mécanique (**Figure 39**). Pris ensemble, ces résultats suggèrent une possible interaction entre les FTs *NAC* et *MYC* régulant l'activité de la SAMT.

Les travaux de Brenya et al. (2022) ont suggéré que l'interaction antagoniste entre le JA et le SA pourrait jouer un rôle clé dans la médiation de la signalisation hormonale lors de l'acclimatation des plantes soumises aux contraintes mécaniques. Nos résultats montrent une activation de ces 2 voies de signalisation hormonales en réponse à la stimulation mécanique chez l'hortensia. Des études ultérieures diront comment elles interagissent chez l'hortensia.



**Figure 38.** Effet de 12 flexions symétriques successives sur la voie de signalisation de l'acide salicylique (SA) chez de jeunes plants d'*Hydrangea macrophylla* cv. 'Wudu®'. **(A)** Log<sub>2</sub> Fold Change (FC) d'expressions géniques au sein de tiges stimulées par rapport à des tiges non stimulées. Les différences significatives sont indiquées par un astérisque rouge ( $P_{adj} < 0,05$ ). Le dégradé de couleur du bleu au jaune indique une augmentation de l'expression du gène d'une valeur négative à une valeur positive. **(B)** Dosage du salicylate. Les lettres indiquent les différences significatives entre les conditions à un temps donné après le test non-paramétrique de Wilcoxon–Mann–Whitney ( $P \leq 0,05$ ). **(C)** Schéma synthétique représentant les métabolites et les transcrits identifiés. Les flèches en pointillés représentent des raccourcis de la voie de synthèse menant aux métabolites. **Abréviation** : FW : Fresh Weight.

Chapitre 4 : Étude des réponses à la stimulation mécanique chez *Hydrangea macrophylla* au travers un profilage transcriptomique et métabolomique

Log <sub>2</sub> FC (Stimulated/ Unstimulated)	1h	3h	24h	72h
<i>Cluster-9242.32887 NAC domain-containing protein</i>	-0,61 *	-0,67 *	-0,40	-0,04
<i>Cluster-9242.51567 NAC domain-containing protein</i>	0,51 *	0,01	-0,10	-0,14
<i>Cluster-9242.52287 NAC domain-containing protein 90-like</i>	1,34 *	2,06 *	1,53	1,31
<i>Cluster-9242.91325 NAC domain-containing protein 72-like</i>	0,63 *	1,74 *	-0,13	0,26
<i>Cluster-9242.20885 NAC domain-containing protein 104-like</i>	-0,81 *	-0,81 *	0,01	-0,27
<i>Cluster-9242.32254 NAC domain-containing protein 2-like</i>	1,36 *	1,36 *	0,18	0,35
<i>Cluster-9242.39395 NAC domain-containing protein</i>	0,44 *	0,44 *	-0,03	0,00
<i>Cluster-9242.42644 NAC transcription factor</i>	1,12 *	1,12 *	-0,27	0,24
<i>Cluster-9242.90221 NAC domain-containing protein 71-like</i>	0,69 *	0,69 *	0,46	0,20

**Figure 39.** Effet de 12 flexions symétriques successives sur l'expression des facteurs de transcription de type NAC chez de jeunes plants d'*Hydrangea macrophylla* cv. 'Wudu®'. Log<sub>2</sub> Fold Change (FC) d'expressions géniques au sein de tiges stimulées par rapport à des tiges non stimulées. Les différences significatives sont indiquées par un astérisque rouge (Padj < 0,05). Le dégradé de couleur du bleu au jaune indique une augmentation de l'expression du gène d'une valeur négative à une valeur positive.

### 3.3 Effet de la stimulation mécanique sur le métabolisme et la signalisation de l'acide abscissique

Selon la littérature, l'impact de la stimulation mécanique sur le métabolisme de l'ABA peut considérablement varier en fonction de l'espèce végétale. En effet, plusieurs auteurs ont rapporté une forte accumulation d'ABA en réponse à des flexions symétriques récurrentes chez *Phaseolus vulgaris* et *Oryza sativa* (Jeong and Ota, 1980; Erner and Jaffe, 1982; Sparke and Wünsche, 2020) alors que chez *Arabidopsis thaliana*, la pulvérisation d'eau sur les feuilles entraîne une diminution drastique des niveaux d'ABA, ainsi qu'une sous-expression du gène *NCED4* (Van Moerkercke et al., 2019). De même chez *Chrysanthemum*, des vibrations sonores sur des explants réduisent les teneurs en ABA (Bochu et al., 2004).

Chez l'hortensia, la stimulation mécanique n'a provoqué aucune variation des teneurs en ABA. Pourtant, les données transcriptomiques ont permis d'identifier 11 DEGs jouant un rôle à la fois dans la voie métabolique et la signalisation de l'ABA (**Figure 40A**). Un gène clé impliqué dans la synthèse de l'ABA, *NCED3-1*, a montré une sous-régulation significative 1h et 3h après la dernière flexion mécanique qui aurait pu conduire à une diminution des teneurs en ABA dans les tiges stimulées. Toutefois, la moindre accumulation du produit de dégradation de l'ABA, le 7-hydroxy-ABA (7-OH-ABA), observée dans les tiges stimulées a pu compenser cette moindre synthèse et permettre de conserver une teneur constante en ABA dans les tiges stimulées (Ali et al., 2020).

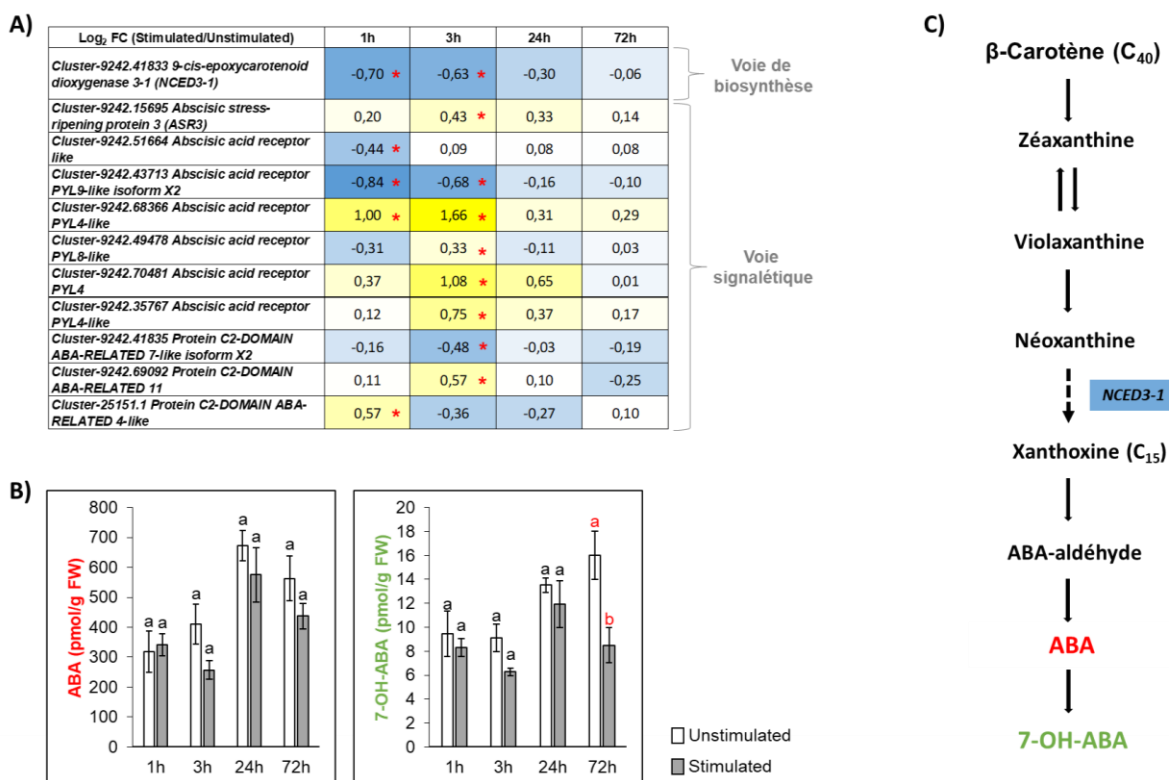
Concernant la voie signalétique de l'ABA, le FT correspondant à la protéine ASR3 (ABA stress-ripening protein 3) a montré une surexpression significative 1h après la dernière flexion mécanique (**Figure 40A**). Les protéines ASR jouent un rôle essentiel lors de la mise en place des réponses des plantes exposées à des stress salin et hydrique, ainsi qu'à la sécheresse (Carrari et al., 2004; Golan et al., 2014; Srivastava et al., 2022). De manière intéressante, les travaux menés par Jia et al. (2016) ont révélé que la surexpression des gènes *ASR* pendant la maturation des fraises était liée non seulement à la teneur en ABA et en sucres, mais également à la teneur en JA. De plus, ces travaux ont montré que l'expression des gènes *ASR* régulaient l'expression de nombreux gènes impliqués dans le relâchement et la synthèse pariétale, tels que les *pectine methylesterases* (*PME*), les *polygalacturonases* (*PLG*), les *expansines* (*EXP*), les *xyloglucanes endotransglycosylases/hydrolases* (*XET/XTH*), les *pectinesterases* (*PE*) et les *cellulases*

(*Cel*). Il est possible que les réponses à la stimulation mécanique, telles que la réduction de l'allongement des tiges et l'augmentation de leur diamètre, ainsi que les caractéristiques moléculaires, notamment la surrégulation des gènes impliqués dans la modification de la paroi cellulaire, que nous avons précédemment observées chez l'hortensia (cf. **Chapitre 1**, **Chapitre 2**), soient influencées, en partie, par l'activité du gène *ASR3*. De plus, ces résultats laissent entrevoir une possible interaction entre les voies hormonales du JA et de l'ABA, où les teneurs en JA moduleraient l'expression de l'*ASR3* chez l'hortensia en réponse à la contrainte mécanique (Jia et al., 2016).

Parmi les 6 récepteurs d'ABA identifiés dans les résultats transcriptomiques, 4 d'entre eux ont montré une surexpression significative 3h après la dernière flexion mécanique. De plus, le gène codant un récepteur de type PYL4-like (Cluster-9242.68366) a aussi été retrouvé surexprimé 1h après la dernière flexion mécanique. En revanche, pour 2 récepteurs, PYL9-like (Cluster-9242.43713) et ABA receptor-like (Cluster-9242.51664), les résultats ont montré qu'ils étaient sous-régulés 1h et 3h après la dernière flexion mécanique. Ces résultats témoignent en premier lieu d'une régulation complexe des gènes codant les récepteurs de l'ABA. Notre étude a également permis d'identifier le gène codant pour les protéines CAR (Proteins C2-Domain ABA-Related), qui agissent en tant que régulateurs positifs de la sensibilité à l'ABA et qui interagissent avec les récepteurs PYL (Rodriguez et al., 2014). Ces protéines ont la capacité de se lier aux ions  $Ca^{2+}$  et contribuent ainsi à la transduction du signal intracellulaire. Notamment, deux des trois protéines CAR ont montré une surexpression significative 1h et 3h après la dernière flexion mécanique. Nos résultats semblent confirmer l'induction de la voie de signalisation de l'ABA chez l'hortensia en réponse à la stimulation mécanique, et mettent également en lumière pour la 1<sup>ère</sup> fois le possible rôle du facteur de transcription *ASR* dans les réponses thigmomorphogénétiques des plantes.



Chapitre 4 : Étude des réponses à la stimulation mécanique chez *Hydrangea macrophylla* au travers un profilage transcriptomique et métabolomique



**Figure 40.** Effet de 12 flexions symétriques successives sur la voie métabolique et signalétique de l'acide abscissique (ABA) chez de jeunes plants d'*Hydrangea macrophylla* cv. 'Wudu®'. (A) Log<sub>2</sub> Fold Change (FC) d'expressions géniques au sein de tiges stimulées par rapport à des tiges non stimulées. Les différences significatives sont indiquées par un astérisque rouge ( $P_{adj} < 0,05$ ). Le dégradé de couleur du bleu au jaune indique une augmentation de l'expression du gène d'une valeur négative à une valeur positive. (B) Dosage de l'ABA et de son produit de dégradation. Les lettres indiquent les différences significatives entre les conditions à un temps donné après le test non-paramétrique de Wilcoxon–Mann–Whitney ( $P \leq 0,05$ ). (C) Schéma synthétique représentant les métabolites et les transcrits identifiés. Les flèches en pointillés représentent des raccourcis de la voie de synthèse menant aux métabolites. **Abréviation** : FW : Fresh Weight.

### 3.4 Effet de la stimulation mécanique sur le métabolisme et la signalisation des gibbérellines

De manière surprenante, la stimulation mécanique des tiges d'hortensia a entraîné une augmentation de la teneur en GA<sub>3</sub> la première heure après la fin de la dernière stimulation, ainsi qu'une augmentation significative du dernier précurseur de cette GA active, la GA<sub>19</sub> 24h et 72h après la fin des stimulation (**Figure 41**). Cela est surprenant car la littérature avait jusqu'à présent établi que la stimulation mécanique déclenchait la dégradation des GAs (Sparke and Wünsche, 2020; Telewski, 2021; Brenya et al., 2022). Pourtant, notre analyse transcriptomique montre bien une surexpression du gène de synthèse *GA20ox1-like* 3h après la dernière flexion mécanique corroborant les dosages de la forme intermédiaire GA<sub>19</sub> (**Figure 41B**).

Une activation du gène de dégradation *GA2ox8* a toutefois aussi été observée 3h après la dernière flexion mécanique. Ce résultat va dans le sens d'autres études utilisant d'autres stimuli mécaniques (flexions, le toucher ou même la pulvérisation d'eau), et rapportant l'induction des gènes de dégradation *GA2ox* suivie de la réduction des niveaux de GAs dans les organes stimulés (Suge, 1978; Takahashi and Suge, 1980; Beyl and Mitchell, 1983; Lange and Lange, 2015; Van Moerkercke et al., 2019). Dans le cas de l'hortensia, cette surexpression de *GA2ox8* n'a pas entraîné de diminution des teneurs en GA<sub>53</sub>. Ces premières constatations suggèrent que la stimulation mécanique n'a pas d'effet significatif sur la dégradation des GAs chez l'hortensia.

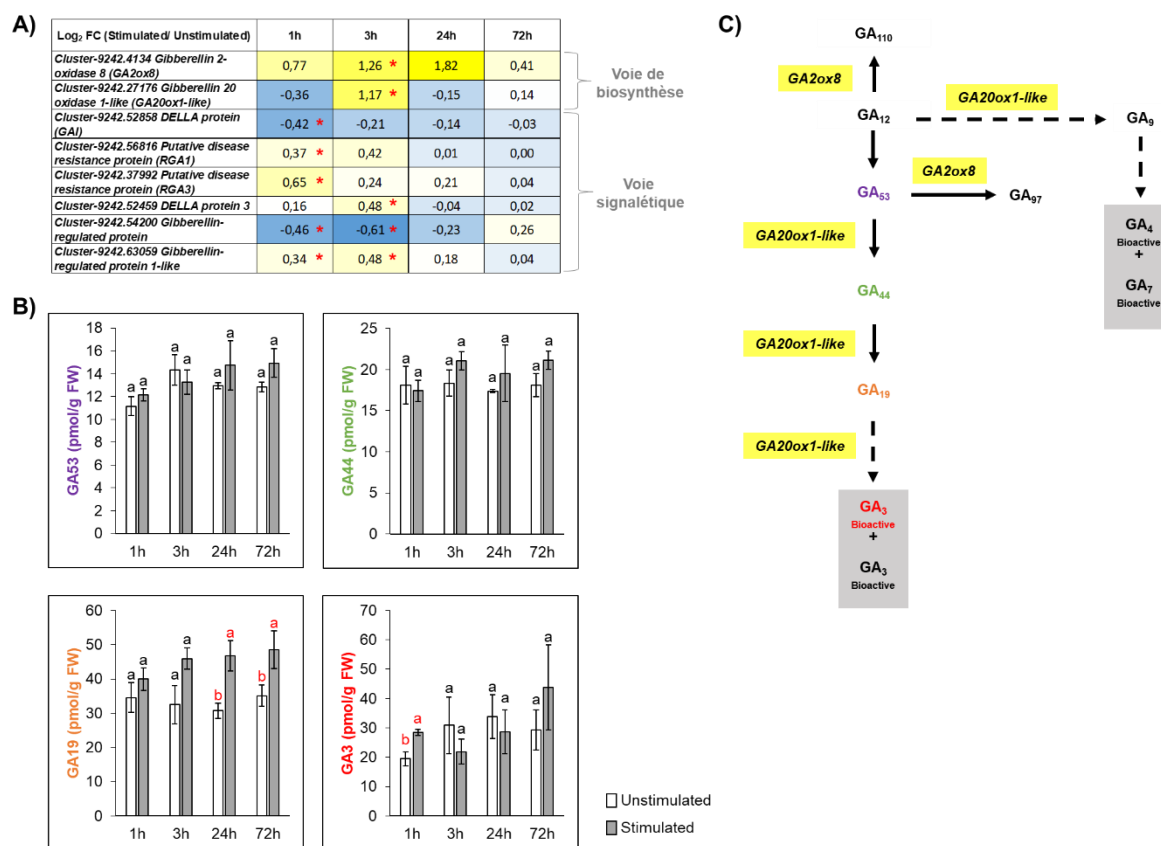
Nos données transcriptomiques ont également indiqué une activation de la voie de signalisation des GAs à travers la surexpression significative de 4 des 6 gènes responsables de la synthèse des protéines DELLA et des protéines GASA (*Gibberellin-regulated protein*) 1h et 3h après la dernière flexion mécanique. Nos résultats sont en accord avec de nombreuses études qui ont montré l'implication de la voie signalétique des GAs dans les réponses thigmomorphogénétiques (Lange and Lange, 2015; Brenya et al., 2022). Nos résultats ont révélé la présence des protéines GASA appartenant à la famille des Snakin/GASA. L'étude transcriptomique menée chez le peuplier en réponse à 1 ou 2 flexions successives a également montré la surexpression et la sous-expression de 4 gènes GASA (Pomiès et al., 2017). Ces gènes GASA codent pour de petits peptides dont la fonction et le mode d'action ne sont pas encore entièrement compris (Nahirñak et al., 2012; Bouteraa et al., 2023). Cependant, certaines études ont suggéré leur implication dans la transmission

des signaux hormonaux, la régulation de la croissance et du développement des plantes, ainsi que dans les réponses des plantes soumises aux stress biotiques et abiotiques (Su et al., 2020; Bouteraa et al., 2023). En particulier les gènes *GASA* seraient impliqués dans les processus cellulaires, tels que l'expansion et les divisions cellulaires spécifiquement dans les jeunes tissus et les organes en croissance active (Bouteraa et al., 2023).

Les travaux de Zhang and Wang (2008) ont également montré que certains gènes *GASA* pouvaient être induits en réponse à l'ABA sans être affectés par les GAs, tandis que d'autres gènes *GASA* pouvaient être à la fois inhibés par l'ABA et les GAs. De plus, chez les mutants de tomate déficients en GAs, le gène *GASA* (*GAST1*) est régulé positivement par un traitement GA<sub>3</sub> (Shi et al., 1992). Par conséquent, la surexpression significative du gène *GASA* (Cluster-9242.63059) observée 1h après la dernière flexion des tiges d'hortensia pourrait être liée à la concentration significativement plus élevée en GA<sub>3</sub> dans les tiges stimulées prélevées 1h après la contrainte mécanique (**Figure 41B**). À l'inverse, la sous-expression de l'autre gène *GASA* (Cluster-9242.54200) pourrait être liée à la répression de la voie de biosynthèse de l'ABA observée dans les tiges stimulées (**Figure 40**).

Ces résultats mettent en évidence la complexité de la régulation de la voie de signalisation des GAs en réponse à la contrainte mécanique, et suggèrent la possible implication des protéines *GASA* dans les réponses thigmomorphogénétiques de l'hortensia.

Chapitre 4 : Étude des réponses à la stimulation mécanique chez *Hydrangea macrophylla* au travers un profilage transcriptomique et métabolomique



**Figure 41.** Effet de 12 flexions symétriques successives sur la voie métabolique et signalétique de l'acide gibbérélique (GA) chez de jeunes plants d'*Hydrangea macrophylla* cv. 'Wudu®'. (A) Log<sub>2</sub> Fold Change (FC) d'expressions géniques au sein de tiges stimulées par rapport à des tiges non stimulées. Les différences significatives sont indiquées par un astérisque rouge (Padj < 0,05). Le dégradé de couleur du bleu au jaune indique une augmentation de l'expression du gène d'une valeur négative à une valeur positive. (B) Dosage des composés impliqués dans la voie métabolique des GAs. Les lettres indiquent les différences significatives entre les conditions à un temps donné après le test non-paramétrique de Wilcoxon–Mann–Whitney (P ≤ 0,05). (C) Schéma synthétique représentant les métabolites et les transcrits identifiés. Les GAs bioactives sont représentées dans des encadrés gris. Les flèches en pointillés représentent des raccourcis de la voie de synthèse menant aux métabolites. **Abbréviation** : FW : Fresh Weight.

### 3.5 Effet de la stimulation mécanique sur le métabolisme et la signalisation des cytokinines

L'analyse transcriptomique a permis de révéler 5 DEGs impliqués à la fois dans la voie métabolique et la signalisation des CKs (**Figure 42A**). Deux de ces gènes, *CKX6* et *CKX-like*, codant pour des cytokinines hydroxylases, ont montré respectivement une augmentation et une diminution de leur expression 3h après la dernière flexion mécanique. Ces gènes sont responsables de l'inactivation des CK-B (base) comprenant les formes iP (isopentenyladénine), tZ (trans-zeatine), cZ (cis-zeatine) et DHZ (dihydrozeatine) (Sakakibara, 2006; Kieber and Schaller, 2018). Dans nos échantillons, les formes cZ et DHZ n'ont pas pu être quantifiées en raison de leur concentration très faible, les rendant indétectables par les appareils de chromatographie. Néanmoins, les dosages des formes iP et tZ n'ont pas révélé de diminution dans les tiges d'hortensia suite aux 12 flexions mécaniques (**Figure 42B**). Au contraire, une augmentation significative de la concentration de ces deux formes de CKs a été observée dans les tiges stimulées prélevées 24h après la dernière flexion mécanique. Ces résultats semblent corroborer les dosages des CK-R (ribosides), qui correspondent aux formes iPR, tZR, cZR et DHZR, montrant également une augmentation significative dans les tiges d'hortensia 24h après la dernière flexion mécanique.

Bien que les CKs ne soient pas connues comme étant impliquées dans les réponses thigmomorphogénétiques des plantes, certaines études se sont quand même intéressées à leur rôle dans ces réponses. L'analyse du contenu en CKs dans les feuilles d'*Arabidopsis thaliana* soumises à une stimulation mécanique par la pulvérisation d'eau n'a pas révélé de variations significatives entre les plantes stimulées et celles non stimulées (Van Moerkercke et al., 2019). Cependant, Beyl and Mitchell (1983) ont observé une réduction de la teneur en CKs dans les feuilles d'*Helianthus annuus* soumises à des vibrations, en parallèle d'une augmentation de la concentration de CKs dans les tiges. En résumé, ces recherches convergent pour indiquer que la réponse des CKs aux stimuli mécaniques peut varier en fonction de la nature du stimulus, de l'organe de la plante concerné et de l'espèce végétale étudiée. Chez l'hortensia, il semblerait que les flexions successives de la tige entraînent l'accumulation de certaines formes de CKs.

Notre étude a également mis en évidence la présence du 2-methylthio-cis-zeatin riboside (2MeScZR), une molécule synthétisée via la voie de biosynthèse des CKs dépendante de

l'ARNt (**Figure 42C**) (Frébortová and Frébort, 2021). Les résultats ont montré que le contenu en 2MeScZR était significativement plus élevé dans les tiges stimulées prélevées 72h après la contrainte mécanique que dans celles non stimulées (**Figure 42B**). Jusqu'à présent, peu d'études ont examiné l'effet de cette molécule sur les réponses des plantes aux contraintes environnementales, en grande partie à cause de sa rareté dans les tissus végétaux, ce qui rend sa détection particulièrement délicate (Tarkowski et al., 2010). Néanmoins, une récente étude menée chez *Zanthoxylum bungeanum* a montré une augmentation significative de la concentration en 2MeScZR en réponse à un stress thermique (Tian et al., 2022). Les chercheurs ont suggéré que cette forme de CK pourrait jouer un rôle essentiel dans l'adaptation des plantes aux conditions froides. Ces découvertes laissent entrevoir la possibilité que cette molécule puisse également contribuer à la réponse de l'hortensia à la stimulation mécanique.

Parallèlement, il convient de noter que les teneurs en CKs inactives, notamment des CKs glycosylées en position N7 et N9 (CK-NG), telles que les formes iP7G, iP9G, tZ7G, tZ9G, cZ9G, DHZ9G, n'ont été modifiées par la stimulation mécanique (**Figure 42B**). De même, les résultats du dosage des CKs inactives O-glycosylées (CK-OG), telles que les formes cZROG, tZOG et tZROG, n'ont révélé aucune différence de teneurs entre les plantes stimulées et celles non stimulées. Ces résultats semblent être en contradiction avec l'expression des 2 gènes *ZOG-like* responsables de leur synthèse, et qui était significativement sur-réglée 3h après la dernière flexion mécanique suggérant une augmentation du contenu en CKs glycosylées dans les tiges simulées.

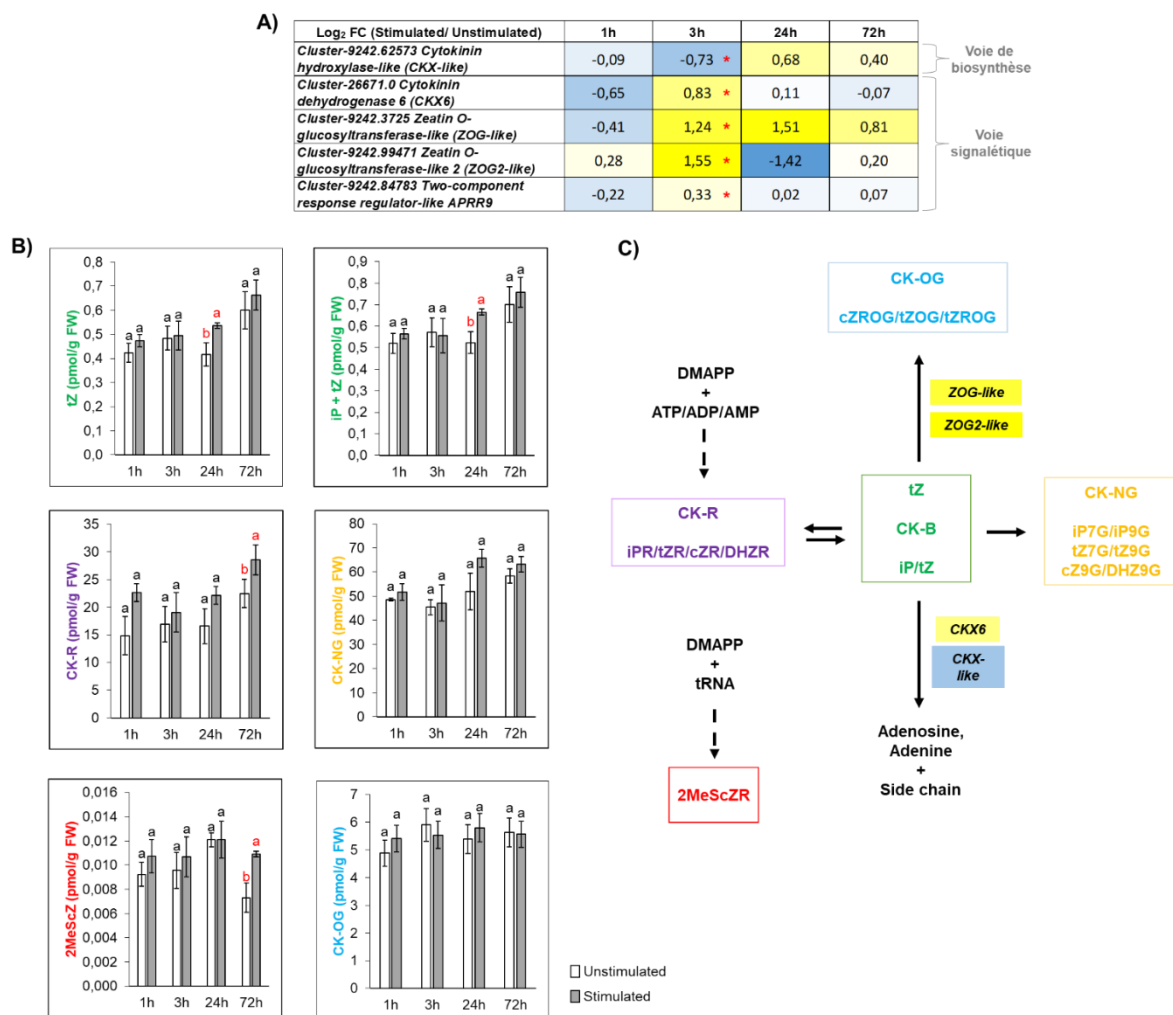
Concernant la voie de signalisation des CKs, les données transcriptomiques ont révélé une surexpression significative du facteur de transcription *APRR9* (*Arabidopsis Pseudo-type Response Regulators 9*), 3h après la dernière flexion mécanique (**Figure 42A**). Les FT de type *A-RR* (*Arabidopsis Response Regulators*) ne comportent pas de domaine de liaison permettant d'interagir avec les gènes de réponse aux CKs, ce qui les orientent davantage vers un rôle de régulateur négatif dans la régulation du signal hormonal des CKs (Ishida et al., 2008; Kieber and Schaller, 2018). Cependant, leur effet peut varier en fonction du contexte et des conditions environnementales. Par exemple, les recherches menées par Lim et al. (2021) ont montré que *CaPRR2* avait un effet négatif sur la tolérance de *Capsicum annuum* au stress osmotique. En revanche, d'autres études ont révélé que *PRR2* jouait un rôle positif dans la régulation de l'immunité chez *Arabidopsis thaliana*, en stimulant la

*Chapitre 4 : Étude des réponses à la stimulation mécanique chez Hydrangea macrophylla au travers un profilage transcriptomique et métabolomique*

biosynthèse de SA et les réponses de signalisation du SA (Cheval et al., 2017). Ces indications suggèrent que la sur-régulation du FT *APRR9* pourrait être liée à l'induction rapide de la voie du SA observée chez l'hortensia après la contrainte mécanique.

Ainsi, nos résultats semblent indiquer que les voies de biosynthèse et de signalisation des CKs sont activées en réponse à la stimulation mécanique chez l'hortensia. Il est important de souligner que la régulation de cette voie ainsi que son rôle spécifique dans les réponses thigmomorphogénétiques demeurent très peu connus et nécessitent des investigations supplémentaires pour une compréhension approfondie.

Chapitre 4 : Étude des réponses à la stimulation mécanique chez *Hydrangea macrophylla* au travers un profilage transcriptomique et métabolomique



**Figure 42.** Effet de 12 flexions symétriques successives sur la voie métabolique et signalétique des cytokinines (CKs) chez de jeunes plants d'*Hydrangea macrophylla* cv. 'Wudu®'. **(A)** Log<sub>2</sub> Fold Change (FC) d'expressions géniques au sein de tiges stimulées par rapport à des tiges non stimulées. Les différences significatives sont indiquées par un astérisque rouge ( $P_{adj} < 0,05$ ). Le dégradé de couleur du bleu au jaune indique une augmentation de l'expression du gène d'une valeur négative à une valeur positive. **(B)** Dosage des composés impliqués dans la voie métabolique des CKs. Les valeurs pour les CK-R/NG/OG correspondent à la somme des différentes formes. Les lettres indiquent les différences significatives entre les conditions à un temps donné après le test non-paramétrique de Wilcoxon–Mann–Whitney ( $P \leq 0,05$ ). **(C)** Schéma synthétique représentant les métabolites et les transcrits identifiés. Les flèches en pointillés représentent des raccourcis de la voie de synthèse menant aux métabolites. **Abréviation** : FW : Fresh Weight, CK-B : CK-Base, CK-R : CK-Riboside, CK-OG : CK-O glycosylée, CK-NG : CK-N glycosylée.



### 3.6 Effet de la stimulation mécanique sur le métabolisme et la signalisation de l'auxine

Les teneurs en auxine IAA ainsi qu'en ses précurseurs l'anthranilate (ANT) et le tryptophane (TRP) et en sa forme conjuguée (IAA-Asp) n'ont pas été modifiées par la stimulation mécanique. Une augmentation de la forme oxydée de l'IAA, l'acide 2-oxoindole-3-acétique (oxIAA) a par contre été observée 3h après la fin de la stimulation mécanique. Ces résultats suggèrent une régulation négative des teneurs en auxine active par la stimulation mécanique chez l'hortensia. Au niveau transcriptomique, notre analyse transcriptomique a permis d'identifier 16 DEGs associés à la voie métabolique et à la signalisation de l'auxine (**Figure 43A**). Parmi ces gènes, *YUCCA10*, un acteur clé de la voie de biosynthèse de l'auxine, est en effet significativement sous-exprimé dans les tiges d'hortensia prélevées 3h après la dernière flexion mécanique. Cette observation concorde avec les dosages des précurseurs, tels que l'anthranilate (ANT) et le tryptophane (TRP), impliqués dans la synthèse de l'acide indole acétique (IAA), via *YUCCA10* et dont les teneurs n'ont pas diminué après la stimulation mécanique. Ces résultats suggèrent que chez l'hortensia, la contrainte mécanique stimule l'activité des enzymes responsables de la dégradation de l'auxine et réprime sa synthèse.

Plusieurs études ont aussi montré une répression de la voie de biosynthèse de l'auxine s'accompagnant d'une diminution effective du contenu en auxine en réponse à la stimulation mécanique (Erner and Jaffe, 1982; Sparke and Wünsche, 2020; Telewski, 2021; Jedrzejuk et al., 2023). Par exemple, chez *Bryonia dioica* et *Solanum lycopersicum*, le frottement des entre-nœuds a été associé à une diminution des niveaux d'auxine et à une augmentation de l'activité des enzymes de dégradation de l'auxine (Boyer, 1967; Saidi et al., 2011).

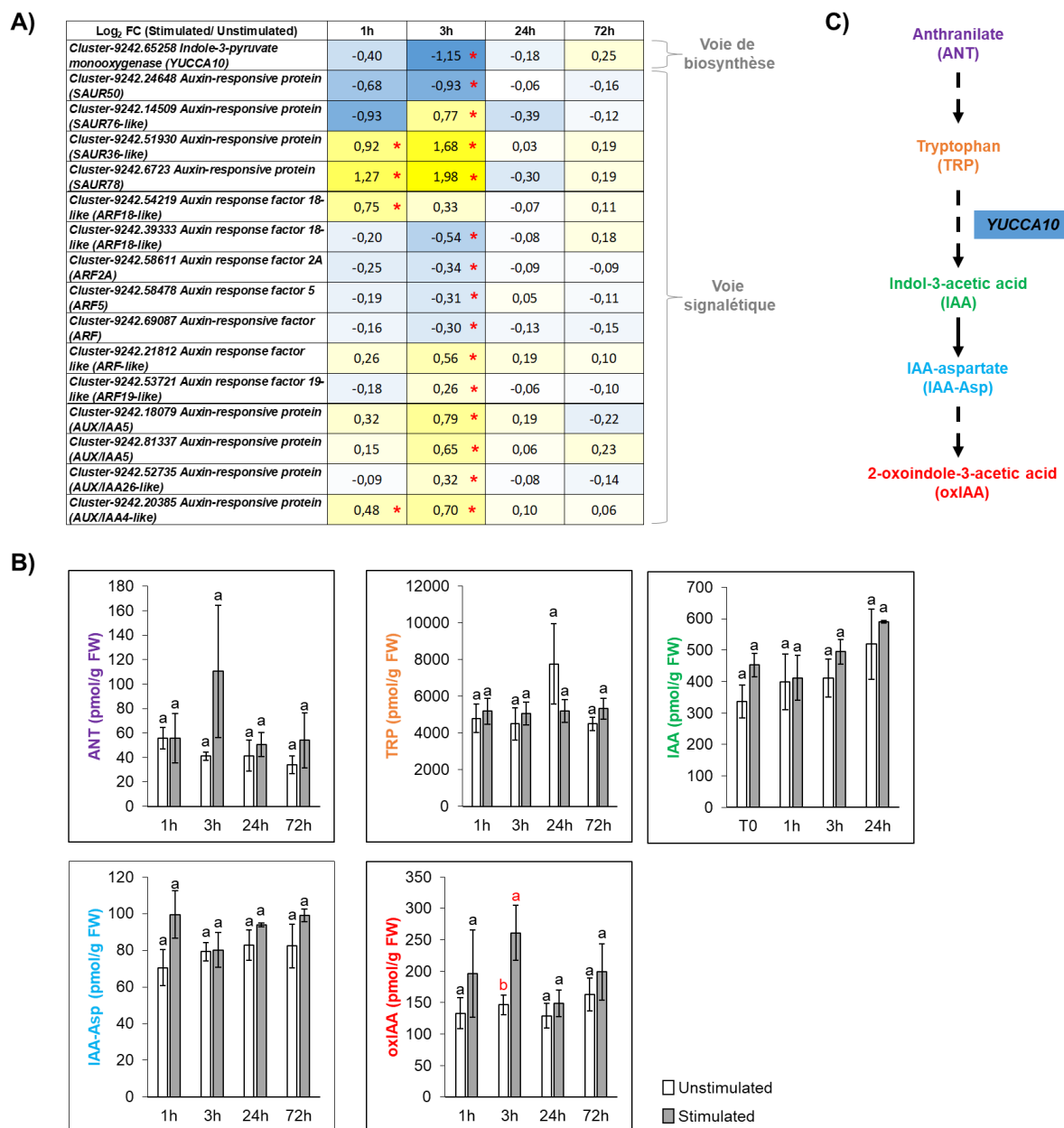
En ce qui concerne la voie de signalisation auxinique, parmi les 15 DEGs identifiés appartenant à la famille des gènes de réponse à l'auxine et codant pour des FTs de type *ARF* (*Auxin Response Factor*), *SAUR* (small auxin up-regulated RNA) et *AUX/IAA*, près de 10 d'entre eux ont montré une surexpression 1h et 3h après la dernière flexion mécanique. Parmi ceux-ci, *SAUR36-like* et *SAUR78-like* sont les 2 gènes les plus fortement surexprimés (**Figure 43A**). Il est intéressant de noter que chez *Arabidopsis thaliana*, la surexpression du gène *TaSAUR78* de *Triticum aestivum* a été associée à une réduction de la teneur intracellulaire en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, améliorant ainsi la résistance des plantes à des stress abiotiques (sécheresse, basses températures, stress salin) (Guo et al., 2019). Peut-être joue-t-il un rôle

aussi dans le stress mécanique ? Quant au gène *SAUR36*, une étude menée chez *Arabidopsis thaliana*, a montré qu'il était induit en présence d'auxine et inhibé en présence de GAs et que son expression était concentrée dans les tissus en phase d'allongement (Stamm and Kumar, 2013). Sachant que les tiges d'hortensia stimulées mécaniquement comprennent des entre-nœuds en cours d'allongement, et que des variations du métabolisme de l'auxine et des GAs y sont observées après stimulation mécanique, il serait intéressant de vérifier si *SAUR36* interagit avec ces hormones dans la réponse de l'hortensia à la stimulation mécanique.

Par ailleurs, 4 autres FTs de type *ARF* et le FT *SAUR50* ont montré une sous-expression significative 3h après la dernière flexion mécanique. Récemment, chez *Glycyrrhiza uralensis*, *SAUR50* a été identifié comme surexprimé en réponse au stress salin, contribuant à l'élongation cellulaire des plantes en conditions de stress (Xiao et al., 2021). D'autres travaux réalisés sur *Arabidopsis thaliana* ont également révélé que la surexpression de *SAUR50* favorisait l'élongation cellulaire en induisant l'acidification de la paroi cellulaire (Van Mourik et al., 2017). Par conséquent, la sous-régulation de *SAUR50* que nous avons observée après les 12 flexions mécaniques pourrait participer à la réduction de l'allongement des tiges observée chez l'hortensia.

Les études portant sur la régulation de la voie de signalisation auxinique en réponse à la stimulation mécanique sont encore limitées. Néanmoins, nos résultats apportent des éléments intéressants en mettant en lumière une régulation complexe de la voie de signalisation de l'auxine chez l'hortensia en réponse à la stimulation mécanique. Il est plausible que cette régulation joue un rôle adaptatif dans la réponse des plantes aux contraintes mécaniques. Une hypothèse envisageable est que la surexpression de certains gènes liés à la signalisation auxinique pourrait être associée à la régulation de la croissance et du développement des tiges en réponse à la stimulation mécanique. En revanche, la sous-régulation d'autres gènes pourrait être liée à des mécanismes de régulation visant à atténuer la réponse aux stimuli mécaniques. Certains chercheurs ont notamment suggéré que la régulation différentielle des gènes de réponses à l'auxine pourrait résulter d'interactions synergiques et/ou antagonistes avec l'éthylène dans la régulation des changements de croissance et de développement lors de l'acclimatation des plantes au stress mécanique (Brenya et al., 2022).

Chapitre 4 : Étude des réponses à la stimulation mécanique chez *Hydrangea macrophylla* au travers un profilage transcriptomique et métabolomique



**Figure 43.** Effet de 12 flexions symétriques successives sur la voie métabolique de l’auxine chez de jeunes plants d’*Hydrangea macrophylla*. cv. ‘Wudu®’. **(A)** Log<sub>2</sub> Fold Change (FC) d’expressions géniques au sein de tiges stimulées par rapport à des tiges non stimulées. Les différences significatives sont indiquées par un astérisque rouge (Padj < 0,05). Le dégradé de couleur du bleu au jaune indique une augmentation de l’expression du gène d’une valeur négative à une valeur positive. **(B)** Dosage des composés impliqués dans la voie métabolique des AUX. Les lettres indiquent les différences significatives entre les conditions à un temps donné après le test non-paramétrique de Wilcoxon–Mann–Whitney (P ≤ 0,05). **(C)** Schéma synthétique représentant les métabolites et les transcrits identifiés. Les flèches en pointillés représentent des raccourcis de la voie de synthèse menant aux métabolites. **Abréviation** : FW : Fresh Weight.

### 3.7 Effet de la stimulation mécanique sur le métabolisme et la signalisation des brassinostéroïdes

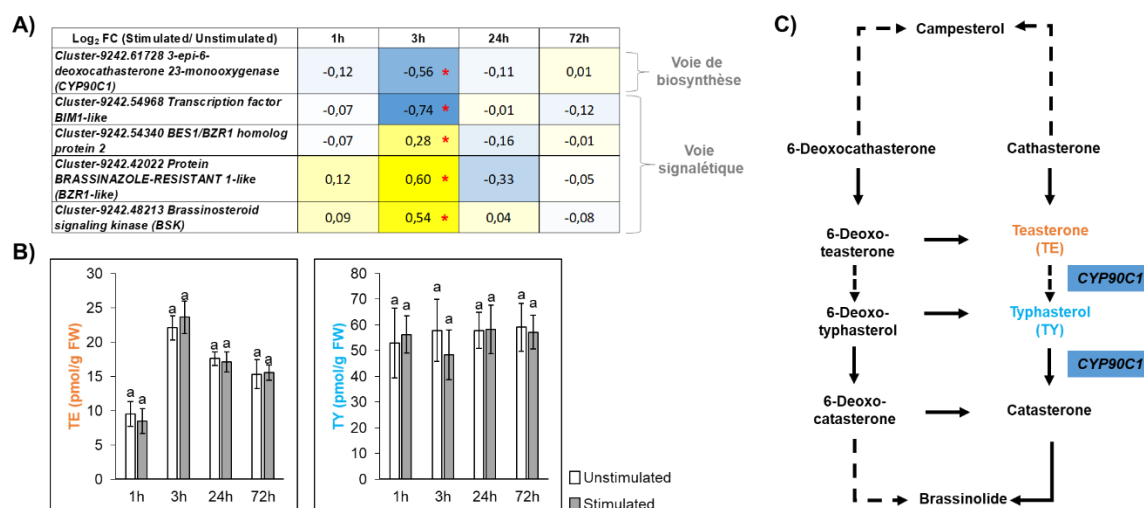
Les données transcriptomiques ont permis d'identifier 5 gènes DEGs, participant à la fois à la voie métabolique et à la signalisation des BRs (**Figure 44A**). Parmi ces gènes, *CYP90C1*, code une enzyme clé impliquée dans la synthèse de plusieurs précurseurs permettant la synthèse de brassinolide, un BR hautement actif (**Figure 44C**) (Poppenberger et al., 2011; Kour et al., 2021). Les résultats ont révélé une sous-expression significative de ce gène 3h après la dernière flexion mécanique, suggérant ainsi une possible inhibition de la voie de biosynthèse des BRs. Cette tendance a été confirmée par les dosages des 2 métabolites, la teasterone (TE) et le typhasterol (TY), dont les niveaux n'ont pas présenté de variations significatives entre les plantes stimulées et celles non stimulées (**Figure 44B**).

Certaines études ont montré que l'exposition d'*Arabidopsis thaliana* au 24-épibrassinolide, une forme de BR active, entraînait une régulation positive de *TCH4*, un gène, codant une xyloglucane endotransglucosylase/hydrolase (XET/XTH), spécifiquement induit par le toucher (Mandava, 1988; Xu et al., 1995). Ces auteurs ont démontré que l'activité de ce gène était restreinte aux tissus et aux organes en phase de croissance, subissant des modifications au niveau de leur paroi cellulaire.

En ce qui concerne la voie de signalisation des BRs, 2 des 3 gènes codant les FTs *BES1/BZR1* et *BZR1-like*, ainsi que le gène *BSK*, qui code pour des protéines régulatrices du signal des BRs (Wang et al., 2012; Zhu et al., 2013a; Planas-Riverola et al., 2019; Ren et al., 2019; Kour et al., 2021), ont tous montré une surexpression significative 3h après la dernière flexion mécanique suggérant un rôle de la signalisation des BR dans la réponse à la stimulation mécanique (**Figure 44A**). Nos résultats ont également montré que le gène codant pour le FT *BIMI-like* était significativement sous-régulé dans les tiges d'hortensia prélevées 3h après la dernière flexion mécanique (**Figure 44A**). Récemment, les travaux menés sur *Malus domestica* ont révélé une interaction entre 2 répresseurs de la signalisation du JA, *MdJAZ1* et *MdJAZ2* (*Jazmonate Zim-Domain 1/2*), et le FT *MdBIM1* (An et al., 2023). Cette interaction a été associée à une réduction de la tolérance des plantes au froid en réprimant l'expression de *MdCBF1* et *MdCBF2* (*C-Repeat Binding Factor 1/2*) (Liu et al., 2021a). Ces résultats suggèrent donc une possible régulation croisée entre la voie de signalisation des BRs et la voie de signalisation du JA dans les réponses thigmomorphogénétiques de l'hortensia.

## Chapitre 4 : Étude des réponses à la stimulation mécanique chez *Hydrangea macrophylla* au travers un profilage transcriptomique et métabolomique

Nos résultats semblent indiquer que la voie des BRs joue un rôle important dans les réponses de l'hortensia à la stimulation mécanique. Bien que l'implication des BRs ait été suggérée en réponse aux contraintes mécaniques (Sparke and Wünsche, 2020), des recherches supplémentaires sont nécessaires pour élucider les détails de la régulation de la voie de biosynthèse des BRs et de ses interactions avec d'autres voies de signalisation hormonale.



**Figure 44.** Effet de 12 flexions symétriques successives sur la voie métabolique des brassinostéroïdes (BRs) chez de jeunes plants d'*Hydrangea macrophylla* cv. 'Wudu®'. **(A)** Log<sub>2</sub> Fold Change (FC) d'expressions géniques au sein de tiges stimulées par rapport à des tiges non stimulées. Les différences significatives sont indiquées par un astérisque rouge ( $P_{adj} < 0,05$ ). Le dégradé de couleur du bleu au jaune indique une augmentation de l'expression du gène d'une valeur négative à une valeur positive. **(B)** Dosage des composés impliqués dans la voie métabolique des BRs. Les lettres indiquent les différences significatives entre les conditions à un temps donné après le test non-paramétrique de Wilcoxon–Mann–Whitney ( $P \leq 0,05$ ). **(C)** Schéma synthétique représentant les métabolites et les transcrits identifiés. Les flèches en pointillés représentent des raccourcis de la voie de synthèse menant aux métabolites. **Abbréviation** : FW : Fresh Weight.

### 3.8 Effet de la stimulation mécanique sur le métabolisme et la signalisation des strigolactones

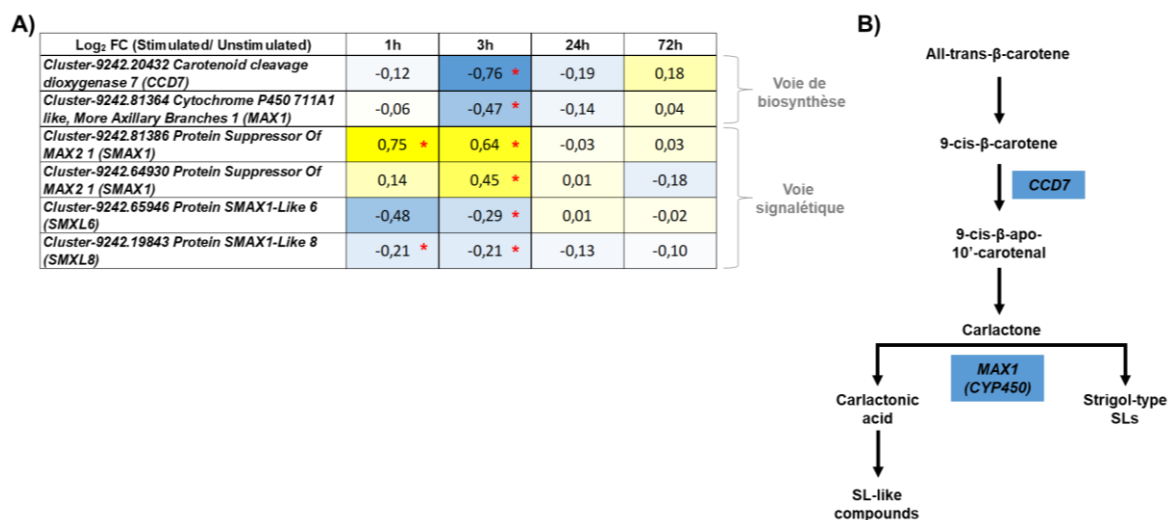
Les données transcriptomiques ont permis d'identifier 6 DEGs impliqués à la fois dans la voie métabolique et la signalisation des SLs (**Figure 45A**). Parmi ces gènes, *CCD7* (*Carotenoid Cleavage Dioxygenase 7*) et *MAX1* (*More Axillary Branches 1*), qui codent des enzymes clés de la voie de biosynthèse des SLs (**Figure 45B**), ont montré une sous-expression significative 3h après la contrainte mécanique, suggérant ainsi une inhibition de la voie de biosynthèse des SLs chez l'hortensia. Dans l'étude transcriptomique réalisée chez le peuplier, les résultats ont également montré la sous-expression de 3 gènes codant pour *MAX1* et des *CCD7/8* après une 1 ou 2 flexions asymétriques de la tige (Pomiès et al., 2017).

À ce jour, aucune étude ne s'est réellement intéressée à l'implication des SLs dans les réponses thigmomorphogénétiques des plantes. Cependant, certaines recherches ont examiné leur rôle dans la tolérance des plantes face à divers stress abiotiques (Aliche et al., 2020; Wu et al., 2022). Les mutants présentant des déficiences dans la biosynthèse ou la signalisation des SLs montrent une hypersensibilité aux conditions environnementales défavorables telles que les stress osmotique et salin (Qiao et al., 2020; Zheng et al., 2021). De plus, chez *Solanum lycopersicum*, les niveaux d'expression des gènes de biosynthèse des SLs tels que *SICCD7* et *SICCD8*, ainsi que le contenu en SLs diminuent dans les racines des plantules soumises à un stress hydrique (Visentin et al., 2016). Chez *Arabidopsis thaliana*, les mutants affectés dans les gènes impliqués dans la biosynthèse et la signalisation des SLs présentent des phénotypes semi-nains et des entre-nœuds courts (Rameau et al., 2019; Wu et al., 2022). La sous-régulation des gènes de synthèse des SLs chez l'hortensia stimulé, ainsi que les réponses thigmomorphogénétiques observées, caractérisées par une importante réduction de l'élongation des tiges, semblent donc cohérentes avec ces résultats (cf. **Chapitre 1**, **Chapitre 2**). Cependant, il convient de noter que les mêmes mutants déficients d'*Arabidopsis thaliana* en SLs présentent également un diamètre de tige réduit par rapport aux plantes non mutantes (Agusti et al., 2011; Rameau et al., 2019). Ces observations semblent en contradiction avec l'augmentation de la croissance diamétrale de l'entre-nœud le plus basal observée dès le 1<sup>er</sup> jour après l'application de 12 flexions mécaniques (cf. **Chapitre 3**). Cette apparente contradiction pourrait s'expliquer par le fait que nous avons prélevé des tiges entières composées d'entre-nœuds affichant des stades de

développement différents. De plus, il est admis que la synthèse des SLs est induite en présence d'auxine (Brewer et al., 2009; Bertheloot et al., 2020). Comme nous l'avons précédemment montré, la stimulation mécanique semble réprimer la voie de biosynthèse de l'auxine chez l'hortensia (**Figure 43**). Par conséquent, nos résultats semblent suggérer que la répression de la voie des SLs chez l'hortensia pourrait être liée à la répression de la voie de l'auxine.

Les résultats transcriptomiques ont également permis d'identifier 4 DEGs appartenant à la voie de signalisation des SLs (**Figure 45A**). Parmi ces gènes, 2 FTs codant les protéines SMAX1 (Suppressor Of MAX2 1) ont montré une surexpression significative 1h après la dernière flexion mécanique, dont l'un d'entre eux était également surexprimé 3h après la contrainte mécanique. Chez *Arabidopsis thaliana*, il a été démontré que l'accumulation de *SMAX1* conduisait à une augmentation significative de la hauteur des plantes (Zheng et al., 2021). La surexpression de *SMAX1* chez l'hortensia et la réduction de croissance observée après stimulation mécanique seraient alors en opposition avec le phénotype observée chez *Arabidopsis thaliana*. Deux autres FTs, *SMXL6* et *SMXL8* (*SMAX1-like*), ont été retrouvés significativement sous-exprimés 3h après la dernière flexion mécanique. De manière intéressante, plusieurs études ont montré que les FTs *SMAX1*, *SMXL2*, *SMXL6*, *SMXL7* et *SMXL8*, régulaient négativement la résistance des plantes à la sécheresse, notamment en réprimant la voie de signalisation de l'ABA (Yang et al., 2020; Feng et al., 2023). Nos résultats ont montré une activation de la voie de signalisation de l'ABA chez l'hortensia en réponse à la contrainte mécanique, peut être en cohérence avec la sous-expression de ces FTs de la voie des SLs (**Figure 40**).

Chapitre 4 : Étude des réponses à la stimulation mécanique chez *Hydrangea macrophylla* au travers un profilage transcriptomique et métabolomique



**Figure 45.** Effet de 12 flexions symétriques successives sur la voie métabolique des strigolactones (SLs) chez de jeunes plants d'*Hydrangea macrophylla* cv. 'Wudu®'. (A) Log<sub>2</sub> Fold Change (FC) d'expressions géniques au sein de tiges stimulées par rapport à des tiges non stimulées. Les différences significatives sont indiquées par un astérisque rouge (Padj < 0,05). Le dégradé de couleur du bleu au jaune indique une augmentation de l'expression du gène d'une valeur négative à une valeur positive. (B) Schéma synthétique représentant les transcrits identifiés.



### 3.9 Effet de la stimulation mécanique sur le métabolisme et la signalisation de l'éthylène

Les données transcriptomiques ont révélé la présence de 27 DEGs jouant un rôle crucial à la fois dans la voie métabolique et la signalisation de l'éthylène (**Figure 46A**). Parmi ces DEGs, un seul code pour une enzyme clé de la voie de biosynthèse, l'acide 1-aminocyclopropane-1-carboxylique (ACC) oxydase (ACO), intervenant dans la dernière étape de la biosynthèse de l'éthylène par la stimulation mécanique. L'ACO a été identifié comme significativement surexprimé 24h et 72h après la dernière flexion mécanique, suggérant une activation de la voie de biosynthèse de l'éthylène. L'éthylène a été l'une des premières hormones à être identifiées dans les réponses thigmomorphogénétiques des plantes (Sparke et Wünsche, 2020; Telewski, 2021). De nombreuses études ont démontré que l'augmentation de la production d'éthylène, était notamment corrélée à l'activité de l'ACC synthase (ACS) qui permet la conversion de la S-adénosyl méthionine en ACC (**Figure 46B**) (Biro and Jaffe, 1984; De Jaegher et al., 1985; Prasad and Cline, 1985; Arteca and Arteca, 1999; Mensuali-Sodi et al., 2006). Plus récemment, Pomiès et al. (2017) ont observé la surexpression de plusieurs isoformes de l'ACO chez le peuplier en réponse à 1 ou 2 flexions asymétriques de la tige.

De nombreuses études ont montré que l'éthylène exerçait un rôle précoce dans la réponse des plantes à la stimulation mécanique, quelques minutes après l'application de la contrainte (Arteca and Arteca, 1999; Chehab et al., 2008; Telewski, 2021; Brenya et al., 2022). Toutefois, chez *Phaseolus vulgaris*, le pic de production d'éthylène a été observé seulement 2h après le brossage des entre-nœuds, tandis que chez *Pinus taeda*, il a été observé 9h après 20 flexions symétriques de la tige (Jaffe and Biro, 1979; Telewski and Jaffe, 1986). Plusieurs auteurs ont ainsi suggéré que le délai dans la production d'éthylène démontrait que cette hormone n'était pas un acteur majeur dans la voie de transduction du signal de la réponse mécanique (Biro and Jaffe, 1984; Biddington, 1986; Johnson et al., 1998). Nos résultats au niveau transcriptionnel semblent donc étayer ces observations en montrant que la réponse des gènes impliqués dans la production d'éthylène était également tardive chez l'hortensia après stimulation. Nos résultats mettent aussi en évidence une augmentation significative de l'expression du gène codant le récepteur ERS1 (Ethylene Response Sensor 1) 3h après l'application de la contrainte mécanique (**Figure 46A**). Ce récepteur étant impliqué dans la voie signalétique de l'éthylène n'est qu'exprimé en présence d'éthylène. Cela suggère qu'il y aurait une première synthèse et transduction du

signal précoce d'éthylène, suivie par une nouvelle synthèse plus tardive, peut-être pour prolonger le signal initial d'éthylène.

L'analyse transcriptomique a aussi permis d'identifier 22 DEGs codant pour des FTs de type *ERF* (*Ethylene Responsive Factor*), *ERF-like*, ainsi que 2 DEGs codant pour des FTs de type *ABRI* (*ABA repressor 1*) (**Figure 46A**). Parmi les FTs identifiés, 23 des 24 FTs ont montré une surexpression significative 1h et 3h après la dernière flexion mécanique. Ces FTs jouent un rôle essentiel en tant que régulateurs moléculaires, stimulant l'expression des gènes cibles et permettant ainsi l'activation des réponses physiologiques déclenchées par l'éthylène (Pomiès et al., 2017; Debbarma et al., 2019; Van Moerkercke et al., 2019; Chen et al., 2022). De manière remarquable, les FTs *ABRI* ont été les plus fortement surexprimés en réponse à la contrainte mécanique chez l'hortensia. Il a été démontré que l'expression de *ABRI* était fortement induite par des stress tels que le sel, le froid et la sécheresse (Pandey et al., 2005). Suite à l'étude des mutants *abr1*, les auteurs ont également montré que *ABRI* agissait en tant que régulateur négatif de la signalisation de l'ABA lors de la germination des graines d'*Arabidopsis thaliana*. Cela peut sembler en contradiction avec nos précédentes observations, où nous avons montré une possible activation de la voie de signalisation de l'ABA (**Figure 40**). Cependant, une étude récente a révélé qu'un traitement à l'éthylène appliqué aux fruits de *Prunus persica* entraînait une augmentation de l'expression de *ABRI* (Zhu et al., 2019). De plus, cette augmentation était corrélée à l'expression des gènes impliqués dans le métabolisme de la paroi cellulaire, tels que *PLG*, *PE*, *PME* et *EXP*, ainsi qu'aux gènes impliqués de la voie de biosynthèse du JA, tels que les *LOX*.

Dans l'ensemble, ces résultats renforcent l'idée de l'importance de la voie de l'éthylène dans la réponse des plantes à la stimulation mécanique. Chez l'hortensia, il semble que l'expression de *ABRI* pourrait jouer un rôle essentiel en interaction avec la signalisation de l'ABA et/ou de l'éthylène, en influençant la synthèse du JA et en contrôlant l'expression des gènes impliqués dans les processus d'extension de la paroi cellulaire.

Chapitre 4 : Étude des réponses à la stimulation mécanique chez *Hydrangea macrophylla* au travers un profilage transcriptomique et métabolomique

**A)**

Log <sub>2</sub> FC (Stimulated/ Unstimulated)	1h	3h	24h	72h	
Cluster-9242.49411 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase (ACO)	-0,07	0,09	0,54 *	0,48 *	Voie de biosynthèse
Cluster-9242.21119 Ethylene transcription factor (ERF)	0,46 *	-0,43	-0,06	-0,10	
Cluster-9242.38271 Ethylene-responsive transcription factor 5-like (ERF5-like)	0,45 *	0,21	-0,23	-0,02	
Cluster-9242.72014 Ethylene-responsive transcription factor 3-like (ERF3-like)	0,35 *	0,29	0,09	0,03	
Cluster-9242.39811 Ethylene-responsive transcription factor (ERF)	1,32 *	1,88	-1,21	-0,94	
Cluster-25347.0 Ethylene-responsive transcription factor (ERF022-like)	1,21 *	1,98	2,21	4,42	
Cluster-9242.50446 Ethylene-responsive transcription factor (ERF025)	1,09 *	1,68	0,24	0,24	Voie signalétique
Cluster-9242.52136 Ethylene-responsive transcription factor 3-like (ERF3-like)	0,53 *	0,13	0,01	0,08	
Cluster-9242.41984 Ethylene-responsive transcription factor (ERF038-like)	-0,47	-1,11 *	-0,16	0,07	
Cluster-9242.37191 Ethylene-responsive transcription factor 5-like (ERF5-like)	0,55	0,55 *	-0,24	0,18	
Cluster-9242.80008 Ethylene-responsive transcription factor 12 (ERF12)	0,54	0,54 *	-0,06	-0,15	
Cluster-9242.66361 Ethylene-responsive transcription factor (ERF118-like)	0,45	0,45 *	0,22	-0,14	
Cluster-9242.32350 Ethylene receptor 2-like (ERF2-like)	0,41	0,41 *	0,22	0,31	
					Voie signalétique
Cluster-9242.54225 Ethylene response factor 7 (ERF7)	0,32	0,32 *	-0,11	0,06	
Cluster-9242.37510 Ethylene-responsive transcription factor 2-like (ERF2-like)	0,99	0,99 *	0,02	0,32	
Cluster-9242.24188 Ethylene-responsive transcription factor 4-like (ERF4-like)	0,98	0,98 *	-0,41	0,29	
Cluster-9242.53532 Ethylene-responsive transcription factor 2-like (ERF2-like)	0,93	0,93 *	-0,01	0,10	
Cluster-9242.91699 Ethylene-responsive transcription factor 1B like (ERF1B-like)	0,73	0,73 *	0,17	0,72	
Cluster-9242.54699 Ethylene-responsive transcription factor (ERF)	0,73	0,73 *	-0,75	0,09	
Cluster-9242.35002 Ethylene-responsive transcription factor (ERF061)	0,73	0,73 *	0,37	0,14	
Cluster-9242.30459 Ethylene-responsive transcription factor (ERF)	0,67	0,67 *	0,15	0,02	
Cluster-9242.53134 Ethylene-responsive transcription factor 4-like (ERF4-like)	0,64	0,64 *	-0,25	0,03	
Cluster-9242.48938 Ethylene-responsive transcription factor (ERF2-like)	0,63	0,63 *	0,18	-0,25	
Cluster-9242.74647 Ethylene-responsive transcription factor (ERF106-like)	0,62	0,62 *	0,01	0,18	
Cluster-9242.57843 Ethylene response sensor 1 (ERS1)	0,62	0,62 *	0,16	0,09	
Cluster-9242.45426 Ethylene-responsive transcription factor (ABR1)	2,05	2,05 *	-0,18	-0,24	
Cluster-9242.8186 Ethylene-responsive transcription factor (ABR1)	1,28	1,28 *	1,18	-0,64	

**B)**

Méthionine  $\longrightarrow$  S-adénosyl méthionine  $\longrightarrow$  Acide 1-aminocyclopropane-1-carboxylique (ACC)  $\xrightarrow{ACO}$  Éthylène

**Figure 46.** Effet de 12 flexions symétriques successives sur la voie métabolique de l'éthylène chez de jeunes plants d'*Hydrangea macrophylla* cv. 'Wudu®'. **(A)** Log<sub>2</sub> Fold Change (FC) d'expressions géniques au sein de tiges stimulées par rapport à des tiges non stimulées. Les différences significatives sont indiquées par un astérisque rouge (Padj < 0,05). Le dégradé de couleur du bleu au jaune indique une augmentation de l'expression du gène d'une valeur négative à une valeur positive. **(B)** Schéma synthétique représentant le transcrit identifié.

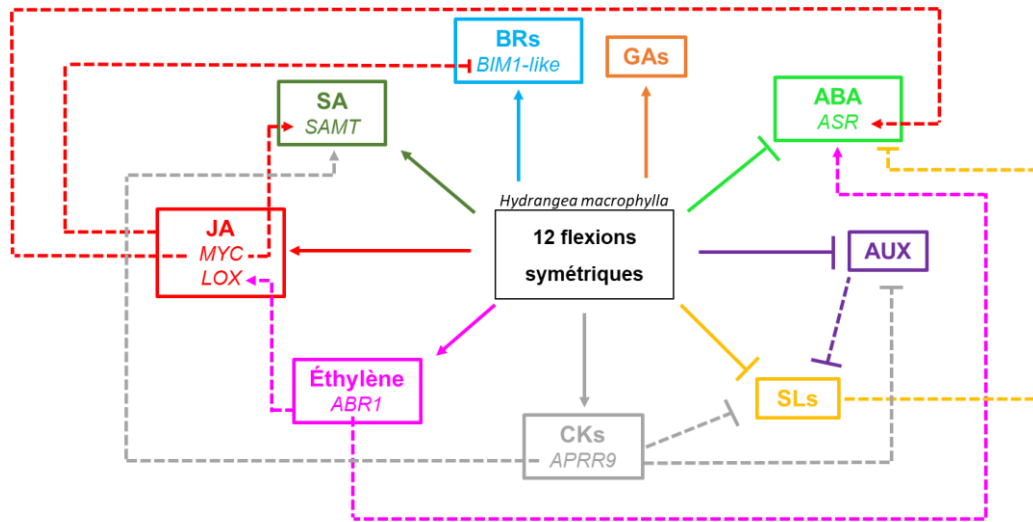
#### **4. Conclusions générales**

L'étude approfondie des données transcriptomiques et métabolomiques, ciblant les neuf familles principales de phytohormones (GAs, ABA, JA, SA, BRs, AUX, CKs, SLs et éthylène), a permis d'acquérir une meilleure compréhension des réponses thigmomorphogénétiques, observées pour la première fois chez l'hortensia après l'application de 12 flexions symétriques successives. L'ensemble de ce travail a montré une modulation complexe entre les différentes voies hormonales participant ensemble à la modulation de gènes impliqués dans les processus de croissance, tels que les gènes liés à l'élongation cellulaire et à la synthèse pariétale.

Nos résultats ont révélé l'implication des voies de signalisation de toutes ces hormones végétales dans la transmission du signal de stress mécanique. Conformément aux résultats de la littérature, nous avons également confirmé que la stimulation mécanique semblait déclencher les voies de biosynthèse du JA, de l'éthylène, des BRs et des CKs. À l'inverse, nos résultats ont montré que chez l'hortensia, la stimulation mécanique réprimait la voie de biosynthèse de l'auxine. Notre étude a également mis en évidence des réponses moléculaires qui dépendent à la fois de l'espèce végétale étudiée et du type de contrainte mécanique appliquée (flexions, brossage, vibrations). Par exemple, chez l'hortensia, la stimulation mécanique semble induire la voie de biosynthèse des GAs et du SA, tout en réprimant celle de l'ABA. De manière particulièrement intéressante, nous avons identifié pour la première fois l'implication de la voie de signalisation des SLs dans les réponses thigmomorphogénétiques des plantes. Nos résultats ont également mis en lumière des interactions potentielles entre ces différentes hormones. Par exemple, nos données suggèrent que la répression de la voie de biosynthèse des SLs pourrait être associée à l'induction de la voie des CKs, qui exercerait également une répression sur la voie de l'auxine. De même, le JA et le SA semblent interagir de manière antagoniste dans les réponses thigmomorphogénétiques de l'hortensia. En revanche, l'éthylène, l'ABA et le JA pourraient avoir des interactions positives.

Dans l'ensemble, ces découvertes soulignent la complexité des réponses hormonales des plantes soumises à la contrainte mécanique, en mettant en évidence des interactions subtiles et des régulations croisées entre les différentes voies hormonales. Un schéma hypothétique illustrant ces interactions chez l'hortensia en réponse à des flexions symétriques est présenté dans la **Figure 47**. Cette avancée dans notre compréhension des mécanismes sous-jacents

aux réponses thigmomorphogénétiques pourrait avoir des implications importantes pour la recherche en physiologie végétale et l'horticulture.



- Induction de la voie de biosynthèse par la stimulation mécanique
- | Répression de la voie de biosynthèse par la stimulation mécanique
- - - → Hypothétiques interactions positives
- - - | Hypothétiques interactions négatives

**Figure 47.** Schéma récapitulant l'effet de 12 flexions symétriques sur les régulations hormonales au sein de tiges d'*Hydrangea macrophylla* cv. 'Wudu®'.

## Chapitre 5 : La modulation de la qualité lumineuse augmente la compacité chez l'hortensia

### 1. Contexte de l'étude

Ce chapitre de la thèse examine l'effet de la modulation du spectre lumineux sur le contrôle de l'allongement des tiges chez de jeunes plants d'*Hydrangea macrophylla*. Comme mentionné dans l'introduction de ce mémoire, la régulation de la croissance et du développement des plantes par la modification du spectre lumineux et de l'intensité lumineuse a été bien établie chez de nombreuses espèces végétales. Cependant, il est essentiel de noter que les réponses photomorphogénétiques présentent une forte variabilité en fonction du génotype des plantes et des conditions de culture. Jusqu'à présent, aucune étude n'a exploré les effets de la lumière sur la croissance et le développement d'*Hydrangea macrophylla*. Cela souligne l'importance de mener des recherches approfondies sur cette espèce, car les connaissances sur la façon dont l'hortensia réagit à la lumière peuvent fournir des informations cruciales pour l'industrie horticole, en particulier dans le contexte de l'optimisation de la production en remplaçant les régulateurs de croissance chimiques.

Nos expérimentations ont été menées dans une chambre de culture équipée de plusieurs modules d'éclairage LED indépendants (**Figure 48**). Les conditions environnementales, telles que la température, l'humidité relative, les niveaux de CO<sub>2</sub>, l'irrigation et la photopériode, étaient uniformes pour tous les modules. Dans le cadre de cette étude, nous avons reconstitué un spectre lumineux naturel servant de spectre lumineux témoin. Nous avons ensuite développé deux traitements lumineux, en partant du spectre lumineux naturel reconstitué, en augmentant la quantité de lumière bleue pour le premier traitement (B-enr) et la quantité de lumière rouge clair pour le second traitement (R-enr). Nous avons également comparé l'effet de ces traitements lumineux à l'effet du daminozide, un régulateur de croissance utilisé dans la production d'hortensias. Les plantes nanifiées chimiquement ont été cultivées sous le spectre lumineux naturel reconstitué.

Notre étude a porté sur les caractéristiques phénotypiques, physiologiques et moléculaires de deux cultivars d'hortensia produits par l'entreprise Hortensia France :

‘Nanping®’ et ‘Wudu®’. Ces cultivars se distinguent par leur vigueur, ‘Nanping®’ étant caractérisé par une vigueur très forte et ‘Wudu®’ par une vigueur moyenne à forte.

Ces travaux sont présentés ci-après sous la forme d’un article scientifique que nous souhaiterions prochainement soumettre. Les figures supplémentaires associées à cet article sont présentées à la suite de l’article et les tableaux supplémentaires sont présentées dans l’**Annexe IV**.



**Figure 48.** Chambre de culture (Green Simplicity) utilisée à des fins expérimentales et installée à l’entreprise Hortensia France.

## 2. Supplemental lighting with red or blue wavelengths induces dwarfism in *Hydrangea macrophylla*

### Supplemental lighting with red or blue wavelengths induces dwarfism in *Hydrangea macrophylla*

Béra Ley-Ngardigal<sup>1,2</sup>, Hanaé Roman<sup>2</sup>, Lydie Huché-Thélier<sup>1</sup>, Isabel Guerrero Zepeda<sup>1</sup>, Nathalie Brouard<sup>1</sup>, Vincent Guérin<sup>1</sup> and Nathalie Leduc<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Univ Angers, Institut Agro, INRAE, IRHS, SFR QUASAV, F-49000 Angers, France

<sup>2</sup> Hortensia France, La Bodinière, 49140 Rives-du-Loir-en-Anjou, France

#### \* Correspondence:

Nathalie Leduc  
nathalie.leduc@univ-angers.fr

#### Abstract

In ornamental industry, control of plant growth and of compactness improves plant quality and is classically achieved through application of chemicals called plant growth regulators (PGRs). Because of environmental concern and of international regulations, the progressive phasing out of PGRs in plant production requires the finding of eco-friendly alternative techniques to dwarf plants. Control of plant growth and development through manipulation of light spectrum and light intensity has been demonstrated in numerous species. Yet, photomorphogenic responses vary strongly with genotype and cultural conditions. To date, and to our knowledge, no study has been carried out in *Hydrangea macrophylla* on the control of the elongation of its stems by modulating the light spectrum. In this study, two different light spectra were applied in the two *H. macrophylla* cultivars Wudu® and Nanping® with the aim to reduce stem elongation. In the first treatment, a spectrum enriched in blue light (B-enr) was used while in the second, the spectrum was enriched in red light (R-enr). Both spectra significantly reduced stem elongation in both cultivars. Growth repression was comparable to the one induced by daminozide, the PGR molecule used in production. Molecular analysis of target genes revealed that B-enr, R-enr and daminozide treatments all increased expression of cell-wall genes such as pectinases, expansins and cellulose synthases. Both light treatments have also modulated the expression of genes involved in gibberellin metabolic and signaling pathway as the PGR-treatment. Also, all three treatments down-regulated genes associated with secondary growth. These results



suggest that light spectra impacted the same regulatory pathway of stem elongation as daminozide. Yet, further analysis of some physiological parameters revealed that both light spectra positively impacted photosynthetic processes, resulting in increased chlorophyll index, stomatal conductance, and photosystem II efficiency. This study thus proposes two effective light spectra as an alternative to PGRs, and also brings novel insights on the regulatory mechanisms which influence the growth of *Hydrangea macrophylla* in response to light quality.

**Keywords:** Light-Emitting Diode (LED), spectral composition, non-chemical dwarfing, ornamental, plant compactness, R/B light ratio, photomorphogenesis

## INTRODUCTION

The ornamental plant industry has evolved significantly in response to the gradual shift away from the use of plant growth regulators (PGRs). This transition is fueled by environmental concerns, regulatory changes, and the industry's growing emphasis on sustainable practices (Fletcher et al., 2005; Bergstrand, 2017; Guichard et al., 2017). In this context, there is an urgent need to explore alternative cultivation methods that align with these principles while maintaining the quality standards expected for ornamental plants, i.e. compact, branched and healthy plants (Andersen and Andersen, 2000; Boumaza et al., 2010). One promising alternative that has gained significant attention is Light-Emitting Diode (LED) technology (Goto, 2003; Bantis et al., 2018b). LED lighting systems have emerged as versatile tools in modern horticulture due to their efficiency, adaptability, and minimal ecological footprint (Massa et al., 2008; Monostori et al., 2018). Their capacity to deliver precise and tailored light spectra makes them well-suited for optimizing plant growth (Chen et al., 2017; Jones, 2018).

Light plays a central role in photosynthetic assimilation through photosynthetic active radiation (PAR 400-700 nm), but also in vegetative growth, stem elongation, and several physiological and developmental processes such as de-etiolation, germination, flowering, stomata opening, vascular development (Hogewoning et al., 2010; Islam et al., 2012; Fan et al., 2013b; Huché-Thélier et al., 2016; Zheng et al., 2018; Miller et al., 2023). These photomorphogenic responses are triggered by blue (B, 400-500 nm), red (R, 600-700 nm), green (G, 500-600 nm) and also far-red (FR, 700-780 nm) and UV lights (280-400 nm)

collectively designed as MAR (Morphogenic Active Radiations) (Leduc et al., 2014; Huché-Thélier et al., 2016; Park and Runkle, 2019). B and R light are essential for many growth and development processes in plants, particularly during shade avoidance syndrome (SAS) characterized by a reduction PAR, a depletion of B light and a low R/FR ratio (Franklin, 2008; Casal, 2013; Liu et al., 2021). Plants grown in these conditions exhibit adaptive growth responses, such as an increase in stem and petiole length to access light, reduction in stem thickness and vascular tissues, hyponastic leaf orientation, and early flowering and senescence (Franklin, 2008; Casal, 2013; Kutschera and Briggs, 2013; Liu et al., 2021). This growth is made possible through the regulation of cell wall extensibility by genes such as *expansins (EXP)*, *cellulose synthases (CESA)*, *polygalacturonases (PLG)*, *pectinases (PE)* and *xyloglucan endotransglycosylases/hydrolase (XET/XTH)* (Keuskamp et al., 2010; Pedmale et al., 2010; Sasidharan et al., 2010; Le Gall et al., 2015; Liu et al., 2021). But also, to the modulation of genes linked to secondary growth and vascular development such as *cell division cycle (CDC)*, *cinnamyl alcohol dehydrogenase (CAD)*, *xylogen protein (XYPI)*, *S-adenosyl-L-methionine synthetase (SAMS)* (Mellerowicz et al., 2001; Motose et al., 2004; Ma et al., 2014; Li et al., 2022b).

The effects of B light and a high R/FR ratio are increasingly recognized to influence various growth and developmental processes in horticultural plant species, although these responses exhibit high species-specificity and can even vary within a single species (Ouzounis et al., 2015b; Bantis et al., 2018a; Al Murad et al., 2021). The influence of B and R lights on photosynthesis parameters such as stomatal conductance, chlorophyll content, efficiency of photosystem II (PSII), are well-documented, and it is widely recognized that B light primarily governs stomatal movements, and therefore stomatal conductance (Hogewoning et al., 2010; Hernández and Kubota, 2016; Huché-Thélier et al., 2016; Ouzounis et al., 2016; Clavijo-Herrera et al., 2018; Matthews et al., 2020). However, it is important to note that prolonged exposure to monochromatic light, particularly R light, can have detrimental consequences on plant growth and development. Typically, plants are characterized by a reduction in quantum yield of PSII ( $\Phi_{PSII}$ ) which is often linked to photodamage to PSII, decreased photosynthetic capacity ( $A_{max}$ ), chlorophyll content and photosynthetic nitrogen use efficiency, and the absence of stomatal conductance response (Ouzounis et al., 2015b, 2016; Izzo et al., 2020; Landi et al., 2020). This phenomenon is referred to as “the red light syndrome” (Trouwborst et al., 2016). However, several studies have shown that B light can

reduce “red light syndrome” by stimulating the biosynthesis of photoprotective metabolites (Naznin et al., 2019; Izzo et al., 2020; Landi et al., 2020).

There is a growing trend in research focused on enriching light spectra by integrating R or B lights or using of photoselective filters absorbing and/or converting some wavelengths, with the aim of reducing undesirable effects on plant development, while targeting specific aspects of growth such as stem elongation (Groher et al., 2019; Kaiser et al., 2019; Garcia and Lopez, 2020; Li et al., 2020b; Hebert et al., 2022; Carmach et al., 2023). For example, an artificial solar background light supplemented by LED of B light, induced a significant reduction by half in the height of tomato (Kalaitzoglou et al., 2021). In natural conditions, the typical R/FR ratio approximates 1.0 (Demotes-Mainard et al., 2016). Thus, addition of R light or use of photoselective films filtering FR light, both inducing a high R/FR (e.g. 4) ratio inhibits extension growth in various ornamental species such as lisianthus, petunia, coleus, geranium and poinsettia (Clifford et al., 2004; Ilias and Rajapakse, 2005; Yamada et al., 2009; Gautam et al., 2015; Park and Runkle, 2019). However, the responses of plants to variations in light quality are intricate and multifaceted, influenced not only by the spectral composition but also by genotype, developmental stage, and other environmental variables (Hernández and Kubota, 2016). Indeed, a treatment of white light with a high R/FR ratio significantly reduced the leaf area and stem elongation of three of the four rose genotypes tested (Crespel et al., 2020). Still in the rose bush, a treatment composed of blue light leads to a reduction in the number of metameres and consequently a reduction in the length of the axis in one of the three cultivars tested (Abidi et al., 2013).

Light plays a pivotal role in the regulation of plant growth and intricately interacts with gibberellin (GA) metabolic and signaling pathway to modulate plant photomorphogenesis (Fukuda et al., 2016; Falcioni and Antunes, 2018; Teixeira, 2020). Some studies have shown that the reduction of stem elongation by blue light or a high R/FR ratio was associated with reduced levels of bioactive GAs, which is mediated by the repression of *GA3ox1* and *GA20ox*, both genes involved in GA biosynthesis, and by the induction of *GA2ox* which contribute to degradation of GA (Ubukawa et al., 2004; Foo et al., 2006; Zhao et al., 2007; Xu et al., 2021). Conversely, a low R/FR ratio induces the accumulation of GA and the increase in the expression of biosynthetic genes (Li et al., 2020a). Under monochromatic blue light, CRY1 photoreceptors inhibit the degradation of DELLA proteins, notably encoded by *GAI* (*Gibberellic Acid Insensitive*) genes, which in the presence of GA are

important repressors of GA-induced growth responses (Xu et al., 2021). Interestingly, commonly used PGRs in plants production such as daminozide, paclobutrazol, and chlormequat chloride, negatively regulate the GA biosynthesis pathway by repressing specifically biosynthesis-related genes (Rademacher, 2000, 2017).

*Hydrangea macrophylla* occupies a prominent position in the ornamental plant industry, distinguished by their captivating inflorescences and luxuriant foliage. When grown in pots, this ornamental species demands a precise control over its growth, especially over stem elongation, to achieve and maintain a desired compact plant architecture. Historically, chemical dwarfing agents, such as daminozide, have played a pivotal role in exerting this control in this species (Dilta et al., 2015). However, the gradual elimination of PGRs in production led us to search for an effective and ecologically sustainable alternative which consisted of the development of two light spectra enriched in blue (B-enr) or red (R-enr) light. We investigated the complex relationship between light signaling and the molecular mechanisms responsible for the reduction in stem elongation induced by both light treatments in two *Hydrangea macrophylla* cultivars ‘Wudu®’ and ‘Nanping®’. We also delved into the intricate relationship between light signaling and the molecular mechanisms responsible of the reduction in stem elongation induced by both light spectra. This encompassed the examination of genes involved in cell wall modification, in secondary growth and in the GA metabolic pathway. We also examined for the first time the effect of light on the expression of the gene *KNAT7* (*Knotted Arabidopsis Thaliana 7*) which can in some cases promote or repress secondary cell wall biosynthesis (Liu et al., 2015; He et al., 2018; Qin et al., 2020; Wang et al., 2020).

## MATERIAL AND METHODS

### Plant material

Two *Hydrangea macrophylla* cultivars ‘Wudu®’ and ‘Nanping®’ with distinct vigors (medium to strong for Wudu® and very strong for Nanping®) were multiplied vegetatively through micro-cuttings (Galopin et al., 1996) by Hortensia France (Rives-du-Loir-en-Anjou, France). Once the root system of the micro-cuttings had completely occupied the micro-plugs (Green Products, Jongkind substrate: 35% Swedish peat, 27.5% brown peat, 37.5% perlite), plants were transplanted into 10-cm diameter pots filled with a mixed

fertilized peat-coconut substrate (composition for 1 m<sup>3</sup>: 750 L peat, 250 L coconut fiber, 0.70 kg Pg-Mix Haifa 12-14-25, 0.3 kg microelements, 0.70 kg limestone, 1 kg dolomite lime, 5 kg clay). At the start of experiments, young plants displayed consistent uniformity in morphology, featuring 2 pairs of well-developed leaves emerging from a single unbranched stem which composed of two internodes. Stem length measured in average 1.4 cm for 'Wudu®' and 1.5 cm for 'Nanping®' (**Supplementary Figure 1**). Plants were placed within a growth chamber (Green Simplicity, GreenV) composed by 12 independent LED light modules (**Supplementary Figure 2**) and where environmental conditions were controlled: T° day/night: 23/20°C; RH: 80%; [CO<sub>2</sub>] day/night: 400/800 ppm. Plants were sub-irrigated twice a week using a nutrient solution (Angibaud-Solveveg® ALC 47; EC: 1.8 mS/cm; pH:6).

### **LED light treatments**

The experiments were conducted in a growth chamber (Green Simplicity) composed by 12 independent light-emitting diodes (LED) modules manufactured by Hortilux LED (**Supplementary Figure 1**). Before the start of the experiments, all plants were grown for an initial period of 3 weeks under a photoperiod of 16 h/day and a light spectrum with a PPFD (380-780 nm) of  $90 \pm 2 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  reconstituting the ratios found in natural conditions in spring in the early afternoon in Angers (**Figure 1**). At the beginning of the experiments, PPFD of all light conditions was adjusted to  $145 \pm 3 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ . Effects of two light spectra in comparison to natural-like spectrum (22% blue (B); 24% green (G); 30% red (R); 24% far red (FR), and R/FR 1.2; B/R 0.7; G/R 0.8) on *Hydrangea macrophylla* growth were conducted in the same growth chamber as above (**Supplementary Figure 1**). Light spectrum 1 (B-enr) was enriched with B and reduced in R, G and FR with R/FR 0.6; B/R 4.8; G/R 1.5. Light spectrum 2 (R-enr) was enriched with B and R and reduced in G and FR with R/FR 3.5; B/R 0.9; G/R 0.4 (**Figure 1**). LED were positioned at a height of 65 cm above the apex of the plants and PPFD of the different light conditions was measured at plant level using a spectrometer (Rainbow-Light, MR-16). A total of 35 plants per biological repeat, including 20 border plants and 15 plants in the center were analyzed after 3 weeks. Three biological repeats per light conditions were carried out.

### **Treatment with chemical growth retardant**

A comparative analysis of the dwarfing effects of both light treatments with that of daminozide (Dazide ENHANCE® 5g/L), the commonly used PGR in horticultural

production was carried out. The PGR-treated plants, referred to as PGR-treatment, were subjected to one single daminozide application at same developmental stage as the start of light treatments and grown hereafter in same growth chamber natural-like spectrum. Control plants (C-) that were not treated with daminozide were grown nearby under same natural-like spectrum. Each treatment group comprised a total of 35 plants and three biological replicates were analyzed per treatment.

### **Whole plant measurements**

Plant stem height was measured from the collar to the base of the apex using a ruler with an accuracy of 0.5 mm. These measurements were taken one day before the start of the light treatments and at the end of each experiment. Stem diameter at the collar was measured using a caliper with a precision of 0.01 mm at the end of each experiment. Measurements of stem height and diameter were realized on a total of 15 plants per biological replicate. The number of pairs of leaves and of internodes was also counted at the end of each experiment. At the end of a 3-weeks treatment, a selection of 5 plants at random was subjected to leaf scanning, and subsequently, their respective leaf areas were quantified utilizing ImageJ image processing software (version 1.52 p).

### **Physiological measurements**

Fluorescence measurements were performed with a FluorPen FP 110 fluorometer (Photon Systems Instruments). Measurement of the quantum yield of photosystem II ( $\Phi$ PSII) reflects the efficiency of  $\Phi$ PSII.  $\Phi$ PSII represents the  $F_v'/F_m'$  ratio in the light and the  $F_v/F_m$  ratio in the dark, where  $F_m$  is the maximum fluorescence intensity and  $F_v$ , the maximum variable fluorescence intensity (i.e.  $F_m - F_0$ ). Two successive measurements were carried out: the first was taken after a portion of the leaf had been placed in the dark for 10 minutes, and the second was taken immediately after on the leaf, on a portion of the leaf stayed in the light. Chlorophyll index was estimated with a Dualex<sup>TM</sup> (Force A, France) which use a transmittance ratio at two different wavelengths. One in the far red (approximately 700 nm) absorbed by chlorophyll, and one in the near infrared (approximately 800 nm) as a reference. Finally, stomatal conductance was performed with a SC-1 leaf porometer (METER) which measure the rate of passage of CO<sub>2</sub> or water vapor through the stomata. The different physiological parameters were measured on the abaxial surface of a leaf from the last pair of developed leaves, corresponding to the fourth pair of leaves, of *Hydrangea macrophylla* plants at the end of the 3-weeks light treatments. For

ΦPSII and chlorophyll index, measurements were performed on 10 randomly selected plants and for stomatal conductance, measurements were performed on 5 randomly selected plants. All measurements were performed at the beginning of the light period at 8 a.m. during the last day of a 3-weeks experiment.

### **Candidate genes in *Hydrangea macrophylla***

In a previous study, we identified nine genes involved in parietal modification, cell division, xylem differentiation and lignin and phenylpropanoid biosynthetic pathways in *Hydrangea macrophylla* (Ley-Ngardigal et al., 2023<sup>2</sup>). In this study, six new genes were identified by similarity comparison between *H. macrophylla* sequences and *Arabidopsis thaliana*, *Solanum lycopersicum*, *Populus trichocarpa*, *Camellia sinensis* and *Oryza sativa* protein sequences (all available on <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). These genes are involved in cell-wall modification: *HmEXPB2* ( $\beta$ -EXPANSINE 2), *HmKNAT7* (KNOTTED ARABIDOPSIS THALIANA 7), in GA anabolism: *HmGA2ox8* (GIBBERELLIN 2-OXIDASE 8), *HmGA20ox1* (GIBBERELLIN 20-OXIDASE 1), in GA catabolism: *HmGA3ox1* (GIBBERELLIN 3-OXIDASE 1) and GA signalization: *HmGAI* (GIBBERELIC ACID INSENSITIVE). Accession numbers for the sequences used in this research are accessible in the supplementary data (**Supplementary Figures 3-4**). Multiple sequence alignments were conducted with the default parameters of ClustalW, as implemented in the MEGAX® software (Kumar et al., 2018). To infer phylogenetic relationships, the Neighbor-Joining method described by Saitou and Nei (1987) was employed. The reliability of the phylogenetic trees was assessed through bootstrapping with 1000 replicates, using the MEGAX® software. Detailed phylogenetic trees can be found in the Supplementary Material section.

### **RNA extraction, cDNA synthesis and RT-qPCR**

After subjecting the plants to 3-weeks experience, whole stems of 5 plants per cultivar and per condition and for 3 biological replicates were collected. RNA extraction, cDNA synthesis and RT-qPCR have been realized as described by Ley-Ngardigal et al. (2023). Primers used in this study were designed based on the *Hydrangea macrophylla* ‘Aogashima-1’ genome (GCA\_013391905.1), which is accessible on NCBI

---

<sup>2</sup> Article en cours de relecture, cf. Chapitre 2, partie 2.

(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>; Nashima et al., 2021). Detailed primer sequences developed in this study are provided in the supplementary data (**Supplementary Table 1**).

### **Statistical analysis**

The data presented in the graphs and tables are represented as means ( $\pm$  s.e.) obtained from three independent biological replicates, with the number of plants per biological replicate specified in each graph and table. Statistical analyses were conducted using R Studio software version 2022.07.0. All statistical tests, including parametric ANOVA, as well as non-parametric Kruskal–Wallis and Wilcoxon–Mann–Whitney tests, were performed with a significance level ( $\alpha$ ) set at 0.05.

## **RESULTS**

### **B-enr and R-enr spectra reduce stem elongation and leaf area depending on the cultivar but have no impact on stem diameter in *Hydrangea macrophylla***

Both B-enr and R-enr treatments resulted in a significant and identical reduction in stem elongation in each *Hydrangea macrophylla* cultivars (**Figure 2A**). Following a 3-weeks exposure to these light treatments, stem height was notably decreased, with a 69% reduction observed for Wudu® and a 77% reduction for Nanping® plants when compared to the control group (C-) (**Figure 2A**). Interestingly, no significant differences were observed in the number of total phytomers produced in both cultivars between the light-treated and control (C-) plants (**Figure 2B**). These findings suggest that light spectra did not exert an influence on the organogenic activity of the shoot apical meristem (SAM) in both *Hydrangea* cultivars. These results highlight the capacity of B-enr and R-enr treatments to limit in the same way stem elongation in *Hydrangea macrophylla*, primarily by reducing internode elongation rather than inhibiting SAM organogenesis (**Figure 3**). Diameter of the most basal internode at the stem collar was measured at the end of the 3-weeks light treatment. Both light treatments, B-enr and R-enr, did not impact final diameter at the collar of the stem compared with the control (C-) (**Figure 2C**). Under B-enr treatment, a significant reduction (44%) of leaf expansion occurred in Nanping® in comparison to the control (C-) (**Figure 2D**). Conversely, R-enr treatment did not result in a similar reduction in leaf expansion for Nanping®. Additionally, it is important to highlight that neither of the light treatments exhibited any visible impact on leaf development in Wudu® plants.

### **B-enr and R-enr treatments positively regulate photosynthetic parameters**



Following a 3-weeks exposure to light treatments, there was a notable increase in chlorophyll index both cultivars. In Wudu® plants, both B-enr and R-enr treatments caused a 18% increase when compared to the control (C-) (**Figure 4A**). In Nanping®, the effect was more pronounced, with B-enr and R-enr treatments resulting in respective increases of 27% and 34% in chlorophyll index compared to the control (C-) (**Figure 4A**). R-enr treatment also impacted stomatal conductance in Nanping® with a 39% rise as compared to the control group (C-) (**Figure 4B**). Neither of the light treatments had a discernible effect on stomatal conductance in Wudu® plants (**Figure 4B**). Quantum yield of photosystem II ( $\Phi$ PSII) was also evaluated after 3 weeks of light treatments (**Figure 5**). B-enr treatment had no effect on the efficiency of PSII in both Nanping® and Wudu® plants compared to the control group (C-) (**Figure 5A**). Conversely, R-enr treatment caused a slight reduction in the  $\Phi$ PSII in light for both cultivars (**Figure 5B**). In Wudu® plants,  $\Phi$ PSII was reduced by 6% under illuminated condition in comparison to the control (C-) (**Figure 5A**). Similarly, a reduction of 6% and 2% was observed after R-enr treatment in Nanping® plants, respectively in both illuminated and dark conditions (**Figure 5B**). However, note that for the two cultivars, the  $F_v'/F_m'$  values were significantly lower than the  $F_v/F_m$  values in each condition.

#### **Effects of daminozide on growth of *Hydrangea macrophylla***

The application of the plant growth regulator (PGR) daminozide resulted in an expected pronounced reduction in stem elongation in both Wudu® and Nanping® plants, with 68% and 77% reductions, respectively (**Figure 2A**). As light treatment, PGR-treatment had no visible impact on SAM organogenic activity (**Figure 2B**). Interestingly, plants treated with PGR exhibited a smaller stem diameter at the collar compared to control plants (C-) after 3 weeks of experiment (**Figure 2C**). This reduction amounted to 11% in Wudu® plants and 6% in Nanping® plants. Furthermore, leaf expansion was notably reduced by 22% with PGR-treatment, but this effect was only observed in Wudu® plants (**Figure 2D**). Regarding physiological measurements such as chlorophyll index and stomatal conductance, PGR-treatment had no significant impact on these parameters in either Nanping® or Wudu® plants (**Figure 4**). In contrast, Wudu® plants subjected to chemical dwarfing exhibited a lower quantum yield of photosystem II ( $\Phi$ PSII) compared to control plants (C-). This reduction was observed under both illuminated and dark conditions, resulting in reductions of  $\Phi$ PSII by 12% and 6%, respectively (**Figure 5A**). In Nanping® plants, only a slight reduction (1%) in  $\Phi$ PSII under illuminated conditions was observed (**Figure 5B**).

### **Phylogenetic analysis of candidate genes in *Hydrangea macrophylla***

To decipher *H. macrophylla* responses to light and daminozide treatments, target genes expressions were analyzed in stems of treated plants. To do so, homologous sequences of target genes needed to be identified in *H. macrophylla*. To date, the only available *H. macrophylla* cv. 'Aogashima-1' genome sequenced by Nashima et al. (2021) is very poorly annotated. Sequence alignments with those of other plant species (*A. thaliana*, *S. lycopersicum*, *P. trichocarpa*, *C. sinensis* and *O. sativa*) and phylogenic analysis were therefore first required. For the purposes of this study, we identified 6 new sequences of *H. macrophylla* genes involved in cell wall modifications: *HmEXPB2* ( $\beta$ -EXPANSINE 2), *HmKNAT7* (KNOTTED ARABIDOPSIS THALIANA 7), in GA anabolism: *HmGA2ox8* (GIBBERELLIN 2-OXIDASE 8), *HmGA2ox1* (GIBBERELLIN 20-OXIDASE 1), in GA catabolism: *HmGA3ox1* (GIBBERELLIN 3-OXIDASE 1) and GA signalization: *HmGAI* (GIBBERELLIC ACID INSENSITIVE). Regarding *HmEXPB2*, this sequence had the greatest homology of sequences of *C. sinensis* and of *P. trichocarpa*, reaching 63% (Supplementary Figure 3). Other genes, such as *HmGAI*, demonstrate a maximum homology of 100% with *S. lycopersicum*, while *HmKNAT7* displayed the highest sequence similarity with homologous sequence of *A. thaliana* (87%) (Supplementary Figures 3-4). Results revealed that *Hydrangea* isoforms, including *HmGA2ox1*, *HmGA2ox8*, and *HmGA3ox1*, had particularly high sequence similarity, ranging from 99% to 100%, with *C. sinensis* gene sequences (Supplementary Figure 4).

### **Both light spectra and daminozide up-regulate cell wall-related genes, and repress genes involved in secondary growth**

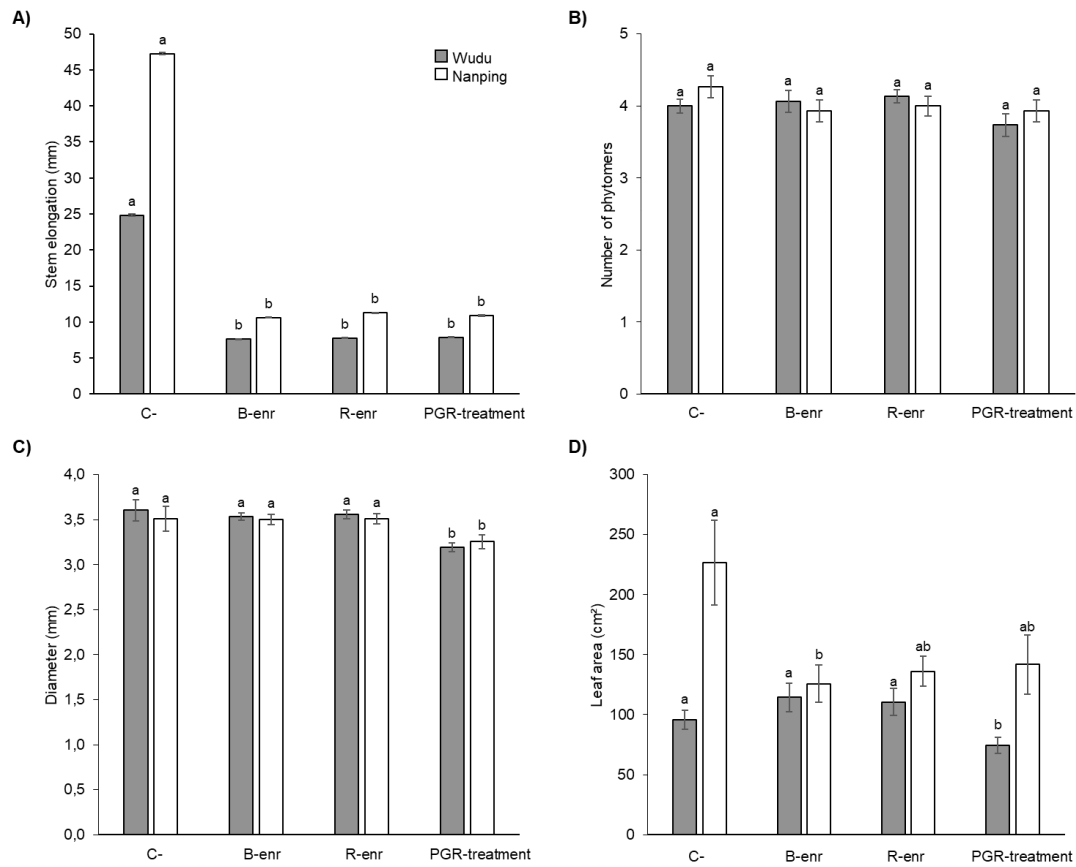
The effect of 3 weeks of B-enr and R-enr spectra as well as of daminozide on molecular control of *Hydrangea macrophylla* stem growth was investigated through real-time quantitative PCR analysis of 11 target genes. Both light spectra and daminozide treatments had quiet similar effects on these genes and in the two cultivars. In comparison to control (C-), they overall caused up-regulation of genes associated with cell wall modifications, excepted *HmEXPB3* being down-regulated, and repressed expressions of genes related to secondary growth processes (*HmXYPI*, *HmSAMS1*, and *HmCAD1*) and to cell division (*HmCDC23*) (Figure 6). Highest impact of these treatments was on xylogenesis with *HmXYPI* gene, and cell wall modification such as *HmEXPB3* and *HmKNAT7* genes.

### **B-enr and R-enr spectra affect gibberellins pathway in *Hydrangea macrophylla***

Expression analysis of four genes of the gibberellins (GA) metabolic pathway was also carried out (**Figure 7**). Among these genes, *HmGA20ox1* and *HmGA3ox1* play a central role in GA synthesis, with *HmGA3ox1* being responsible for the conversion of GA into its bioactive form. Conversely, *HmGA2ox8* is involved in the degradation of bioactive GA, while *HmGAI* mediates GA signaling pathways. As previously, light and daminozide treatments had similar impact on these genes. Both light spectra and daminozide treatments repressed *HmGA20ox1* and *HmGAI* and promoted expression of *HmGA3ox1* and of *HmGA2ox8*. Intensity of GA genes responses to daminozide was similar in both cultivars. Under both light treatments however, GA gene regulation was less intense in Wudu® cultivar than in Nanping®.

	Natural-like spectrum	Light spectrum 1 B-enr	Light spectrum 2 R-enr		Natural-like spectrum	Light spectrum 1 B-enr	Light spectrum 2 R-enr
	Proportion of wavelength				Light ratios		
<b>Blue</b> (400-499 nm)	22%	53%	35%	R/FR	1.2	0.6	3.5
<b>Green</b> (500-599 nm)	24%	17%	15%	B/R	0.7	4.8	0.9
<b>Red</b> (600-700 nm)	30%	11%	39%	G/R	0.8	1.5	0.4
<b>Far red</b> (701-780 nm)	24%	19%	11%	<b>Total PPFD [380-780 nm]</b>	90 and 145 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$	145 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$	

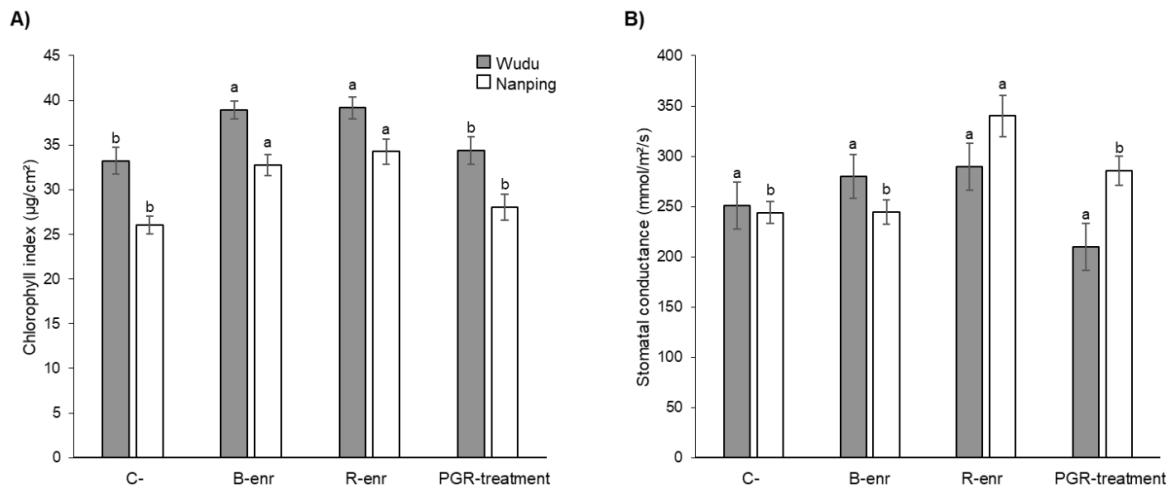
**Figure 1.** Spectral distribution and light proportions of light-emitting diodes (LED) light conditions used in growth chamber. Young plants of *Hydrangea macrophylla* cv. ‘Wudu®’ and ‘Nanping®’ were first grown under the natural condition with a photon flux density (PPFD: 380-780 nm) of  $90 \pm 2 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  for 3 weeks. At the beginning of the experiment, PPFD of three lighting conditions was adjusted at  $145 \pm 3 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  for 3 weeks. The PPFD of the different light conditions was measured using a spectrometer (Rainbow-Light, MR-16).



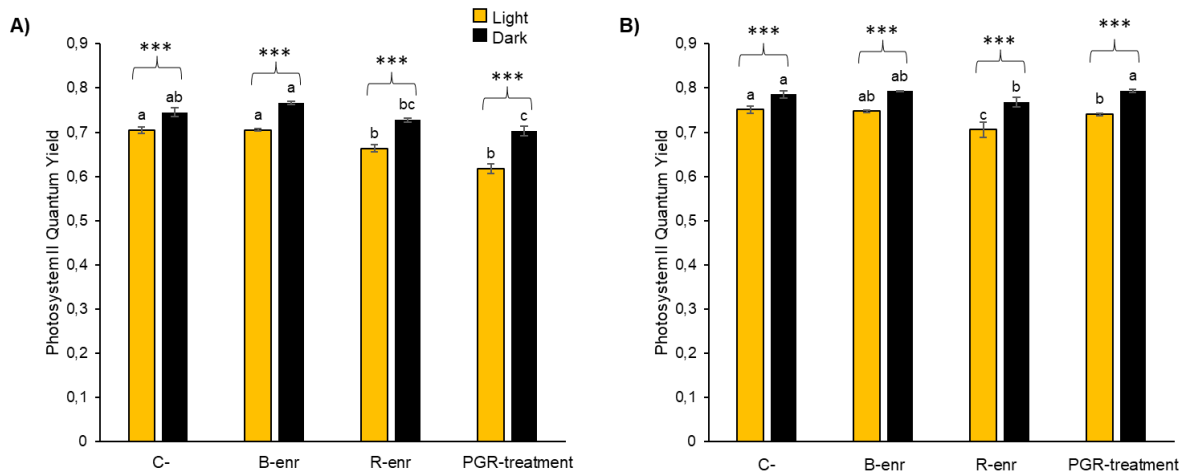
**Figure 2.** Effect of LED light treatments on stem elongation and leaf development of *Hydrangea macrophylla* cultivars ‘Wudu®’ (grey bars) and ‘Nanping®’ (white bars) compared with control (C-) and PGR-treated plants. (A) Stem elongation and (B) total number of phytomers at the end of the 3-weeks experiment. (C) Diameter of basal internodes and (D) total leaf area per plant at the end of the experiment. Data are means of 3 biological independent replicates of 15 (A-C) or 5 plants (D)  $\pm$  s.e. Letters indicate significant differences between different conditions for each cultivar after (A-C) Kruskal–Wallis non-parametric test and (D) Wilcoxon–Mann–Whitney non-parametric test ( $P < 0.05$ ).



**Figure 3.** Effect of LED light treatments and PGR-treatment in *Hydrangea macrophylla* cv. 'Wudu®' and 'Nanping®' at the end of 3-weeks of experiment.

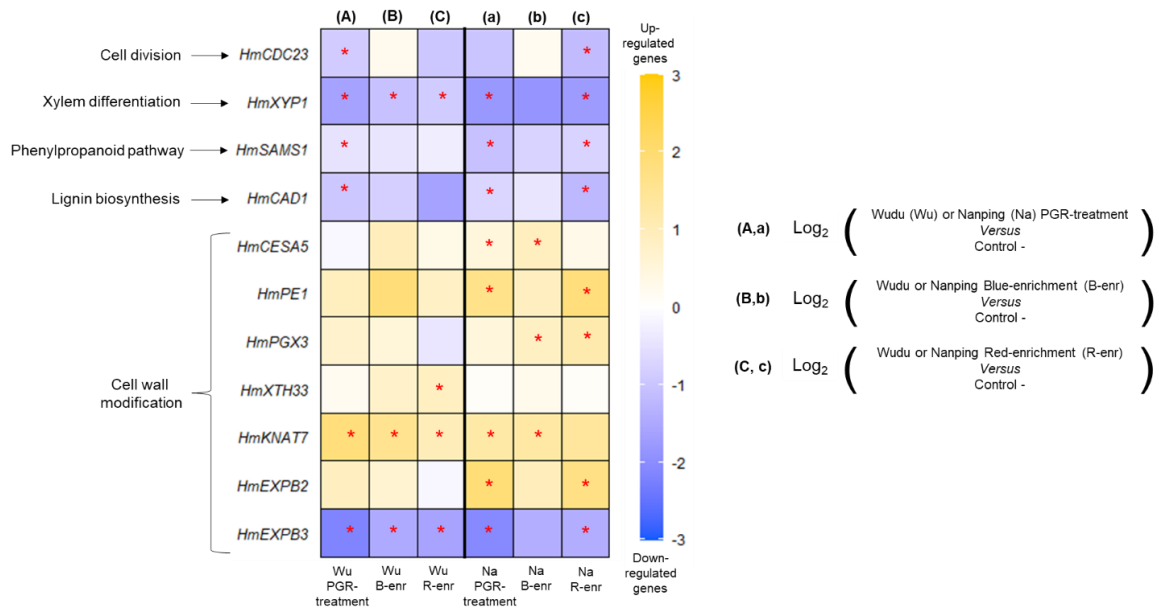


**Figure 4.** Effect of LED light treatments on physiological parameters of *Hydrangea macrophylla* cultivars ‘Wudu®’ (grey bars) and ‘Nanping®’ (white bars) compared with control (C-) and PGR-treated plants. (A) Chlorophyll index and (B) stomatal conductance at the end of the 3-weeks experiment. Data are means of 3 biological independent replicates of 10 (A) or 5 plants (B) ± s.e. Letters indicate significant differences between different conditions for each cultivar after (A) Kruskal–Wallis non-parametric test and (B) ANOVA parametric test ( $P < 0.05$ ).

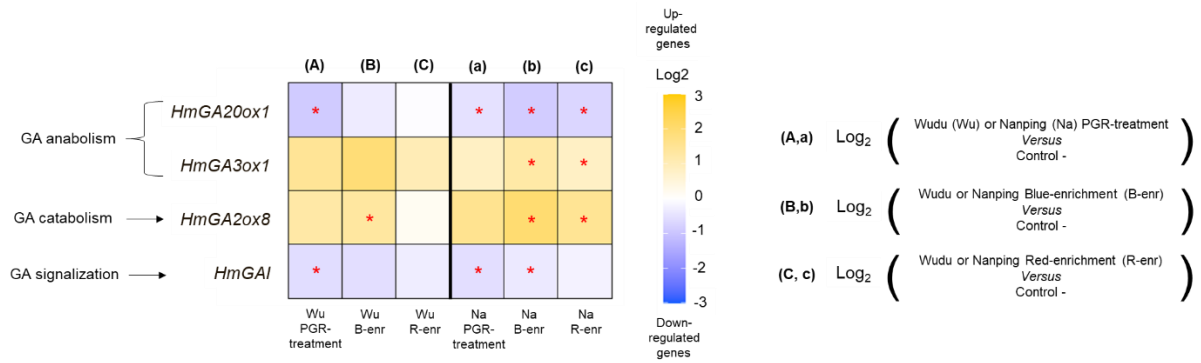


**Figure 5.** Effect of LED light treatments on efficiency of photosystem II in *Hydrangea macrophylla* compared to control (C-) and PGR-treated plants. Maximum quantum yield of photosystem II in (A) ‘Wudu®’ and (B) ‘Nanping®’ plants were measured in light (yellow bars) and dark (black bars) conditions. Data are means of 3 biological independent replicates of 10 plants  $\pm$  s.e. Letters indicate significant differences between different conditions measured in light or darkness after Kruskal–Wallis non-parametric test ( $P < 0.05$ ). Asterisks indicate significant differences between the values measured in light and darkness for each condition after Wilcoxon–Mann–Whitney non-parametric test ( $P < 0.05$ ).





**Figure 6.** Effect of LED light treatments on transcript accumulations of 11 target genes in *Hydrangea macrophylla* stems. From top to bottom: *HmCDC23* (CELL DIVISION CYCLE 23); *HmXYP1* (XYLOGEN PROTEIN 1); *HmSAMS1* (S-ADENOSYL-L-METHIONINE SYNTHETASE 1); *HmCAD1* (CINNAMYL ALCOHOL DEHYDROGENASE 1); *HmCESA5* (CELLULOSE SYNTHASE 5); *HmPE1* (PECTINE ESTERASE 1); *HmPGX3* (POLYGALACTURONASE INVOLVED IN EXPANSION 3); *HmXTH33* (XYLOGLUCAN: XYLOGLUCOSYL TRANSFERASE 33); *HmKNAT7* (KNOTTED-LIKE HOMEBOX OF ARABIDOPSIS THALIANA 7); *HmEXPB2* ( $\beta$ -EXPANSINE 2); *HmEXPB3* ( $\beta$ -EXPANSINE 3). RT-qPCR data used to build the heatmap are available as **Supplemental Material**. Data are means of  $n = 3$  biological independent replicates  $\pm$  s.e. Asterisks indicate significant differences between one treatment (B-enr, R-enr or PGR-treatment) and natural-like condition (control C-) after Wilcoxon–Mann–Whitney non-parametric test ( $P < 0.05$ ).



**Figure 7.** Effect of LED light treatments on transcript accumulations of 4 gibberellins (GA)-related genes in *Hydrangea macrophylla* stems. From top to bottom: *HmGA20ox1* (*GIBBERELLIN 20-OXIDASE 1*); *GA3ox1* (*GIBBERELLIN 3-OXIDASE 1*); *HmGA2ox8* (*GIBBERELLIN 2-OXIDASE 8*); *HmGAI* (*GIBBERELLIC ACID INSENSITIVE*). RT-qPCR data used to build the heatmap are available as **Supplemental Material**. Data are means of  $n = 3$  biological independent replicates  $\pm$  s.e. Asterisks indicate significant differences between one treatment (B-enr, R-enr or PGR-treatment) and natural-like condition (control C-) after Wilcoxon–Mann–Whitney non-parametric test ( $P < 0.05$ ).

## DISCUSSION

For the first time, the effect of light treatments on the growth and molecular regulation of *Hydrangea macrophylla* was investigated. Relative proportions of B, R, FR wavelengths known to impact photomorphogenesis in plants and in particular stem growth were modulated to produce two different light spectra (**Figure 1**). One of the notable findings of this study is the strong reduction in stem elongation obtained following exposure to both light spectra. Moreover, reduction was as high as that obtained after daminozide treatment and similar in medium-vigor Wudu® and strong-vigor Nanping® cultivars. These results open the way to the elaboration of an efficient, eco-friendly alternative to chemical dwarfing in *H. macrophylla*.

Intriguingly, increasing the proportions of B and R light in B-enr and R-enr spectra caused a similar reduction in stem elongation in both cultivars of *H. macrophylla* (**Figure 3**). However, research by Li et al. (2022) revealed an opposite result, showing that enriching of white light with R light stimulated wheat stem elongation more than adding B light, 13 days after the start of the experiment. Surprisingly, the effects of these two light treatments were comparable 40 days after the start of the experiment. These authors suggested that this temporal response could be related to the growth stage of wheat or to an acclimation response to light conditions. Taken together, these results show that the response to light is complex and can be influenced by multiple factors, such as plant type, growth stage, and duration of light exposure. Interestingly, B-enr and R-enr treatments did not increase or decrease the final diameter of the stems in the two *Hydrangea* cultivars. Conversely, a blue light treatment induced a reduction in stem diameter in three rose cultivars (Abidi et al., 2013). Overall, this reinforces the idea that plant response to light treatments is highly related to genotype, highlighting the need to conduct trials on genotypes for which growth control is being considered before considering light as an alternative to PGRs.

In addition, our study also showed variability in responses between both cultivars, with the B-enr treatment resulting in a reduction in total leaf area only in Nanping®. Several studies have shown that the response of plants to changes in light quality can vary from one cultivar to another within the same species (Ouzounis et al., 2016; Zheng et al., 2018; Nissim-Levi et al., 2019). However, in some species, the addition of B light contributes to the reduction of the surface area of the leaves (Kaiser et al., 2019; Kalaitzoglou et al., 2021).

Numerous photobiological studies have shown the effect of light quality, particularly of B and R lights, on relative chlorophyll content, stomatal conductance and PSII quantum yield, modulating photosynthesis and consequently the increase in crop yield or quality (Fan et al., 2013a; Ouzounis et al., 2015a, 2016; Trouwborst et al., 2016; He et al., 2017; Izzo et al., 2020; Kalaitzoglou et al., 2021). In our study, both B-enr and R-enr treatments significantly increased the chlorophyll index in Wudu® and Nanping® plants (**Figure 4A**). These results corroborate with the work of Son and Oh (2013) who showed that increasing chlorophyll content in lettuce which cultivated in conditions comprising more B light or R light compared to those cultivated under white light condition. Furthermore, increased chlorophyll concentration is generally associated with reduced GA content (Biemelt et al., 2004). This could partially explain the reduction in stem elongation observed in the two *Hydrangea* cultivars. Also, no negative impact of our light treatment was observed on stomatal conductance, suggesting that gas exchanges allowing photosynthesis are taking place correctly.

Concerning the last photosynthetic parameter measured, it is widely acknowledged that the photosystem II efficiency ( $\Phi$ PSII) (expressed as Fv/Fm) approaches approximately 0.83 in the dark under optimal conditions, indicating the plant's good health (Björkman and Demmig, 1987; Baker, 2008). The Fv/Fm ratio is particularly sensitive and is the most reliable indicator to indicate a state of stress (Sheng et al., 2008). A value of Fv'/Fm' in light condition lower than that of the Fv/Fm ratio indicates a state of stress. In all our condition, even in the control condition (C-), we observed a decreased of Fv'/Fm' which seems more associated with our environmental conditions than with a stressful condition. However, B-enr treatment had no significative impact on  $\Phi$ PSII in Wudu® and Nanping® plants while R-enr treatment caused a minor decrease in the  $\Phi$ PSII in both cultivars which does not appear to have had a negative impact on the development and growth of these plants. Overall, the limited effect of the two light spectra on these parameters suggest that they could be applied as alternative dwarfing treatment on the long term with no negative impact on *H. macrophylla* photosynthetic activity.

Our molecular study of target genes brings some insight on the regulatory pathway of the light treatments and daminozide effect. Since no reduction in final stem diameter is observed under the both light treatments, the reduced expression of genes associated with xylem differentiation (*HmXYP1*) and metabolic pathways responsible for lignin synthesis

(*HmSAMS1* and *HmCAD1*) may reflect the lesser amount of primary xylem produced by stems the primary growth of which being repressed by the light treatments (**Figures 2A; 2C; 6**). These findings may also align with the down-regulation of *HmGA20ox1*, which is involved in GA synthesis, and the up-regulation of *HmGA2ox8*, responsible for GA degradation (**Figure 7**). Indeed, positive control of GA over lignin synthesis and xylem differentiation was demonstrated in *Nicotiana tabacum*, overexpressing *AtGA20ox* (Biemelt et al., 2004). Moreover, GA serves as the primary hormone governing both cell division and elongation in plants (Yamaguchi, 2008). As reported by Xu et al. (2021), B light act on GA signaling by preventing degradation of DELLA proteins, which are repressor of GA-mediated responses. Whether our light treatments promoted DELLA proteins accumulation in *H. macrophylla* stems in turn down-regulating *HmGAI* should be examined further (**Figure 7**). Taken together, these findings support our results, suggesting that the reduced stem elongation in *H. macrophylla* is mediated by the down-regulation of *HmGA20ox1* and *HmGAI*, coupled with the up-regulation of *HmGA2ox8* (**Figure 7**) in B-enr and R-enr treatments.

Finally, the up-regulation of *HmGA3ox1* observed in response to both B-enr and R-enr treatments may be associated with the expression of genes involved in cell wall modification (**Figure 7**). Indeed, the presence of GA in *Oryza sativa* led to the up-regulation of genes encoding proteins like *CESA*, *XTH*, and *EXP*, which are instrumental in parietal modifications (Lee and Kende, 2001; Huang et al., 2016). Similarly, research conducted in *Brassica rapa* has demonstrated that genes encoding *EXPB2* and *EXPB3* were up-regulated under B and R monochromatic lights (Muthusamy et al., 2020). In our study, we observed an up-regulation of *HmEXPB2*, whereas *HmEXPB3* was significantly down-regulated in plants subjected to B-enr and R-enr treatments compared to those exposed to an artificial solar spectrum.

Furthermore, the up-regulation of *HmKNAT7* in response to blue- and red-light treatments in *Hydrangea* shows that light quality also influences the expression of this gene. Indeed, the precise role of *KNAT7* remains somewhat elusive since it promotes or represses secondary growth (Liu et al., 2015; Qin et al., 2020; Wang et al., 2020). Additionally, *KNAT7* was found to have a positive impact on the biosynthesis of xylan, a crucial component of hemicellulose in cell wall (He et al., 2018). Thus, our results seem to indicate that in *Hydrangea*, the *KNAT7* gene participates in the restructuring of cell walls in

elongating stems. Further research and experiments are necessary to understand the precise regulatory mechanisms of *KNAT7* in the dynamics of cell wall synthesis and in particular the effect of light quality on the regulation of its expression.

Our investigation revealed that both light treatments exhibited comparable effectiveness to daminozide (PGR-treatment) in regulating stem elongation in both *H. macrophylla* cultivars (**Figures 2A; 3**). This observation is consistent with the expression patterns of target genes in chemically dwarf plants, which resembled those observed in plants subjected to B-enr and R-enr treatments (**Figures 6-7**). In both cultivars dwarfed plants, the majority of secondary growth-related genes exhibited a significant down-regulation, while genes associated with cell wall development were significantly up-regulated. These results support findings made in studies with pomegranate seedlings, where researchers demonstrated that daminozide significantly repressed genes associated with cell wall modification (Qian et al., 2022). Moreover, concerning genes involved in GA pathway, the gene expression pattern was also similar between PGR-treated plants and those exposed to light treatments. However, surprisingly daminozide treatment did not repress *GA3ox* gene expression as it was thought to do (Brown et al., 1997; Rademacher, 2000). Perhaps we did not study the right isoform and that the one we analyzed participates in the homeostasis of GA contents. However, when we evaluated physiological parameters, we found that PGR-treatment generally resulted in a reduction in chlorophyll index, stomatal conductance, and PSII efficiency (**Figures 4-5**). These results suggest that daminozide negatively impacts photosynthetic processes, potentially explaining the slow growth and dwarf phenotype typically observed in treated plants. Furthermore, our results also indicated that PGR-treatment caused a reduction in final stem diameter, a phenomenon not observed in plants exposed to B-enr and R-enr treatments (**Figure 2C**). This indicates that the two light treatments and daminozide do not regulate the cellular and molecular mechanisms linked to secondary growth in the same way.

The production of low vigor plants due to the reduction in stem diameter observed in plants treated with plant growth regulators (PGR) is not desirable in the ornamental horticulture industry as it increases the risk of losses during the different phases of transplantation (Latimer, 1991; Bergstrand, 2017).

The objective of obtaining plants with compromised health is not a favorable pursuit within the ornamental plant industry. This is because such plants impose an increased burden on

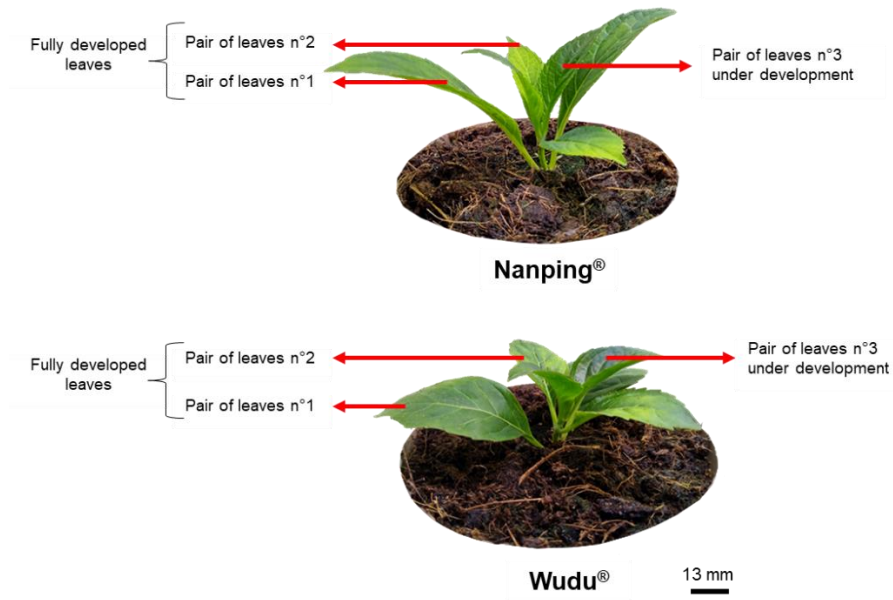
growers. They tend to be more susceptible to diseases owing to their low photosynthetic efficiency, and they exhibit a stronger vulnerability during various transplanting stages. Thus, our study suggests that B-enr and R-enr treatments hold great promise as potential replacements, in whole or in part, for chemical dwarfing treatments in *Hydrangea* production.

In summary, this study provides a better understanding of the complex regulatory mechanisms governing the growth and development of *Hydrangea macrophylla* cv. 'Wudu®' and 'Nanping®'. The results highlight the powerful inhibitory effects of enrichment of B and R lights on stem elongation, and their positive effects on the efficiency of photosynthetic processes in *Hydrangea*. Furthermore, our results highlight those light spectra used here and daminozide acts through regulation of some common molecular targets. Further research is needed to elucidate the molecular mechanisms underlying these responses and their potential applications in the horticultural industry.

**SUPPLEMENTARY MATERIAL**

Les tableaux supplémentaires se trouvent en Annexes.

**Supplementary Figures**

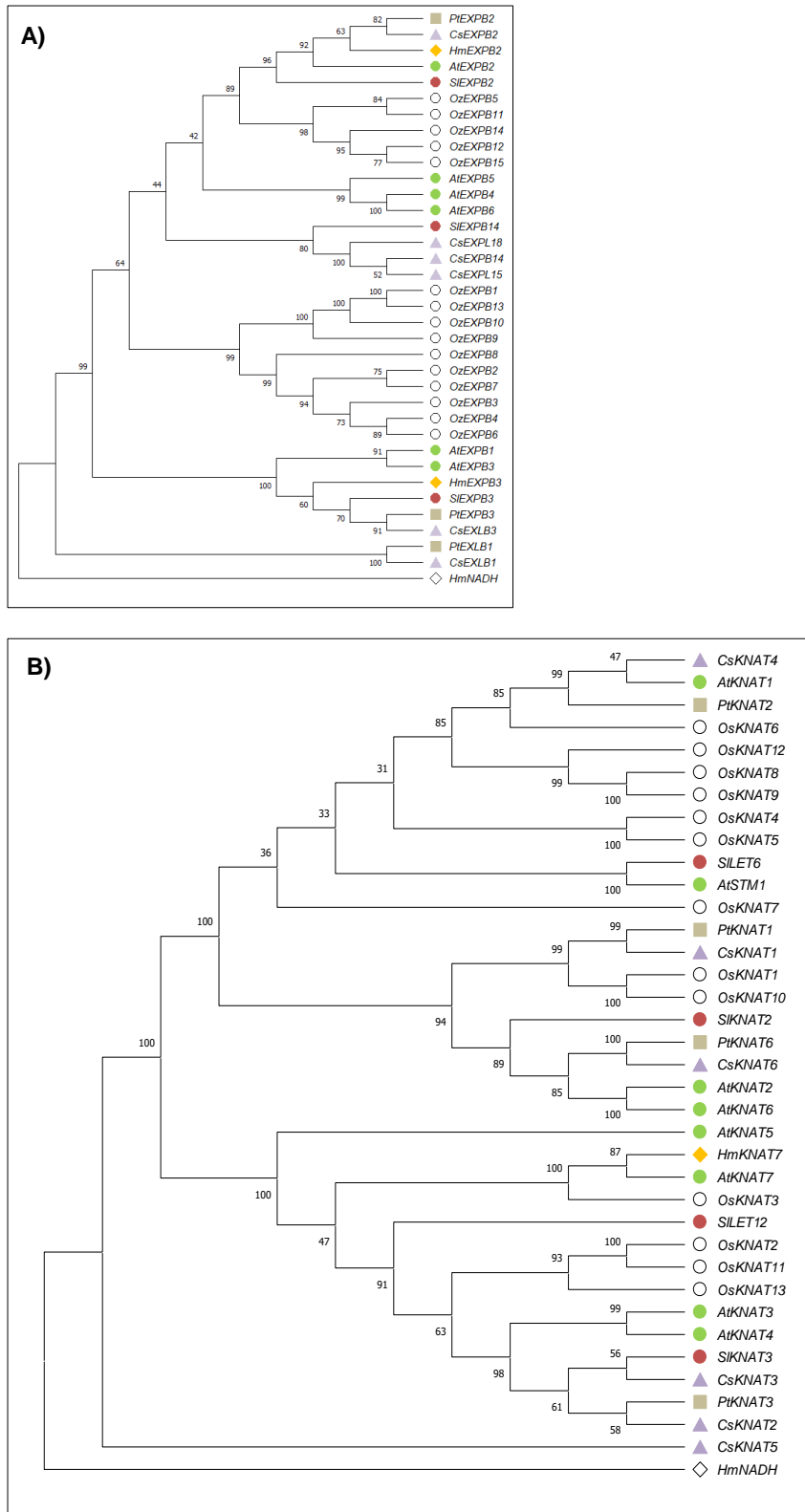


**Supplementary Figure 1.** Young *Hydrangea macrophylla* cv. 'Wudu®' and 'Nanping®' plant at the beginning of the experiment.

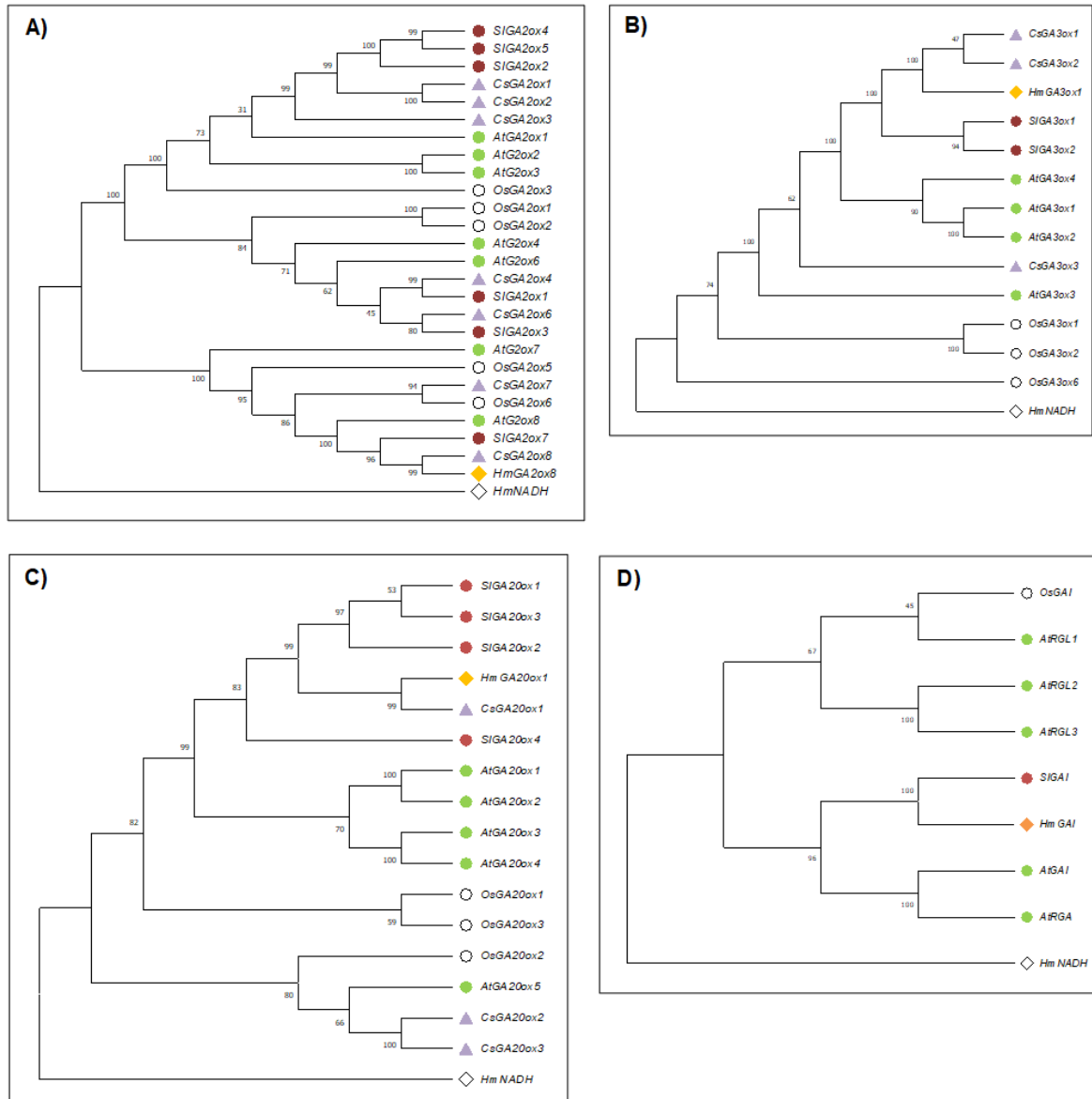




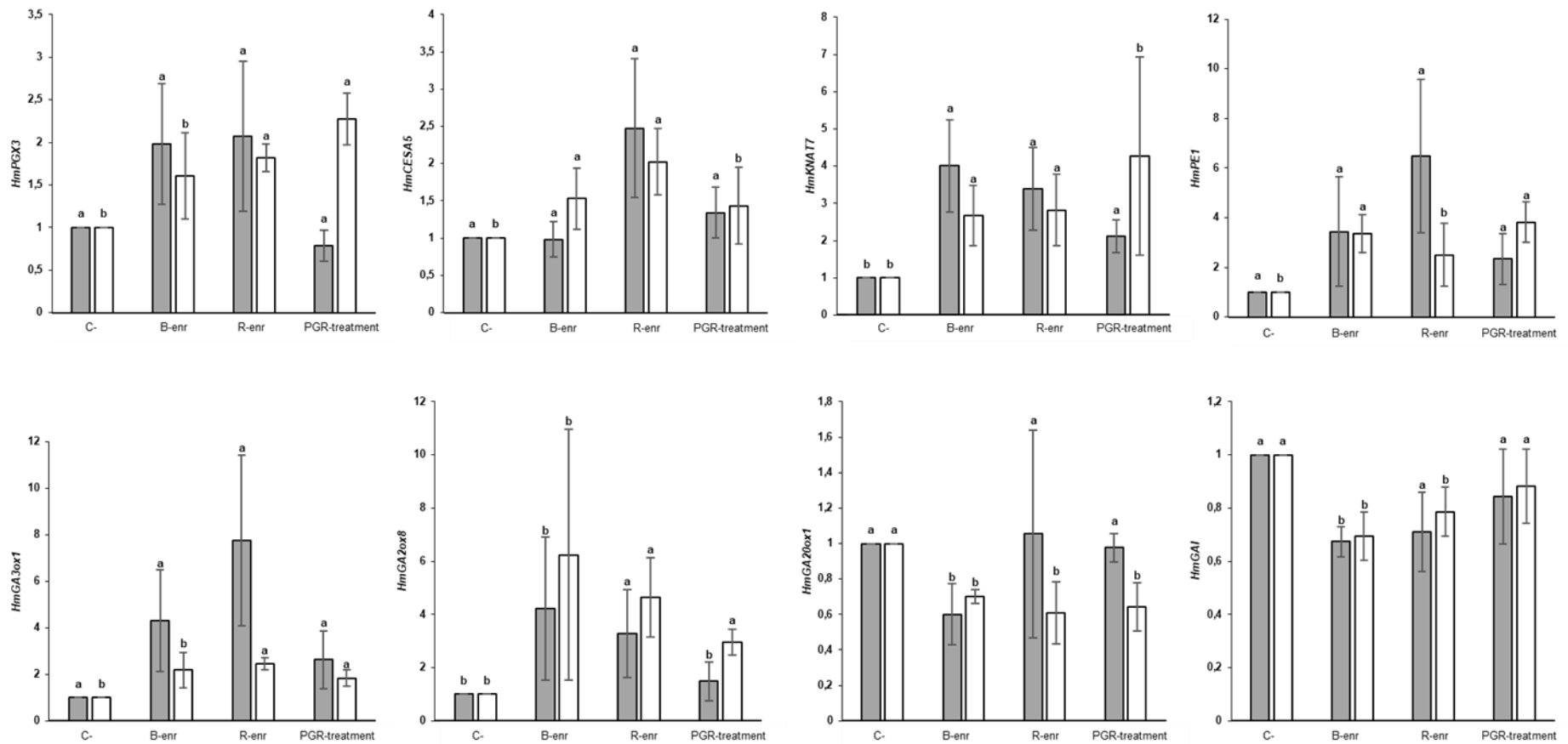
**Supplementary Figure 2.** Growth chamber (Green Simplicity) used for experimental purposes installed in Hortensia France company. This growth chamber contains several independent LED light modules. Environmental conditions (temperature, relative humidity, CO<sub>2</sub> levels, irrigation) were the same for all modules. Photoperiod, light quality and quantity are controlled independently for each module.



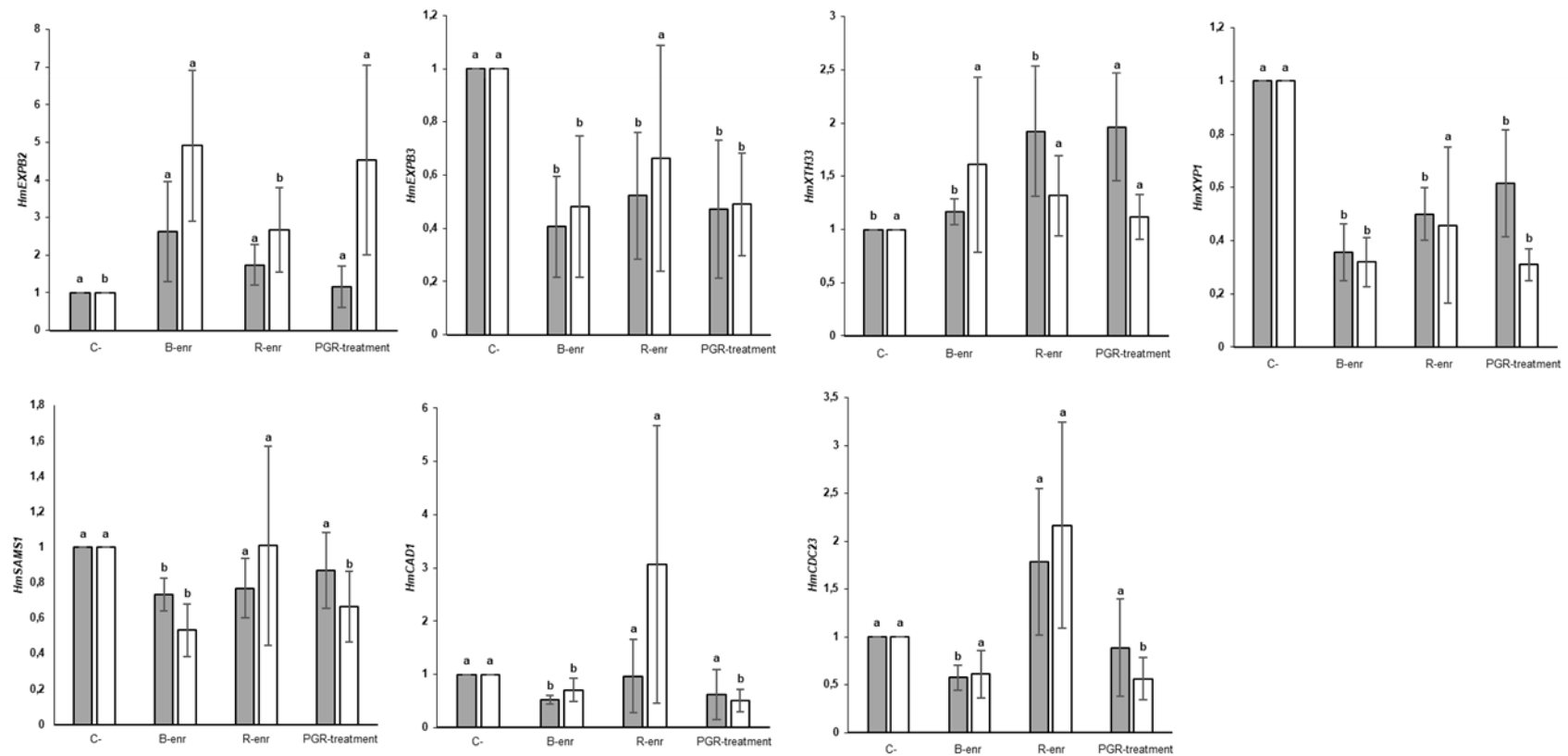
**Supplementary Figure 3.** Phylogenetic trees of **(A)** EXP and **(B)** KNAT7 homologs in *H. macrophylla*, *A. thaliana*, *S. lycopersicum*, *C. sinensis*, *P. trichocarpa* and *O. sativa*. EXPB ( $\beta$ -EXPANSINE); EXLB ( $\beta$ -EXPANSINE-LIKE); KNAT (*KNOTTED ARABIDOPSIS THALIANA*). The percentage of replicate trees in which the associated taxa clustered together in the bootstrap test (1000 replicates) are shown next to the branches.



**Supplementary Figure 4.** Phylogenetic trees of (A) GA2ox, (B) GA3ox, (C) GA20ox and (D) GAI homologs in *H. macrophylla*, *A. thaliana*, *S. lycopersicum*, *C. sinensis*, *P. trichocarpa* and *O. sativa*. GA2ox (GIBBERELLIN 2-OXIDASE); GA3ox (GIBBERELLIN 3-OXIDASE); GA20ox (GIBBERELLIN 20-OXIDASE); GAI (GIBBERELLIC ACID INSENSITIVE). The percentage of replicate trees in which the associated taxa clustered together in the bootstrap test (1000 replicates) are shown next to the branches.



**Supplementary Figure 5.** Effect of LED light treatments on expression levels of 8 target genes in the stems of *Hydrangea macrophylla* cultivars 'Wudu®' (grey bars) and 'Nanping®' (white bars) compared with control (C-) and PGR-treated plants. Expression levels of genes were determined through RT-qPCR. Data are means of n = 3 biological independent replicates ± s.e. The asterisks indicate significant differences after Wilcoxon–Mann–Whitney non-parametric test (P < 0.05).



**Supplementary Figure 6.** Effect of LED light treatments on expression levels of 7 target genes in the stems of *Hydrangea macrophylla* cultivars ‘Wudu®’ (grey bars) and ‘Nanping®’ (white bars) compared with control (C-) and PGR-treated plants. Expression levels of genes were determined through RT-qPCR. Data are means of n = 3 biological independent replicates ± s.e. The asterisks indicate significant differences after Wilcoxon–Mann–Whitney non-parametric test (P < 0.05).

## REFERENCES

- Abidi, F., Douillet, O., Guillemain, G., Sintès, G., Huché-Théliier, L., Girault, T., et al. (2013). Ros Development Under Blue Light Environment: Behaviour Of Three Cultivars Of Rose Bushes. *Acta Hortic.*, 129–134. doi: 10.17660/ActaHortic.2013.990.13.
- Al Murad, M., Razi, K., Jeong, B. R., Samy, P. M. A., and Muneer, S. (2021). Light Emitting Diodes (LEDs) as Agricultural Lighting: Impact and Its Potential on Improving Physiology, Flowering, and Secondary Metabolites of Crops. *Sustainability* 13, 1985. doi: 10.3390/su13041985.
- Andersen, A. S., and Andersen, L. (2000). Growth regulation as a necessary prerequisite for introduction of new plants. *Acta Hortic.*, 183–192. doi: 10.17660/ActaHortic.2000.541.26.
- Baker, N. R. (2008). Chlorophyll Fluorescence: A Probe of Photosynthesis In Vivo. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59, 89–113. doi: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092759.
- Bantis, F., Karamanoli, K., Ainalidou, A., Radoglou, K., and Constantinidou, H.-I. A. (2018a). Light emitting diodes (LEDs) affect morphological, physiological and phytochemical characteristics of pomegranate seedlings. *Sci. Hortic.* 234, 267–274. doi: 10.1016/j.scienta.2018.02.065.
- Bantis, F., Smirnakou, S., Ouzounis, T., Koukounaras, A., Ntagkas, N., and Radoglou, K. (2018b). Current status and recent achievements in the field of horticulture with the use of light-emitting diodes (LEDs). *Sci. Hortic.* 235, 437–451. doi: 10.1016/j.scienta.2018.02.058.
- Bergstrand, K.-J. I. (2017). Methods for growth regulation of greenhouse produced ornamental pot- and bedding plants – a current review. *Folia Hortic.* 29, 63–74. doi: 10.1515/fhort-2017-0007.
- Biemelt, S., Tschiersch, H., and Sonnewald, U. (2004). Impact of Altered Gibberellin Metabolism on Biomass Accumulation, Lignin Biosynthesis, and Photosynthesis in Transgenic Tobacco Plants. *Plant Physiol.* 135, 254–265. doi: 10.1104/pp.103.036988.
- Björkman, O., and Demmig, B. (1987). Photon yield of O<sub>2</sub> evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Planta* 170, 489–504. doi: 10.1007/BF00402983.
- Boumaza, R., Huché-Théliier, L., Demotes-Mainard, S., Coz, E. L., Leduc, N., Pelleschi-Travier, S., et al. (2010). Sensory profiles and preference analysis in ornamental horticulture: The case of the rosebush. *Food Qual. Prefer.* 21, 987–997. doi: 10.1016/j.foodqual.2010.05.003.
- Brown, C. M., Kawaide, H., Yang, Y. Y., Rademacher, W., and Kamiya, Y. eds. (1997). Daminozide and prohexadione have similar modes of action as inhibitors of the late stages of gibberellin metabolism. *Physiol. Plant.* 101, 309–313.

- Carmach, C., Castro, M., Peñaloza, P., Guzmán, L., Marchant, M. J., Valdebenito, S., et al. (2023). Positive Effect of Green Photo-Selective Filter on Graft Union Formation in Tomatoes. *Plants* 12, 3402. doi: 10.3390/plants12193402.
- Casal, J. J. (2013). Photoreceptor Signaling Networks in Plant Responses to Shade. *Annu. Rev. Plant Biol.* 64, 403–427. doi: 10.1146/annurev-arplant-050312-120221.
- Chen, X., Yang, Q., Song, W., Wang, L., Guo, W., and Xue, X. (2017). Growth and nutritional properties of lettuce affected by different alternating intervals of red and blue LED irradiation. *Sci. Hortic.* 223, 44–52. doi: 10.1016/j.scienta.2017.04.037.
- Clavijo-Herrera, J., Van Santen, E., and Gómez, C. (2018). Growth, Water-Use Efficiency, Stomatal Conductance, and Nitrogen Uptake of Two Lettuce Cultivars Grown under Different Percentages of Blue and Red Light. *Horticulturae* 4, 16. doi: 10.3390/horticulturae4030016.
- Clifford, S. C., Runkle, E. S., Langton, F. A., Mead, A., Foster, S. A., Pearson, S., et al. (2004). Height Control of Poinsettia Using Photosensitive Filters. *HortScience* 39, 383–387. doi: 10.21273/HORTSCI.39.2.383.
- Crespel, L., Le Bras, C., Amoroso, T., Unda Ulloa, M. G., Morel, P., and Sakr, S. (2020). Genotype × Light Quality Interaction on Rose Architecture. *Agronomy* 10, 913. doi: 10.3390/agronomy10060913.
- Demotes-Mainard, S., Péron, T., Corot, A., Bertheloot, J., Le Gourrierc, J., Pelleschi-Travier, S., et al. (2016). Plant responses to red and far-red lights, applications in horticulture. *Environ. Exp. Bot.* 121, 4–21. doi: 10.1016/j.envexpbot.2015.05.010.
- Dilta, B., Latpate, M., Gupta, Y., Sharma, B., Negi, N., and Kaushal, S. (2015). Influence of growing media and daminozide on growth, flowering and pot presentability of *Hydrangea macrophylla* Thunb. *Int. J. Farm Sci.* 5, 111–118.
- Falcioni, R., and Antunes, W. C. (2018). Increased Gibberellins and Light Levels Promotes Cell Wall Thickness and Enhance Lignin Deposition in Xylem Fibers. *Front. Plant Sci.* 9, 13.
- Fan, X., Zang, J., Xu, Z., Guo, S., Jiao, X., Liu, X., et al. (2013a). Effects of different light quality on growth, chlorophyll concentration and chlorophyll biosynthesis precursors of non-heading Chinese cabbage (*Brassica campestris* L.). *Acta Physiol. Plant.* 35, 2721–2726. doi: 10.1007/s11738-013-1304-z.
- Fan, X.-X., Xu, Z.-G., Liu, X.-Y., Tang, C.-M., Wang, L.-W., and Han, X. (2013b). Effects of light intensity on the growth and leaf development of young tomato plants grown under a combination of red and blue light. *Sci. Hortic.* 153, 50–55. doi: 10.1016/j.scienta.2013.01.017.
- Fletcher, J. M., Tatsiopoulou, A., Mpezamihigo, M., Carew, J. G., Henbest, R. G. C., and Hadley, P. (2005). Far-red light filtering by plastic film, greenhouse-cladding materials: effects on growth and flowering in *Petunia* and *Impatiens*. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 80, 303–306. doi: 10.1080/14620316.2005.11511934.

- Foo, E., Platten, J. D., Weller, J. L., and Reid, J. B. (2006). PhyA and cry1 act redundantly to regulate gibberellin levels during de-etiolation in blue light. *Physiol. Plant.* 127, 149–156. doi: 10.1111/j.1399-3054.2006.00649.x.
- Franklin, K. A. (2008). Shade avoidance. *New Phytol.* 179, 930–944. doi: 10.1111/j.1469-8137.2008.02507.x.
- Fukuda, N., Ajima, C., Yukawa, T., and Olsen, J. E. (2016). Antagonistic action of blue and red light on shoot elongation in petunia depends on gibberellin, but the effects on flowering are not generally linked to gibberellin. *Environ. Exp. Bot.* 121, 102–111. doi: 10.1016/j.envexpbot.2015.06.014.
- Garcia, C., and Lopez, R. G. (2020). Supplemental Radiation Quality Influences Cucumber, Tomato, and Pepper Transplant Growth and Development. *HortScience* 55, 804–811. doi: 10.21273/HORTSCI14820-20.
- Gautam, P., Terfa, M. T., Olsen, J. E., and Torre, S. (2015). Red and blue light effects on morphology and flowering of *Petunia×hybrida*. *Sci. Hortic.* 184, 171–178. doi: 10.1016/j.scienta.2015.01.004.
- Goto, E. (2003). Effects of Light Quality on Growth of Crop Plants under Artificial Lighting. *Environ. Control Biol.* 41, 121–132. doi: 10.2525/ecb1963.41.121.
- Groher, T., Röhlen-Schmittgen, S., Fiebig, A., Noga, G., and Hunsche, M. (2019). Influence of supplementary LED lighting on physiological and biochemical parameters of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) leaves. *Sci. Hortic.* 250, 154–158. doi: 10.1016/j.scienta.2019.02.046.
- Guichard, L., Dedieu, F., Jeuffroy, M.-H., Meynard, J.-M., Reau, R., and Savini, I. (2017). Le plan Ecophyto de réduction d’usage des pesticides en France : décryptage d’un échec et raisons d’espérer. *Cah. Agric.* 26, 14002. doi: 10.1051/cagri/2017004.
- He, J., Qin, L., Chong, E. L. C., Choong, T.-W., and Lee, S. K. (2017). Plant Growth and Photosynthetic Characteristics of *Mesembryanthemum crystallinum* Grown Aeroponically under Different Blue- and Red-LEDs. *Front. Plant Sci.* 8. doi: 10.3389/fpls.2017.00361.
- He, J., Zhao, X., Du, P., Zeng, W., Beahan, C. T., Wang, Y., et al. (2018). KNAT7 positively regulates xylan biosynthesis by directly activating *IRX9* expression in *Arabidopsis*. *J. Integr. Plant Biol.* 60, 514–528. doi: 10.1111/jipb.12638.
- Hebert, D., Boonekamp, J., Parrish, C. H., Ramasamy, K., Makarov, N. S., Castañeda, C., et al. (2022). Luminescent quantum dot films improve light use efficiency and crop quality in greenhouse horticulture. *Front. Chem.* 10, 988227. doi: 10.3389/fchem.2022.988227.
- Hernández, R., and Kubota, C. (2016). Physiological responses of cucumber seedlings under different blue and red photon flux ratios using LEDs. *Environ. Exp. Bot.* 121, 66–74. doi: 10.1016/j.envexpbot.2015.04.001.
- Hogewoning, S. W., Trouwborst, G., Maljaars, H., Poorter, H., van Ieperen, W., and Harbinson, J. (2010). Blue light dose–responses of leaf photosynthesis, morphology,



- and chemical composition of *Cucumis sativus* grown under different combinations of red and blue light. *J. Exp. Bot.*, 3107–3117.
- Huang, J., Zhang, Y., Li, J., Wang, L., and Yu, Z. (2016). Proteomic Changes in the Stem of Wild *Pteridium aquilinum* During Development. *J. Plant Growth Regul.* 35, 504–517. doi: 10.1007/s00344-015-9556-z.
- Huché-Théliier, L., Crespel, L., Gourrierc, J. L., Morel, P., Sakr, S., and Leduc, N. (2016). Light signaling and plant responses to blue and UV radiations—Perspectives for applications in horticulture. *Environ. Exp. Bot.* 121, 22–38. doi: 10.1016/j.envexpbot.2015.06.009.
- Ilias, I. F., and Rajapakse, N. (2005). The Effects of End-of-the-day Red and Far-red Light on Growth and Flowering of *Petunia ×hybrida* 'Countdown Burgundy' Grown under Photosensitive Films. *HortScience* 40, 131–133. doi: 10.21273/HORTSCI.40.1.131.
- Islam, M. A., Kuwar, G., Clarke, J. L., Blystad, D.-R., Gislerød, H. R., Olsen, J. E., et al. (2012). Artificial light from light emitting diodes (LEDs) with a high portion of blue light results in shorter poinsettias compared to high pressure sodium (HPS) lamps. *Sci. Hortic.* 147, 136–143. doi: 10.1016/j.scienta.2012.08.034.
- Izzo, L. G., Hay Mele, B., Vitale, L., Vitale, E., and Arena, C. (2020). The role of monochromatic red and blue light in tomato early photomorphogenesis and photosynthetic traits. *Environ. Exp. Bot.* 179, 104195. doi: 10.1016/j.envexpbot.2020.104195.
- Jones, M. A. (2018). Using light to improve commercial value. *Hortic. Res.* 5, 47. doi: 10.1038/s41438-018-0049-7.
- Kaiser, E., Ouzounis, T., Giday, H., Schipper, R., Heuvelink, E., and Marcelis, L. F. M. (2019). Adding Blue to Red Supplemental Light Increases Biomass and Yield of Greenhouse-Grown Tomatoes, but Only to an Optimum. *Front. Plant Sci.* 9, 2002. doi: 10.3389/fpls.2018.02002.
- Kalaitzoglou, P., Taylor, C., Calders, K., Hogervorst, M., van Ieperen, W., Harbinson, J., et al. (2021). Unraveling the effects of blue light in an artificial solar background light on growth of tomato plants. *Environ. Exp. Bot.* 184, 104377. doi: 10.1016/j.envexpbot.2021.104377.
- Keuskamp, D. H., Sasidharan, R., and Pierik, R. (2010). Physiological regulation and functional significance of shade avoidance responses to neighbors. *Plant Signal. Behav.* 5, 655–662. doi: 10.4161/psb.5.6.11401.
- Kutschera, U., and Briggs, W. R. (2013). Seedling development in buckwheat and the discovery of the photomorphogenic shade-avoidance response. *Plant Biol.* 15, 931–940. doi: 10.1111/plb.12077.
- Landi, M., Zivcak, M., Sytar, O., Brestic, M., and Allakhverdiev, S. I. (2020). Plasticity of photosynthetic processes and the accumulation of secondary metabolites in plants in response to monochromatic light environments: A review. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Bioenerg.* 1861, 148131. doi: 10.1016/j.bbabi.2019.148131.

- Latimer, J. G. (1991). Mechanical Conditioning for Control of Growth and Quality of Vegetable Transplants. *HortScience* 26, 1456–1461. doi: 10.21273/HORTSCI.26.12.1456.
- Le Gall, H., Philippe, F., Domon, J.-M., Gillet, F., Pelloux, J., and Rayon, C. (2015). Cell Wall Metabolism in Response to Abiotic Stress. *Plants* 4, 112–166. doi: 10.3390/plants4010112.
- Leduc, N., Roman, H., Barbier, F., Péron, T., Huché-Théliier, L., Lothier, J., et al. (2014). Light Signaling in Bud Outgrowth and Branching in Plants. *Plants* 3, 223–250. doi: 10.3390/plants3020223.
- Lee, Y., and Kende, H. (2001). Expression of  $\beta$ -Expansins Is Correlated with Internodal Elongation in Deepwater Rice. *Plant Physiol.* 127, 645–654. doi: 10.1104/pp.010345.
- Li, J., Guo, X., Zhang, S., Zhang, Y., Chen, L., Zheng, W., et al. (2022a). Effects of light quality on growth, nutritional characteristics, and antioxidant properties of winter wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.). *Front. Plant Sci.* 13, 978468. doi: 10.3389/fpls.2022.978468.
- Li, W., Liu, S.-W., Ma, J.-J., Liu, H.-M., Han, F.-X., Li, Y., et al. (2020a). Gibberellin Signaling Is Required for Far-Red Light-Induced Shoot Elongation in *Pinus tabulaeformis* Seedlings. *Plant Physiol.* 182, 658–668. doi: 10.1104/pp.19.00954.
- Li, Y., Shi, R., Jiang, H., Wu, L., Zhang, Y., Song, S., et al. (2020b). End-Of-Day LED Lightings Influence the Leaf Color, Growth and Phytochemicals in Two Cultivars of Lettuce. *Agronomy* 10, 1475. doi: 10.3390/agronomy10101475.
- Li, Y., Xiong, W., He, F., Qi, T., Sun, Z., Liu, Y., et al. (2022b). Down-regulation of *PvSAMS* impairs *S*-adenosyl-L-methionine and lignin biosynthesis, and improves cell wall digestibility in switchgrass. *J. Exp. Bot.* 73, 4157–4169. doi: 10.1093/jxb/erac147.
- Liu, Y., Jafari, F., and Wang, H. (2021). Integration of light and hormone signaling pathways in the regulation of plant shade avoidance syndrome. *aBIOTECH* 2, 131–145. doi: 10.1007/s42994-021-00038-1.
- Liu, Y., You, S., Taylor-Teeples, M., Li, W. L., Schuetz, M., Brady, S. M., et al. (2015). BEL1-LIKE HOMEODOMAIN6 and KNOTTED ARABIDOPSIS THALIANA7 Interact and Regulate Secondary Cell Wall Formation via Repression of *REVOLUTA*. *Plant Cell* 26, 4843–4861. doi: 10.1105/tpc.114.128322.
- Ma, T., Ma, H., Zhao, H., Qi, H., and Zhao, J. (2014). Identification, characterization, and transcription analysis of xylogen-like arabinogalactan proteins in rice (*Oryza sativa* L.). *BMC Plant Biol.* 14, 299. doi: 10.1186/s12870-014-0299-y.
- Massa, G. D., Kim, H.-H., Wheeler, R. M., and Mitchell, C. A. (2008). Plant Productivity in Response to LED Lighting. *HortScience* 43, 1951–1956. doi: 10.21273/HORTSCI.43.7.1951.

- Matthews, J. S. A., Vialet-Chabrand, S., and Lawson, T. (2020). Role of blue and red light in stomatal dynamic behaviour. *J. Exp. Bot.* 71, 2253–2269. doi: 10.1093/jxb/erz563.
- Mellerowicz, E. J., Baucher, M., Sundberg, B., and Boerjan, W. (2001). “Unravelling cell wall formation in the woody dicot stem,” in *Plant Cell Walls*, eds. N. C. Carpita, M. Campbell, and M. Tierney (Dordrecht: Springer Netherlands), 239–274. doi: 10.1007/978-94-010-0668-2\_15.
- Miller, E. W., Ray, D., and Savage, J. (2023). Direct and indirect effects of light on plant growth and conduit diameter in *Populus* seedlings. Preprints doi: 10.22541/au.169141010.03041640/v1.
- Monostori, I., Heilmann, M., Kocsy, G., Rakszegi, M., Ahres, M., Altenbach, S. B., et al. (2018). LED Lighting – Modification of Growth, Metabolism, Yield and Flour Composition in Wheat by Spectral Quality and Intensity. *Front. Plant Sci.* 9, 605. doi: 10.3389/fpls.2018.00605.
- Motose, H., Sugiyama, M., and Fukuda, H. (2004). A proteoglycan mediates inductive interaction during plant vascular development. *Nature* 429, 873–878. doi: 10.1038/nature02613.
- Muthusamy, M., Kim, J. A., Jeong, M.-J., and Lee, S. I. (2020). Blue and red light upregulate  $\alpha$ -expansin 1 (EXPA1) in transgenic *Brassica rapa* and its overexpression promotes leaf and root growth in *Arabidopsis*. *Plant Growth Regul.* 91, 75–87. doi: 10.1007/s10725-020-00588-2.
- Naznin, M., Lefsrud, M., Gravel, V., and Azad, M. (2019). Blue Light added with Red LEDs Enhance Growth Characteristics, Pigments Content, and Antioxidant Capacity in Lettuce, Spinach, Kale, Basil, and Sweet Pepper in a Controlled Environment. *Plants* 8, 93. doi: 10.3390/plants8040093.
- Nissim-Levi, A., Kitron, M., Nishri, Y., Ovadia, R., Forer, I., and Oren-Shamir, M. (2019). Effects of blue and red LED lights on growth and flowering of *Chrysanthemum morifolium*. *Sci. Hortic.* 254, 77–83. doi: 10.1016/j.scienta.2019.04.080.
- Ouzounis, T., Heuvelink, E., Ji, Y., Schouten, H. J., Visser, R. G. F., and Marcelis, L. F. M. (2016). Blue and red LED lighting effects on plant biomass, stomatal conductance, and metabolite content in nine tomato genotypes. *Acta Hortic.*, 251–258. doi: 10.17660/ActaHortic.2016.1134.34.
- Ouzounis, T., Razi Parjikolaei, B., Frett<sup>Å</sup>, X., Rosenqvist, E., and Ottosen, C.-O. (2015a). Predawn and high intensity application of supplemental blue light decreases the quantum yield of PSII and enhances the amount of phenolic acids, flavonoids, and pigments in *Lactuca sativa*. *Front. Plant Sci.* 6. doi: 10.3389/fpls.2015.00019.
- Ouzounis, T., Rosenqvist, E., and Ottosen, C.-O. (2015b). Spectral Effects of Artificial Light on Plant Physiology and Secondary Metabolism: A Review. *HortScience* 50, 1128–1135. doi: 10.21273/HORTSCI.50.8.1128.

- Park, Y., and Runkle, E. S. (2019). Blue radiation attenuates the effects of the red to far-red ratio on extension growth but not on flowering. *Environ. Exp. Bot.* 168, 103871. doi: 10.1016/j.envexpbot.2019.103871.
- Pedmale, U. V., Celaya, R. B., and Liscum, E. (2010). Phototropism: Mechanism and Outcomes. *Arab. Book* 8, e0125. doi: 10.1199/tab.0125.
- Qian, J., Wang, N., Ren, W., Zhang, R., Hong, X., Chen, L., et al. (2022). Molecular Dissection Unveiling Dwarfing Effects of Plant Growth Retardants on Pomegranate. *Front. Plant Sci.* 13, 866193. doi: 10.3389/fpls.2022.866193.
- Qin, W., Yin, Q., Chen, J., Zhao, X., Yue, F., He, J., et al. (2020). The class II KNOX transcription factors KNAT3 and KNAT7 synergistically regulate monolignol biosynthesis in Arabidopsis. *J. Exp. Bot.* 71, 5469–5483. doi: 10.1093/jxb/eraa266.
- Rademacher, W. (2000). Growth Retardants: Effects on Gibberellin Biosynthesis and Other Metabolic Pathways. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 51, 501–531. doi: 10.1146/annurev.arplant.51.1.501.
- Rademacher, W. (2017). “Chemical Regulators of Gibberellin Status and Their Application in Plant Production,” in *Annual Plant Reviews online*, ed. J. A. Roberts (Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd), 359–403. doi: 10.1002/9781119312994.apr0541.
- Sasidharan, R., Chinnappa, C. C., Staal, M., Elzenga, J. T. M., Yokoyama, R., Nishitani, K., et al. (2010). Light Quality-Mediated Petiole Elongation in Arabidopsis during Shade Avoidance Involves Cell Wall Modification by Xyloglucan Endotransglucosylase/Hydrolases. *Plant Physiol.* 154, 978–990. doi: 10.1104/pp.110.162057.
- Sheng, M., Tang, M., Chen, H., Yang, B., Zhang, F., and Huang, Y. (2008). Influence of arbuscular mycorrhizae on photosynthesis and water status of maize plants under salt stress. *Mycorrhiza* 18, 287–296. doi: 10.1007/s00572-008-0180-7.
- Son, K.-H., and Oh, M.-M. (2013). Leaf Shape, Growth, and Antioxidant Phenolic Compounds of Two Lettuce Cultivars Grown under Various Combinations of Blue and Red Light-emitting Diodes. *HortScience* 48, 988–995. doi: 10.21273/HORTSCI.48.8.988.
- Teixeira, R. T. (2020). Distinct Responses to Light in Plants. *Plants* 9, 894. doi: 10.3390/plants9070894.
- Trouwborst, G., Hogewoning, S. W., van Kooten, O., Harbinson, J., and van Ieperen, W. (2016). Plasticity of photosynthesis after the ‘red light syndrome’ in cucumber. *Environ. Exp. Bot.* 121, 75–82. doi: 10.1016/j.envexpbot.2015.05.002.
- Ubukawa, M., Fukuda, N., Oyama-Okubo, N., Koshioka, M., Mander, L. N., Sase, S., et al. (2004). Effect of Light Source and Quality on Endogenous Gibberellin Level and GA3 Response of Petunia (*Petunia\*hybrida* Vilm.). *Engei Gakkai Zasshi* 73, 441–446. doi: 10.2503/jjshs.73.441.
- Wang, S., Yamaguchi, M., Grienberger, E., Martone, P. T., Samuels, A. L., and Mansfield, S. D. (2020). The Class II KNOX genes *KNAT3* and *KNAT7* work

- cooperatively to influence deposition of secondary cell walls that provide mechanical support to Arabidopsis stems. *Plant J.* 101, 293–309. doi: 10.1111/tbj.14541.
- Xu, P., Chen, H., Li, T., Xu, F., Mao, Z., Cao, X., et al. (2021). Blue light-dependent interactions of CRY1 with GID1 and DELLA proteins regulate gibberellin signaling and photomorphogenesis in Arabidopsis. *Plant Cell* 33, 2375–2394. doi: 10.1093/plcell/koab124.
- Yamada, A., Tanigawa, T., Suyama, T., Matsuno, T., and Kunitake, T. (2009). Red:far-red light ratio and far-red light integral promote or retard growth and flowering in *Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn. *Sci. Hortic.* 120, 101–106. doi: 10.1016/j.scienta.2008.09.009.
- Yamaguchi, S. (2008). Gibberellin Metabolism and its Regulation. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59, 225–251. doi: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092804.
- Zhao, X., Yu, X., Foo, E., Symons, G. M., Lopez, J., Bendehakkalu, K. T., et al. (2007). A Study of Gibberellin Homeostasis and Cryptochrome-Mediated Blue Light Inhibition of Hypocotyl Elongation. *Plant Physiol.* 145, 106–118. doi: 10.1104/pp.107.099838.
- Zheng, Y., Zhang, Y., Liu, H., Li, Y., Liu, Y., Hao, Y., et al. (2018). Supplemental blue light increases growth and quality of greenhouse pak choi depending on cultivar and supplemental light intensity. *J. Integr. Agric.* 17, 2245–2256. doi: 10.1016/S2095-3119(18)62064-7.

### 3. Conclusions générales

Dans cette étude, deux spectres lumineux distincts ont été évalués, l'un enrichi en lumière bleue (B-enr) et l'autre en lumière rouge clair (R-enr), sur deux cultivars d'*Hydrangea macrophylla*, Wudu® et Nanping®. Les résultats ont montré que les deux spectres lumineux ont significativement réduit l'allongement des tiges des deux cultivars d'hortensia. De manière surprenante, l'effet sur l'élongation des tiges des deux traitements lumineux était comparable à celui induit par le retardateur de croissance chimique (daminozide).

L'analyse moléculaire a révélé que les traitements B-enr, R-enr et le daminozide ont favorisé l'expression de gènes impliqués dans la modification des parois cellulaires, tels que *HmPE1*, *HmPGX3*, *HmXTH33*, *HmEXPB2* et *HmCESA5*. De manière similaire au daminozide, les deux traitements lumineux ont modulé l'expression de gènes impliqués dans la voie métabolique et de signalisation des GAs. En outre, les trois traitements ont régulé négativement les gènes associés à la croissance secondaire (*HmCAD1*, *HmXYP1*, *HmSAMS1*, *HmCDC23*). Ces résultats suggèrent que les spectres lumineux et le daminozide modulent les mêmes voies métaboliques impliquées dans la régulation de l'élongation des tiges d'hortensia. Néanmoins, l'examen des aspects physiologiques a également mis en évidence une différence par rapport au nanifiant chimique, en montrant que les deux traitements lumineux ont eu un effet bénéfique sur les processus photosynthétiques. Cela s'est traduit par une augmentation de l'indice de chlorophylle, de la conductance stomatique et de l'efficacité du photosystème II. Ces résultats soulignent que les spectres lumineux étudiés peuvent non seulement servir d'alternatives efficaces aux régulateurs de croissance chimiques, mais qu'ils peuvent également avoir un effet positif sur les processus photosynthétiques chez *Hydrangea macrophylla*.

Dans l'ensemble, cette étude met en avant deux spectres lumineux comme des alternatives prometteuses aux régulateurs de croissance chimiques, tout en enrichissant pour la première fois notre compréhension des mécanismes de régulation qui sous-tendent la croissance de *Hydrangea macrophylla* en réponse à la qualité de la lumière.



## Discussion générale et perspectives

La production de plantes ornementales dotées à la fois d'un aspect esthétique attrayant et d'un port robuste, ramifié et compact, requiert traditionnellement l'utilisation de retardateurs de croissance chimiques. Toutefois, en raison des préoccupations liées à la santé humaine et à l'environnement, les législations française et européenne ont progressivement exclu de la liste des produits autorisés en agriculture et en horticulture un certain nombre de ces substances, encourageant ainsi la recherche de méthodes alternatives plus respectueuses de l'environnement. Des méthodes alternatives, basées sur des facteurs environnementaux tels que la lumière, la température, la stimulation mécanique, ainsi que des restrictions temporaires en eau et en éléments minéraux, ont démontré leur efficacité dans la maîtrise du développement et de la croissance de nombreuses espèces végétales (Bergstrand, 2017; Bantis et al., 2018; Börnke and Rocks, 2018). Cependant, en raison de la diversité et de la complexité des réponses des plantes à ces facteurs environnementaux, une compréhension approfondie des réponses spécifiques à chaque espèce est essentielle.

Dans une démarche éco-responsable, l'entreprise Hortensia France s'engage activement dans la recherche et le développement de méthodes alternatives visant à réduire, voire à éliminer l'utilisation des retardateurs de croissance chimiques dans la culture de l'hortensia. Par conséquent, les travaux menés au cours de cette thèse ont été consacrés pour la première fois à l'étude des réponses de jeunes plants d'*Hydrangea macrophylla* à deux méthodes alternatives : la stimulation mécanique et la modulation du spectre lumineux. À l'origine de ce travail, notre ambition est d'apporter une contribution précieuse à la recherche de méthodes alternatives respectueuses de l'environnement pour la culture de plantes ornementales.

Au cours de cette thèse, notre objectif a été d'explorer l'influence de deux facteurs environnementaux sur de jeunes plants d'*Hydrangea macrophylla*. Le premier de ces facteurs était la stimulation mécanique, mimant l'effet du vent sur les plantes, et nous avons mis en place des expérimentations consistant à appliquer 1 ou 12 flexions mécaniques par jour. Le second facteur environnemental sur lequel nous sommes penchés était la lumière, et nous avons créé deux spectres lumineux distincts, l'un étant enrichi en lumière bleue, tandis que l'autre se caractérisait par une prédominance de lumière rouge clair. Ces approches reposent sur des travaux antérieurs qui ont montré que la manipulation de ces



facteurs environnementaux était des méthodes alternatives efficaces aux retardateurs de croissance chimiques pour réguler la croissance et le développement de diverses espèces végétales, telles que le rosier, le pétunia et le géranium (Morel et al., 2012; Ishihara et al., 2017; Crespel et al., 2018; Matsuo et al., 2019; Park and Runkle, 2019). De ce fait, notre objectif était d'acquiescer une meilleure compréhension des mécanismes par lesquels ces deux facteurs environnementaux pouvaient influencer la croissance et le développement de l'hortensia, étant donné que les réponses de cette espèce à ces facteurs n'avaient encore jamais été explorées.

Nos résultats ont démontré que ces deux méthodes alternatives, bien que reposant sur des facteurs environnementaux totalement différents, ont engendré des effets comparables à ceux produits par l'utilisation de retardateurs de croissance chimiques (cf. **Chapitre 1**, **Chapitre 2** et **Chapitre 5**). En effet, ces traitements ont significativement réduit l'allongement des tiges d'*Hydrangea macrophylla*, notamment pour au moins deux des trois cultivars testés, à savoir Nanping® et Wudu®. D'un point de vue moléculaire, notre analyse a révélé que l'expression de gènes liés à la modification pariétale, tels que *HmXTH33*, *HmCESA5* et *HmPGX3*, était similaire entre les plantes soumises à des stimulations mécaniques et celles exposées aux traitements lumineux. De plus, à l'instar des retardateurs de croissance chimiques, les traitements lumineux et la stimulation mécanique ont également régulé la voie métabolique et signalétique des GAs. La similitude des réponses moléculaires entre ces traitements suggère des mécanismes sous-jacents communs dans la régulation de la croissance des plantes soumises à ces stress environnementaux, qu'ils soient d'origine mécanique ou lumineuse.

De manière notable, la stimulation mécanique a également été associée à une augmentation du diamètre des tiges, particulièrement chez Wudu®. Cette découverte ont été renforcées par des observations histologiques et moléculaires distinctes, qui ont mis en évidence des réponses différenciées selon les zones de croissance des tiges. Nous avons constaté que l'expression des gènes impliqués dans des processus clés, tels que la xylogénèse, l'épaississement de la paroi cellulaire et le dépôt de lignine dans le xylème, était significativement augmentée en réponse à la stimulation mécanique au niveau de l'entre-nœud basal des tiges. Ces réponses adaptatives à la stimulation mécanique, visant à renforcer la structure des tiges, ont un impact positif sur la stabilité et la survie des plantes (Biddington, 1986; Braam, 2004; Chehab et al., 2008; Gardiner et al., 2016). En revanche,

bien que les régulateurs chimiques soient efficaces pour contrôler la croissance en réduisant de manière significative l'allongement des tiges, ils fragilisent les plantes en réduisant leur diamètre de tige (Desta and Amare, 2021; Litwińczuk and Jacek, 2023). Cette diminution de diamètre les rend plus vulnérables aux dommages mécaniques résultant des conditions climatiques, des pressions biotiques et des manipulations effectuées par les producteurs et les consommateurs.

Nos résultats mettent également en lumière un impact particulièrement bénéfique de la stimulation mécanique sur le débourrement des bourgeons axillaires, en contrastant une fois de plus avec les effets du retardateur de croissance chimique (cf. **Chapitre 2**). Suite à la levée de dormance volontairement provoquée à la fin des traitements mécaniques, nous avons montré que les bourgeons axillaires des plantes stimulées produisaient un gradient de ramification basitone alors qu'il est plutôt acrotone chez les plantes témoins. Jusqu'à présent, peu d'études se sont penchées spécifiquement sur l'effet de la stimulation mécanique sur les processus de débourrement des plantes. La majorité des recherches précédentes se sont principalement concentrées sur des mesures globales telles que le nombre total, le poids et les dimensions des ramifications, des boutons floraux, des fleurs et des fruits, sans approfondir l'analyse de la disposition ou de la position individuelle de chaque organe (Goodman and Ennos, 1996; Vernieri et al., 2003; Börnke and Rocks, 2018; Jędrzejuk et al., 2020). Notre étude a apporté une contribution significative en confirmant les résultats obtenus par Morel et al. (2012), qui ont démontré que les contraintes mécaniques pouvaient également favoriser un développement basitone des bourgeons axillaires chez le rosier. L'ensemble de ces constatations met en évidence la plus value de la stimulation mécanique en tant qu'outil multifonctionnel en favorisant également le développement basitone des bourgeons axillaires, une caractéristique hautement souhaitable en production ornementale pour obtenir des plantes à la fois ramifiées et compactes.

En outre, l'observation du changement de développement des bourgeons axillaires, qui est survenu deux semaines après la fin des traitements mécaniques et de la levée de la dormance, suggère que les effets de la stimulation mécanique ne se limitent pas aux organes directement soumis à cette stimulation. Il convient de noter que la bâche utilisée pour les traitements mécaniques passait le long des tiges d'hortensia, sans atteindre directement les bourgeons axillaires. Ces derniers étaient dormants au moment de la stimulation mécanique, presque invisibles à l'œil nu, et dissimulés à l'aisselle des pétioles des feuilles d'hortensia qui enrobent les tiges. Des travaux antérieurs menés sur la tomate ont révélé que les effets

de la stimulation mécanique ne se limitaient pas uniquement aux entre-nœuds directement stimulés, mais s'étendaient également aux entre-nœuds adjacents (Coutand et al., 2000). Nos résultats confirment cette observation, car nos traitements mécaniques ont également réduit l'élongation de deux entre-nœuds qui se sont formés au cours des expérimentations. Ainsi, nos résultats suggèrent que la stimulation mécanique peut également avoir un effet sur des organes préexistants qui n'ont pas été directement soumis à la stimulation mécanique, démontrant ainsi l'ampleur de son influence sur le développement des plantes.

En accord avec des études précédentes, notre analyse transcriptomique a révélé que plusieurs voies de signalisation hormonales interviennent simultanément dans la transmission des signaux de stress mécanique (Lee et al., 2004; Van Aken et al., 2016; Pomiès et al., 2017; Van Moerkercke et al., 2019; Xu et al., 2019; Coomey et al., 2021; Brenya et al., 2022). Nos travaux ont permis de montrer que les neuf principales familles d'hormones végétales (GAs, ABA, JA, SA, BRs, AUX, CKs, SLs et éthylène) étaient impliquées dans les réponses des tiges d'hortensia en réponse à 12 flexions successives appliquées en 1 heure. La découverte, pour la première fois, de l'implication des SLs dans les réponses thigmomorphogénétiques d'une espèce végétale suggère un rôle important des SLs dans la régulation des gènes et des processus cellulaires associés à la modification de la croissance et de la structure des plantes en réponse aux contraintes mécaniques. Il est particulièrement intéressant de noter que chez *Arabidopsis thaliana*, les mutants affectés dans les gènes responsables de la biosynthèse et de la signalisation des SLs présentent des phénotypes semi-nains, des entre-nœuds courts et un rétrécissement du diamètre de tige (Agusti et al., 2011; Rameau et al., 2019; Wu et al., 2022). Par conséquent, l'activation de la voie de signalisation des SLs pourrait influencer à la fois l'élongation des cellules et leur division, contribuant ainsi à la réduction de la croissance en hauteur des tiges d'hortensia, tout en renforçant indirectement leur structure. Cette découverte renforce l'idée que la modulation des SLs représente une piste prometteuse pour la création de plantes ornementales à la fois compactes et résistantes, répondant aux besoins de l'horticulture ornementale.

Les interactions que nous avons observées, telles que la répression de la voie de biosynthèse des SLs conjointe à l'induction de la voie des CKs, ainsi que les interactions antagonistes entre le JA et le SA et synergiques entre l'éthylène, l'ABA et le JA, mettent en lumière les mécanismes complexes employés par les plantes pour renforcer leurs mécanismes de défense. (Chehab et al., 2008; Sparke and Wünsche, 2020; Telewski, 2021).

En effet, diverses études ont souligné que la perception d'un stress mécanique déclenchait la voie de signalisation du JA qui stimule notamment la production de substances de défense (phytoalexines, lignine, callose), et la mise en place de mécanismes de défense, tels que la détoxification des ROS (Chehab et al., 2012 ; Benikhlef et al., 2013 ; Telewski, 2021; Brenya et al., 2022). Plusieurs études ont montré que l'application d'une contrainte mécanique, suivie d'une inoculation avec des agents phytopathogènes, renforçait encore davantage les réponses de défense chez *Arabidopsis thaliana* (Benikhlef et al., 2013; Brenya et al., 2022). De manière notable, notre étude a révélé une activation de la voie de signalisation du JA et une surexpression des gènes codants de petits peptides appartenant à la famille des Snakin/GASA en réponse à la stimulation mécanique (cf. **Chapitre 4**). Même si la fonction précise de ces peptides n'est pas complètement élucidée, il est établi qu'ils jouent un rôle essentiel dans les mécanismes de défense des plantes et dans leur aptitude à mieux tolérer des conditions environnementales stressantes (Nahirñak et al., 2012; Su et al., 2020; Bouteraa et al., 2023). L'augmentation de leur expression appuie l'idée que les contraintes mécaniques déclenchent des réponses moléculaires de défense, contribuant ainsi à renforcer la résistance des plantes aux contraintes mécaniques, tout en les préparant à réagir de manière rapide et efficace en cas d'un second stress (Brenya et al., 2020; Coutand, 2020).

Par ailleurs, afin d'explorer la possibilité que des mécanismes de mémorisation puissent être enclenchés dans la réponse de l'hortensia à la stimulation mécanique, nous avons examiné l'impact de 12 flexions appliquées sur l'état de compaction de la chromatine. Les mécanismes de mémorisation chez les plantes s'appuient en effet en partie sur des modifications épigénétiques, telles que la régulation de la structure et de la compaction de la chromatine, qui joue un rôle crucial dans le contrôle de l'accessibilité de l'ADN aux facteurs de transcription et autres protéines nucléaires (Mauch-Mani et al., 2017). Nos résultats ont révélé une décompaction de la chromatine plus marquée chez les plantes soumises à la stimulation mécanique, et ce dès une heure après la dernière de 12 flexions, suggérant la mise en place rapide de mécanismes de réponse épigénétique face aux contraintes mécaniques. Lorsque la chromatine est décondensée, l'ADN devient plus accessible aux facteurs de transcription, ce qui peut avoir un impact sur l'expression des gènes impliqués dans les mécanismes de défense et d'adaptation des plantes face au stress mécanique (Radman-Livaja and Rando, 2010; Bhadouriya et al., 2021). Il est plausible que cette forme de mémoire épigénétique puisse contribuer à renforcer la résistance des tiges

d'hortensia aux contraintes mécaniques récurrentes en favorisant une réactivité accrue aux signaux de stress mécanique. Cette découverte offre des perspectives passionnantes pour une meilleure compréhension des bases moléculaires de l'adaptation des plantes aux stress mécaniques. De plus, elle pourrait éventuellement ouvrir la voie au développement de stratégies visant à améliorer la robustesse des plantes ornementales, renforçant ainsi leur capacité à résister aux contraintes mécaniques et à prospérer dans des environnements fluctuants.

Dans notre étude, nous avons pris la décision d'appliquer seulement 12 flexions par jour, sur une période de 5 jours consécutifs, et cela pendant 3 semaines. Nous avons également choisi de réaliser nos contraintes mécaniques le matin, en nous basant sur les recherches de Garner and Björkman (1996), qui ont montré que la tomate réagissait de manière plus marquée à un stress mécanique appliqué en début de journée plutôt qu'en fin d'après-midi. Notre approche expérimentale a également été guidée par des études antérieures menées sur des espèces ligneuses telles que l'orme, le rosier et le peuplier, qui ont révélé que ces espèces manifestaient une plus grande sensibilité à un faible nombre de flexions qu'à un nombre élevé (Telewski and Pruyn, 1998 ; Martin et al., 2010 ; Morel et al., 2012). Nos travaux ont démontré que l'hortensia conservait sa sensibilité au signal de stress mécanique au fil du temps suite à l'application de ces contraintes mécaniques matinales (cf. **Chapitre 3**). Cette décision méthodologique visait à mieux comprendre et caractériser la réponse de l'hortensia à la stimulation mécanique, en prenant en compte les spécificités de cette espèce et les leçons tirées des recherches antérieures sur d'autres espèces.

Les résultats obtenus au cours de cette étude représentent une avancée significative dans notre compréhension des mécanismes de réponse d'*Hydrangea macrophylla* aux stimuli lumineux et mécaniques. Ces travaux ouvrent la voie à des applications pratiques essentielles, à commencer par la réduction de la dépendance à l'égard des régulateurs de croissance chimiques dans la production horticole. En exploitant des méthodes telles que l'application de spectres lumineux spécifiques ou des traitements de stimulation mécanique, nos travaux confirment qu'il est possible de contrôler la croissance des plantes de manière plus durable et écologique, sans compromettre d'autres processus comme le débourrement des bourgeons et la floraison. Les résultats de ces travaux suggèrent des perspectives prometteuses, notamment en ce qui concerne l'utilisation ciblée de la stimulation mécanique pour renforcer la qualité et la robustesse des plantes ornementales.

En outre, notre étude montre que ces méthodes alternatives peuvent également constituer des méthodes alternatives aux produits phytosanitaires, en particulier avec l'identification de peptides Snakin/GASA dans les réponses transcriptomiques de l'hortensia à la stimulation mécanique. Cette découverte ouvre la porte à de futures recherches plus approfondies sur ces composés, qui demeurent en grande partie inexplorés (Nahirñak et al., 2012). Les Snakin sont des molécules peptidiques impliquées dans la résistance des plantes aux stress biotiques et abiotiques (Su et al., 2020; Bouteraa et al., 2023), ce qui en fait des candidats prometteurs pour le développement de produits bio-stimulants. Comprendre en profondeur les propriétés, les mécanismes d'action et les effets de ces peptides pourrait ouvrir la voie à des applications pratiques dans la culture de l'hortensia. Par exemple, ces peptides pourraient être utilisés pour améliorer la croissance, la résistance aux maladies et la tolérance des plantes face aux conditions environnementales fluctuantes. De plus, de nombreuses recherches se concentrent sur l'impact de la stimulation mécanique et de la lumière sur la gestion des ravageurs et des agents phytopathogènes. Comme abordé à plusieurs reprises dans ce manuscrit, la stimulation mécanique a le potentiel de renforcer les défenses naturelles des plantes, les préparant ainsi à réagir de manière plus efficace face aux stress d'origine biotique (Brenya et al., 2020; Coutand, 2020). Récemment, plusieurs études ont mis en lumière les avantages des longueurs d'onde lumineuses, notamment le bleu et le rouge clair, pour repousser efficacement certains agents phytopathogènes (Cerón-Bustamante et al., 2023; Khalil et al., 2023; Smith et al., 2023). Ces auteurs ont également démontré la capacité de ces lumières à stimuler les mécanismes de défense des plantes, limitant ainsi la propagation des maladies causées.

De plus, notre étude apporte de nouvelles informations sur les mécanismes de mémorisation chez les plantes exposées à des contraintes mécaniques. L'analyse plus poussée des résultats transcriptomiques de l'hortensia devrait offrir la possibilité de découvrir les acteurs moléculaires impliqués dans les régulations épigénétiques et les processus de mémorisation chez l'hortensia. Ces connaissances pourraient révolutionner nos pratiques en agriculture en offrant des méthodes plus efficaces pour gérer la croissance des plantes, tout en améliorant leur robustesse et leur résistance aux stress environnementaux.

Notre étude a été menée sur l'hortensia, une espèce d'ornement peu étudiée jusqu'ici. Notre étude contribue ainsi à approfondir notre compréhension des réponses de croissance et de développement au sein d'un plus large éventail d'espèces végétales, ornementales ou

non. Les avantages multiples observés avec l'utilisation de la stimulation mécanique, comme présenté dans la **Tableau IV**, suggèrent qu'il serait judicieux de considérer cette méthode comme une alternative aux régulateurs de croissance chimique dans la culture de l'hortensia. Ces avantages incluent un contrôle de la croissance plus durable, la promotion du développement basitone des bourgeons axillaires, et la réduction de l'élongation des tiges, tout en réduisant potentiellement l'impact environnemental de la production horticole. Par conséquent, cette technique pourrait devenir un outil précieux pour les producteurs cherchant à cultiver des hortensias plus résistants et de meilleure qualité tout en réduisant leur dépendance aux produits de l'industrie agrochimique.

**Tableau IV.** Principaux effets induits par les traitements mécaniques et lumineux en vue d'un transfert en production.

	Stimulation mécanique			Modulation du spectre lumineux		
	12 flexions par jour pendant 3 semaines	1 flexion par jour pendant 3 semaines	Retardateur de croissance chimique	Spectre lumineux enrichie en lumière bleue (400-500 nm) pendant 3 semaine	Spectre lumineux enrichie en lumière rouge clair (600-700 nm) pendant 3 semaine	Retardateur de croissance chimique
<b>Réponses morphologiques</b>	Pourcentages obtenus en comparaison avec les plantes non stimulées mécaniquement et non nanifiées chimiquement (contrôle)			Pourcentages obtenus en comparaison avec les plantes non nanifiées chimiquement et cultivées sous un spectre lumineux naturel reconstitué (contrôle)		
Élongation des tiges	- 39%	-20%	-60%	- 74%	- 73%	- 73%
Croissance diamétrale au niveau basal	+ 97%	+ 69%	- 30%	Identique au contrôle		- 9%
Surface foliaire totale	- 39%	Identique au contrôle	- 61%	- 44% pour 1 seul cultivar	Identique au contrôle	- 22%
<b>Réponses développementales</b>	En comparaison avec les plantes non stimulées mécaniquement et non nanifiées chimiquement (contrôle)			En comparaison avec les plantes non nanifiées chimiquement et cultivées sous un spectre lumineux naturel reconstitué (contrôle)		
Activité du méristème apicale caulinaire	Identique au contrôle			Identique au contrôle		
Floraison	Aucun effet négatif			Non étudiée		
Efficacité des traitements au cours du temps	Constante sur les 3 semaines		Diminution à partir de la 3 <sup>ème</sup> semaine			
<b>Transférabilité à l'entreprise</b>						
Prix d'achat du matériel	Utilisation des charriots d'arrosage existants			Min 50 000 € pour équiper 6 chapelles de LEDs bleues ou rouge clair		
Avantages supplémentaires	1. Piégeage d'insectes en ajoutant des bandes engluées sur les charriots → réduction de produits phytosanitaires 2. Économie d'énergie → arrosage et stimulation mécanique conjointe			1. Contrôle des populations de ravageurs avec la lumière bleue et rouge clair → réduction de produits phytosanitaires		



## Annexes

**ANNEXE I : Chapitre 2 – Les flexions symétriques récurrentes provoquent le nanisme chez l’hortensia à travers la régulation spatiale et moléculaire des parois cellulaires du xylème**

***SUPPLEMENTARY MATERIAL***

**Supplementary Table 1.** Accession number of gene sequences used for phylogenetic trees.

Gene ID	Name	Species	Gene ID	Name gene	Species
AT1G72680	<i>AtCAD1</i>	<i>A. thaliana</i>	AT3G48150	<i>AtCDC23</i>	<i>A. thaliana</i>
AT2G21730	<i>AtCAD2</i>	<i>A. thaliana</i>	AT1G09770	<i>AtCDC5</i>	<i>A. thaliana</i>
AT2G21890	<i>AtCAD3</i>	<i>A. thaliana</i>	AT3G25100	<i>AtCDC45</i>	<i>A. thaliana</i>
AT3G19450	<i>AtCAD4</i>	<i>A. thaliana</i>	AT2G20000	<i>AtCDC27B</i>	<i>A. thaliana</i>
AT4G34230	<i>AtCAD5</i>	<i>A. thaliana</i>	AT3G09840	<i>AtCDC48</i>	<i>A. thaliana</i>
AT4G37970	<i>AtCAD6</i>	<i>A. thaliana</i>	XP_004236154	<i>SICDC23</i>	<i>S. lycopersicum</i>
AT4G37980	<i>AtCAD7</i>	<i>A. thaliana</i>	XP_004247065	<i>SICDC45</i>	<i>S. lycopersicum</i>
AT4G37990	<i>AtCAD8</i>	<i>A. thaliana</i>	XP_004234799	<i>SICDC27B</i>	<i>S. lycopersicum</i>
AT4G39330	<i>AtCAD9</i>	<i>A. thaliana</i>	XP_004236235	<i>SICDC48</i>	<i>S. lycopersicum</i>
XP_010314515	<i>SICAD1</i>	<i>S.lycopersicum</i>	XP_028095173	<i>CsCDC23</i>	<i>C. sinensis</i>
XP_004231578	<i>SICAD6</i>	<i>S.lycopersicum</i>	XP_028122138	<i>CsCDC27B</i>	<i>C. sinensis</i>
XP_004235066	<i>SICAD9</i>	<i>S.lycopersicum</i>	AFF59215	<i>CsCDC48</i>	<i>C. sinensis</i>
AEE69007	<i>CsCAD1</i>	<i>C. sinensis</i>	BAD25679	<i>OsCDC23</i>	<i>O. sativa</i>
AEE69008	<i>CsCAD3</i>	<i>C. sinensis</i>	XP_015644326	<i>OsCDC27B</i>	<i>O. sativa</i>
XP_028070413	<i>CsCAD5</i>	<i>C. sinensis</i>	XP_015649286	<i>OsCDC48</i>	<i>O. sativa</i>
XP_028087154	<i>CsCAD6</i>	<i>C. sinensis</i>	XP_006381758	<i>PtCDC27B</i>	<i>P. trichocarpa</i>
XP_028102590	<i>CsCAD9</i>	<i>C. sinensis</i>	XP_024438373	<i>PtCDC48</i>	<i>P. trichocarpa</i>
Q8H859	<i>OsCAD1</i>	<i>O. sativa</i>	XP_024439015	<i>PtCDC5</i>	<i>P. trichocarpa</i>
Q6ZHS4	<i>OsCAD2</i>	<i>O. sativa</i>	AT4G32410	<i>AtCESA1</i>	<i>A. thaliana</i>
Q337Y2	<i>OsCAD3</i>	<i>O. sativa</i>	AT4G39350	<i>AtCESA2</i>	<i>A. thaliana</i>
Q2R114	<i>OsCAD4</i>	<i>O. sativa</i>	AT5G05170	<i>AtCESA3</i>	<i>A. thaliana</i>
Q0J6T3	<i>OsCAD5</i>	<i>O. sativa</i>	AT5G44030	<i>AtCESA4</i>	<i>A. thaliana</i>
Q7XWU3	<i>OsCAD6</i>	<i>O. sativa</i>	AT5G09870	<i>AtCESA5</i>	<i>A. thaliana</i>
Q0JA75	<i>OsCAD7</i>	<i>O. sativa</i>	AT5G64740	<i>AtCESA6</i>	<i>A. thaliana</i>
Q6ERX1	<i>OsCAD8A</i>	<i>O. sativa</i>	AT5G17420	<i>AtCESA7</i>	<i>A. thaliana</i>
Q6ERW9	<i>OsCAD8B</i>	<i>O. sativa</i>	AT4G18780	<i>AtCESA8</i>	<i>A. thaliana</i>
Q6ERW7	<i>OsCAD8C</i>	<i>O. sativa</i>	AT2G21770	<i>AtCESA9</i>	<i>A. thaliana</i>
Q6ERW5	<i>OsCAD8D</i>	<i>O. sativa</i>	AT2G25540	<i>AtCESA10</i>	<i>A. thaliana</i>
Q10PS6	<i>OsCAD9</i>	<i>O. sativa</i>	XM_004244983	<i>SICESA1</i>	<i>S. lycopersicum</i>
XP_024437027	<i>PtCAD1</i>	<i>P.trichocarpa</i>	XM_004237761	<i>SICESA2</i>	<i>S. lycopersicum</i>
XP_002301953	<i>PtCAD6</i>	<i>P.trichocarpa</i>	XM_004229582	<i>SICESA3</i>	<i>S. lycopersicum</i>
XP_002300211	<i>PtCAD9</i>	<i>P.trichocarpa</i>	XM_004247452	<i>SICESA4</i>	<i>S. lycopersicum</i>

**Supplementary Table 1.** Accession number of gene sequences used for phylogenetic trees (continued).

Gene ID	Name gene	Species	Gene ID	Name gene	Species
XM_026028144	<i>SICESA5</i>	<i>S. lycopersicum</i>	XP_028114703	<i>CsXYPL1</i>	<i>C. sinensis</i>
XM_004242566	<i>SICESA7</i>	<i>S. lycopersicum</i>	XP_028083007	<i>CsXYPL2</i>	<i>C. sinensis</i>
XM_004232976	<i>SICESA8</i>	<i>S. lycopersicum</i>	XP_004238156	<i>SIXYP1</i>	<i>S. lycopersicum</i>
Q6AT26	<i>OsCESA1</i>	<i>O. sativa</i>	XP_004235821	<i>SIXYP2</i>	<i>S. lycopersicum</i>
Q84M43	<i>OsCESA2</i>	<i>O. sativa</i>	Q6ASY2	<i>OsXYP1</i>	<i>O. sativa</i>
Q69V23	<i>OsCESA3</i>	<i>O. sativa</i>	XP_006385219	<i>PtXYP1</i>	<i>P. trichocarpa</i>
Q5JN63	<i>OsCESA4</i>	<i>O. sativa</i>	AT1G02500	<i>AtSAMS1</i>	<i>A. thaliana</i>
Q851L8	<i>OsCESA5</i>	<i>O. sativa</i>	AT4G01850	<i>AtSAMS2</i>	<i>A. thaliana</i>
Q6YVM4	<i>OsCESA6</i>	<i>O. sativa</i>	AT2G36880	<i>AtSAMS3</i>	<i>A. thaliana</i>
Q9AV71	<i>OsCESA7</i>	<i>O. sativa</i>	AT3G17390	<i>AtSAMS4</i>	<i>A. thaliana</i>
Q84ZN6	<i>OsCESA8</i>	<i>O. sativa</i>	NP_001389410	<i>OsSAMS1</i>	<i>O. sativa</i>
Q69P51	<i>OsCESA9</i>	<i>O. sativa</i>	NP_001393225	<i>OsSAMS2</i>	<i>O. sativa</i>
Q69XK5	<i>OsCESA11</i>	<i>O. sativa</i>	NP_001396337	<i>OsSAMS3</i>	<i>O. sativa</i>
XP_028108618	<i>CsCESA1</i>	<i>C. sinensis</i>	NP_001234425	<i>SISAMS1</i>	<i>S. lycopersicum</i>
XP_028077069	<i>CsCESA3</i>	<i>C. sinensis</i>	NP_001296305	<i>SISAMS2</i>	<i>S. lycopersicum</i>
XP_028065958	<i>CsCESA4</i>	<i>C. sinensis</i>	NP_001304005	<i>SISAMS3</i>	<i>S. lycopersicum</i>
XP_028066397	<i>CsCESA5</i>	<i>C. sinensis</i>	XP_028101546	<i>CsSAMS1</i>	<i>C. sinensis</i>
XP_024459035	<i>PtCESA1</i>	<i>P. trichocarpa</i>	XP_028089041	<i>CsSAMS2</i>	<i>C. sinensis</i>
XP_002310628	<i>PtCESA2</i>	<i>P. trichocarpa</i>	QGI57475	<i>CsSAMS3</i>	<i>C. sinensis</i>
XP_052308938	<i>PtCESA3</i>	<i>P. trichocarpa</i>	AFR41292	<i>PtSAMS1</i>	<i>P. trichocarpa</i>
XP_002301856	<i>PtCESA4</i>	<i>P. trichocarpa</i>	AT5G55730	<i>AtFLA1</i>	<i>A. thaliana</i>
AT5G64080	<i>AtXYP1</i>	<i>A. thaliana</i>	AT4G12730	<i>AtFLA2</i>	<i>A. thaliana</i>
AT2G13820	<i>AtXYP2</i>	<i>A. thaliana</i>	AT2G24450	<i>AtFLA3</i>	<i>A. thaliana</i>
AT4G08670	<i>AtXYPL3</i>	<i>A. thaliana</i>	AT3G46550	<i>AtFLA4</i>	<i>A. thaliana</i>
AT5G09370	<i>AtXYPL4</i>	<i>A. thaliana</i>	AT4G31370	<i>AtFLA5</i>	<i>A. thaliana</i>
AT1G36150	<i>AtXYPL5</i>	<i>A. thaliana</i>	AT2G20520	<i>AtFLA6</i>	<i>A. thaliana</i>
AT1G55260	<i>AtXYPL6</i>	<i>A. thaliana</i>	AT2G04780	<i>AtFLA7</i>	<i>A. thaliana</i>
AT2G44300	<i>AtXYPL7</i>	<i>A. thaliana</i>	AT2G45470	<i>AtFLA8</i>	<i>A. thaliana</i>
AT4G14815	<i>AtXYPL8</i>	<i>A. thaliana</i>	AT1G03870	<i>AtFLA9</i>	<i>A. thaliana</i>
AT2G44290	<i>AtXYPL9</i>	<i>A. thaliana</i>	AT3G60900	<i>AtFLA10</i>	<i>A. thaliana</i>
AT3G43720	<i>AtXYPL10</i>	<i>A. thaliana</i>	AT5G03170	<i>AtFLA11</i>	<i>A. thaliana</i>
AT2G48130	<i>AtXYPL11</i>	<i>A. thaliana</i>	AT5G60490	<i>AtFLA12</i>	<i>A. thaliana</i>
AT3G22600	<i>AtXYPL12</i>	<i>A. thaliana</i>	AT5G44130	<i>AtFLA13</i>	<i>A. thaliana</i>
AT2G27130	<i>AtXYPL13</i>	<i>A. thaliana</i>	XP_004244059	<i>SIFLA1</i>	<i>S. lycopersicum</i>

**Supplementary Table 1.** Accession number of gene sequences used for phylogenetic trees (continued).

Gene ID	Name gene	Species	Gene ID	Name	Species
XP_010323900	<i>SIFLA2</i>	<i>S. lycopersicum</i>	XP_002318877	<i>PtFLA12</i>	<i>P. trichocarpa</i>
XP_010324668	<i>SIFLA3</i>	<i>S. lycopersicum</i>	AT1G53840	<i>AtPME1</i>	<i>A. thaliana</i>
XP_004236212	<i>SIFLA4</i>	<i>S. lycopersicum</i>	AT1G53830	<i>AtPME2</i>	<i>A. thaliana</i>
XP_004243817	<i>SIFLA9</i>	<i>S. lycopersicum</i>	AT3G14310	<i>AtPME3</i>	<i>A. thaliana</i>
XP_004229828	<i>SIFLA10</i>	<i>S. lycopersicum</i>	AT3G14300	<i>AtPME26</i>	<i>A. thaliana</i>
XP_004241271	<i>SIFLA11</i>	<i>S. lycopersicum</i>	AT2G21610	<i>AtPE11</i>	<i>A. thaliana</i>
XP_004246667	<i>SIFLA12</i>	<i>S. lycopersicum</i>	XP_015637427	<i>OsPE</i>	<i>O. sativa</i>
XP_028115805	<i>CsFLA2</i>	<i>C. sinensis</i>	NP_001234151	<i>SIPLE1</i>	<i>S.lycopersicum</i>
XP_028113112	<i>CsFLA3</i>	<i>C. sinensis</i>	XP_004251642	<i>SIPLE53</i>	<i>S.lycopersicum</i>
XP_028096664	<i>CsFLA4</i>	<i>C. sinensis</i>	XP_052309727	<i>PtPE</i>	<i>P. trichocarpa</i>
XP_028070057	<i>CsFLA7</i>	<i>C. sinensis</i>	XP_028069975	<i>CsPE</i>	<i>C. sinensis</i>
XP_028083688	<i>CsFLA8</i>	<i>C. sinensis</i>	AT3G26610	<i>AtPGX1</i>	<i>A. thaliana</i>
XP_028117085	<i>CsFLA10</i>	<i>C. sinensis</i>	AT1G78400	<i>AtPGX2</i>	<i>A. thaliana</i>
XP_025882038	<i>OsFLA1</i>	<i>O. sativa</i>	AT1G48100	<i>AtPGX3</i>	<i>A. thaliana</i>
XP_015611848	<i>OsFLA2</i>	<i>O. sativa</i>	AAC28903	<i>SIPLG1</i>	<i>S.lycopersicum</i>
XP_015624947	<i>OsFLA3</i>	<i>O. sativa</i>	AAC28904	<i>SIPLG2</i>	<i>S.lycopersicum</i>
XP_015638227	<i>OsFLA4</i>	<i>O. sativa</i>	AAC28902	<i>SIPLG3</i>	<i>S.lycopersicum</i>
XP_015624844	<i>OsFLA5</i>	<i>O. sativa</i>	AAC28905	<i>SIPLG4</i>	<i>S.lycopersicum</i>
XP_015648760	<i>OsFLA7</i>	<i>O. sativa</i>	AAC28906	<i>SIPLG5</i>	<i>S.lycopersicum</i>
XP_015634047	<i>OsFLA8</i>	<i>O. sativa</i>	AAC70951	<i>SIPLG7</i>	<i>S.lycopersicum</i>
XP_015628294	<i>OsFLA10</i>	<i>O. sativa</i>	BAD88298	<i>OsPG1</i>	<i>O. sativa</i>
XP_015638718	<i>OsFLA11</i>	<i>O. sativa</i>	BAD54709	<i>OsPG2</i>	<i>O. sativa</i>
XP_015638062	<i>OsFLA13</i>	<i>O. sativa</i>	XP_006372684	<i>PtPLG</i>	<i>P. trichocarpa</i>
XP_025881847	<i>OsFLA14</i>	<i>O. sativa</i>	XP_024451537	<i>PtPGX3</i>	<i>P. trichocarpa</i>
XP_015647857	<i>OsFLA15</i>	<i>O. sativa</i>	XP_028088346	<i>CsPGX3</i>	<i>C. sinensis</i>
XP_015632406	<i>OsFLA16</i>	<i>O. sativa</i>	XP_028119719	<i>CsPLG</i>	<i>C. sinensis</i>
XP_002298869	<i>PtFLA1</i>	<i>P. trichocarpa</i>	AT4G13080	<i>AtXTH1</i>	<i>A. thaliana</i>
XP_002320524	<i>PtFLA2</i>	<i>P. trichocarpa</i>	AT4G13090	<i>AtXTH2</i>	<i>A. thaliana</i>
XP_006371803	<i>PtFLA3</i>	<i>P. trichocarpa</i>	AT3G25050	<i>AtXTH3</i>	<i>A. thaliana</i>
XP_024459316	<i>PtFLA4</i>	<i>P. trichocarpa</i>	AT2G06850	<i>AtXTH4</i>	<i>A. thaliana</i>
XP_024440100	<i>PtFLA7</i>	<i>P. trichocarpa</i>	AT5G13870	<i>AtXTH5</i>	<i>A. thaliana</i>
XP_002320736	<i>PtFLA10</i>	<i>P. trichocarpa</i>	AT5G65730	<i>AtXTH6</i>	<i>A. thaliana</i>
XP_024458728	<i>PtFLA11</i>	<i>P. trichocarpa</i>	AT4G37800	<i>AtXTH7</i>	<i>A. thaliana</i>

**Supplementary Table 1.** Accession number of gene sequences used for phylogenetic trees (continued).

Gene ID	Name gene	Species	Gene ID	Name gene	Species
AT1G11545	<i>AtXTH8</i>	<i>A. thaliana</i>	XP_024459409	<i>PtXTH7</i>	<i>P. trichocarpa</i>
AT4G03210	<i>AtXTH9</i>	<i>A. thaliana</i>	XP_002324481	<i>PtXTH23</i>	<i>P. trichocarpa</i>
AT2G14620	<i>AtXTH10</i>	<i>A. thaliana</i>	XP_006368348	<i>PtXTH30</i>	<i>P. trichocarpa</i>
AT3G48580	<i>AtXTH11</i>	<i>A. thaliana</i>	XP_002320268	<i>PtXTH33</i>	<i>P. trichocarpa</i>
AT5G57530	<i>AtXTH12</i>	<i>A. thaliana</i>	XP_028099004	<i>CsXTH7</i>	<i>C. sinensis</i>
AT5G57540	<i>AtXTH13</i>	<i>A. thaliana</i>	XP_028097969	<i>CsXTH23</i>	<i>C. sinensis</i>
AT4G25820	<i>AtXTH14</i>	<i>A. thaliana</i>	XP_028076879	<i>CsXTH26</i>	<i>C. sinensis</i>
AT4G14130	<i>AtXTH15</i>	<i>A. thaliana</i>	AT2G20750	<i>AtEXPB1</i>	<i>A. thaliana</i>
AT3G23730	<i>AtXTH16</i>	<i>A. thaliana</i>	AT1G65680	<i>AtEXPB2</i>	<i>A. thaliana</i>
AT1G65310	<i>AtXTH17</i>	<i>A. thaliana</i>	AT4G28250	<i>AtEXPB3</i>	<i>A. thaliana</i>
AT4G30280	<i>AtXTH18</i>	<i>A. thaliana</i>	AT2G45110	<i>AtEXPB4</i>	<i>A. thaliana</i>
AT4G30290	<i>AtXTH19</i>	<i>A. thaliana</i>	AT3G60570	<i>AtEXPB5</i>	<i>A. thaliana</i>
AT5G48070	<i>AtXTH20</i>	<i>A. thaliana</i>	AT1G65681	<i>AtEXPB6</i>	<i>A. thaliana</i>
AT2G18800	<i>AtXTH21</i>	<i>A. thaliana</i>	Q40638	<i>OzEXPB1</i>	<i>O. sativa</i>
AT5G57560	<i>AtXTH22</i>	<i>A. thaliana</i>	O24230	<i>OzEXPB2</i>	<i>O. sativa</i>
AT4G25810	<i>AtXTH23</i>	<i>A. thaliana</i>	Q336T5	<i>OzEXPB3</i>	<i>O. sativa</i>
AT4G30270	<i>AtXTH24</i>	<i>A. thaliana</i>	Q94LR4	<i>OzEXPB4</i>	<i>O. sativa</i>
AT5G57550	<i>AtXTH25</i>	<i>A. thaliana</i>	Q7XT39	<i>OzEXPB5</i>	<i>O. sativa</i>
AT4G28850	<i>AtXTH26</i>	<i>A. thaliana</i>	Q7XCA7	<i>OzEXPB6</i>	<i>O. sativa</i>
AT2G01850	<i>AtXTH27</i>	<i>A. thaliana</i>	Q9LD07	<i>OzEXPB7</i>	<i>O. sativa</i>
AT1G14720	<i>AtXTH28</i>	<i>A. thaliana</i>	Q10T32	<i>OzEXPB8</i>	<i>O. sativa</i>
AT4G18990	<i>AtXTH29</i>	<i>A. thaliana</i>	Q7XCG7	<i>OzEXPB9</i>	<i>O. sativa</i>
AT1G32170	<i>AtXTH30</i>	<i>A. thaliana</i>	Q8H7T4	<i>OzEXPB10</i>	<i>O. sativa</i>
AT3G44990	<i>AtXTH31</i>	<i>A. thaliana</i>	Q6H676	<i>OzEXPB11</i>	<i>O. sativa</i>
AT2G36870	<i>AtXTH32</i>	<i>A. thaliana</i>	Q10G40	<i>OzEXPB12</i>	<i>O. sativa</i>
AT1G10550	<i>AtXTH33</i>	<i>A. thaliana</i>	Q946J4	<i>OzEXPB13</i>	<i>O. sativa</i>
NP_001234475	<i>SIXTH7</i>	<i>S. lycopersicum</i>	Q6H677	<i>OzEXPB14</i>	<i>O. sativa</i>
XP_004235158	<i>SIXTH23</i>	<i>S. lycopersicum</i>	Q7XT40	<i>OzEXPB15</i>	<i>O. sativa</i>
XP_004238674	<i>SIXTH33</i>	<i>S. lycopersicum</i>	Solyc10g008440	<i>SlEXPB1</i>	<i>S. lycopersicum</i>
NP_001390454	<i>OsXTH8</i>	<i>O. sativa</i>	NP_001233766	<i>SlEXPB2</i>	<i>S. lycopersicum</i>
XP_015641106	<i>OsXTH23</i>	<i>O. sativa</i>	XP_004243343	<i>SlEXPB3</i>	<i>S. lycopersicum</i>
BAD06579	<i>OsXTH5</i>	<i>O. sativa</i>	XP_004243861	<i>SlEXPB14</i>	<i>S. lycopersicum</i>
Q76BW5	<i>OsXTH8</i>	<i>O. sativa</i>	XP_028119054	<i>CsEXLB1</i>	<i>C. sinensis</i>

**Supplementary Table 1.** Accession number of gene sequences used for phylogenetic trees (continued).

Gene ID	Name gene	Species	Gene ID	Name gene	Species
XP_028071704	<i>CsEXLB3</i>	<i>C. sinensis</i>	XP_024463835	<i>PtEXLB1</i>	<i>P. trichocarpa</i>
XP_028119831	<i>CsEXPB2</i>	<i>C. sinensis</i>	XP_002320708	<i>PtEXPB2</i>	<i>P. trichocarpa</i>
XP_028072058	<i>CsEXPB14</i>	<i>C. sinensis</i>	XP_002319359	<i>PtEXPB3</i>	<i>P. trichocarpa</i>
XP_028108410	<i>CsEXPB15</i>	<i>C. sinensis</i>	AAF08174	<i>HmNADH</i>	<i>H. macrophylla</i>
XP_028108409	<i>CsEXPB18</i>	<i>C. sinensis</i>			

**Supplementary Table 2.** RT-qPCR primers used in this study.

Name genes	Forward primers	Reverse primers	Sequence position on the <i>H. macrophylla</i> genome (GCA_013391905.1) (Forward/Reverse)
<i>HmEXPB3</i>	ACTTCCATTTGCT CCCGGAG	CACTGAGGTCGA AGTGGGTC	370630 to 370649 / 370707 to 370726
<i>HmPE1</i>	TGCGCTCCTATGA ACTTGCA	CAGGGGCACTAG GAAAGCAA	201871 to 201890 / 201936 to 201955
<i>HmPGX3</i>	ACGGTCAGCAAC ACGGTAAT	TGCCAGTTACTGA ACCCGAC	617766 to 617785 / 617831 to 617850
<i>HmXTH33</i>	TGAGTGTTCACC AGAATGC	TGGAAGTGTC AACAGGACGA	887820 to 887839 / 887891 to 887912
<i>HmCESA5</i>	ATTGCAGTCCAGT CCACAATC	TCCATTCTCCTTG CATCAATC	81694 to 81714 / 81778 to 81798
<i>HmFLA11</i>	TTGCTGGCGGTTT GAAACTG	CATATTCGCTCCG ACCGACA	40397 to 40416 / 40521 to 40540
<i>HmCDC23</i>	CAGCAACTATATC CAGGCTCAGAT	TCAACTCGGTAA GGATCGTTTCTT	4272303 to 4272326 / 4272390 to 4272413
<i>HmCAD1</i>	TCTTGCATCCGAG TCACGTC	CGTTGGACACAT GGGGGTTA	487691 to 487710 / 487818 to 487837
<i>HmSAMS1</i>	TTCTCATCCAGGT ACTTTTCAGGG	TTAGGGTCCACAC GGTTCTTATTT	410230 to 410253 / 410330 to 410353
<i>HmXYP1</i>	CCGGAAGGTACTT GCTGTTC	TTCAAGCTCACAC CCAACCTG	136550 to 136569 / 136634 to 136653
<i>HmPP2A</i>	GTGCAAGCCTCTG ACGGAG	TGTACATTCCATT CTTCAACGAGA	922724 to 922742 / 922781 to 922804
<i>HmEF1a</i>	TCAAGAACCGGG GCATAACC	ACGTGGGTATGTT GCCTCG	1193272 to 1193291 / 1193376 to 1193394
<i>Hm18SRNA</i> (Chen et al., 2015)	GGAAGTTTGAGGC AATAACAGG	ATTGCAATGATCT ATCCCCATC	7640 to 7661 / 7511 to 7532
<i>HmACTIN</i> (Peng et al., 2021)	GCCTGCCATGTAT GTTGCCATC	CGGAATCCAGCA CAATACCAGTTG	4910515 to 4910536 / 4911242 to 4911260

## **ANNEXE II : Chapitre 3 – La mémoire d'*Hydrangea macrophylla* à la stimulation mécanique**

### ***CHROMATIN EXTRACTION PROTOCOL***

#### **Isolation of nuclei for DNase I Digestion: (protocol adapted from Zhang et Jiang, 2015)**

1. Grind 2–10 g of fresh young plant tissue of interest to fine powder with a mortar and pestle in liquid nitrogen and transfer the ground powder into a 50 mL ice-cold falcon tube.
2. Add ice-cold NIB containing 0.15 % mercaptoethanol to suspend the powder using a chilled spatula. The volume of NIB should be similar to the volume of the powder.
3. Gently agitate the tube on ice for 10 min to completely mix the powder.
4. Filter the well-mixed slurry solution through a folded four- layer Miracloth into a new 50 mL falcon tube.
5. Centrifuge the filtered solution at 10 100 g during 15 min at 4 °C.
6. Decant the supernatant as much as possible.
7. Add 10 mL of NWB to resuspend the pellet and centrifuge at 10 100 g for 15 min at 4 °C.
8. Add 10 mL of NWB to resuspend the pellet and centrifuge at 10 100 g for 15 min at 4 °C.
9. Add 10 mL of NWB to resuspend the pellet and centrifuge at 10 100 g for 15 min at 4 °C.
10. Add 10 mL of NWB to resuspend the pellet and centrifuge at 12 000 g for 5 min at 4 °C.
11. Filter the well-mixed slurry solution through a folded four- layer Miracloth into a new 50 mL falcon tube.
12. Add 10 mL of NWB to resuspend the pellet and centrifuge at 12 000 g for 5 min at 4 °C.
13. Add 10 mL of NWB to resuspend the pellet and centrifuge at 12 000 g for 5 min at 4 °C.
14. Remove the supernatant and add 10 mL of NWB to resuspend the pellet and centrifuge at 13 500 g for 15 min at 4 °C.
15. Add 10 mL of NDB to equilibrate the nuclei and centrifuge at 12 000 g for 10 min at 4 °C.

#### **DNase I digestion: (protocol adapted from Zhang et Jiang, 2015)**

17. Gently resuspend nuclei in 900 µL of **ice-cold NDB** using paintbrush.
18. Divide the resuspended nuclei into 2 mL Eppendorf tubes (80 µL nuclei per aliquot) and keep the samples on ice.
19. Add various amount of DNase I to each tube with the precise enzyme amounts specified and mix well by gently inverting the tubes several times.



20. Incubate the tubes at 37 °C in a water bath for 10 min; gently mix every 3 min during incubation.
21. Add 80 µl of 50 mM EDTA to stop the reactions, mix the samples well by inverting the tubes several times and place them on ice.

**DNA extraction: (protocol adapted from Lafon-Placette et al., 2013; Vilanova et al., 2020)**

22. Add 850 µL of CTAB per tubes and keep in the fridge (4°C) overnight.
23. Reverse the tubes several times and incubate for 1h at 60°C.
24. Add 1 mL of Chloroform/Isoamyl alcohol (24 :1), mix by inversion during 1 min and centrifuge at 14 000 g during 10 min at 4°C.
25. Transfer the aqueous phase (≈ 800 µL) to a new tube, add 4.5 µL RNase (10 mg/mL) per mL of CTAB buffer.
26. Incubate for 1 h at 37°C.
27. Add 800 µL of Chloroform/Isoamyl alcohol (24 :1), mix by inversion during 1 min and centrifuge at 14 000 g during 10 min at 4°C.
28. Collect the supernatant (≈ 700 µL) and place into new 2 mL tubes.
29. Add 480 µL of binding buffer and gently invert the tubes.
30. Add 720 µL of absolute ethanol and gently invert the tubes.
31. Add 20 µL of silica matrix and gently invert the tubes during 5 min.
32. Centrifuge very quickly (5 to 6 seconds) and discard the supernatant.
33. Add 700 µL of ethanol 70° and vortex to remove the pellet.
34. Centrifuge very quickly (5 to 6 seconds) and discard the supernatant.
35. Allow the pellet to dry in an oven.
36. Add 100 µL of elution buffer, gently invert the tubes and incubate during 5 min at 65°C.
37. Centrifuge at 15 000 g during 15 min at room temperature.
38. Transfer 90 µL of supernatant into new 1.5 mL tubes.
39. Centrifuge at 14 000 rpm during 5 min at room temperature.
40. Transfer 175 µL of supernatant into new 1.5 mL tubes.
41. Dosage of Cubit samples. Really avoid Nanodrop.
42. Use an ultrapure agarose gel of 2% to load DNA samples. Migrate the gel at 50V for 60 min.

**ANNEXE III : Chapitre 5 – La modulation de la qualité lumineuse  
augmente la compacité chez l'hortensia**

***SUPPLEMENTARY MATERIAL***

**Supplementary Table 1.** Accession number of gene sequences used for phylogenetic trees.

Gene ID	Name gene	Species	Gene ID	Name gene	Species
AT1G14920	<i>AtGAI</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	AT4G25420	<i>AtGA20OX1</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>
AT2G01570	<i>AtRGA</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	AT5G51810	<i>AtGA20OX2</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>
AT1G66350	<i>AtRGL1</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	AT5G07200	<i>AtGA20OX3</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>
AT3G03450	<i>AtRGL2</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	AT1G60980	<i>AtGA20OX4</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>
AT5G17490	<i>AtRGL3</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	AT1G44090	<i>AtGA20OX5</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>
Q7Y1B6	<i>SIGAI</i>	<i>Solanum lycopersicum</i>	NP_001234070	<i>SIGA20OX1</i>	<i>Solanum lycopersicum</i>
Q7G7J6	<i>OsGAI</i>	<i>Oryza sativa</i>	NP_001234628	<i>SIGA20OX2</i>	<i>Solanum lycopersicum</i>
AUD40405	<i>CsDELLA1</i>	<i>Camellia sinensis</i>	NP_001234579	<i>SIGA20OX3</i>	<i>Solanum lycopersicum</i>
AUD40406	<i>CsDELLA2</i>	<i>Camellia sinensis</i>	NP_001234363	<i>SIGA20OX4</i>	<i>Solanum lycopersicum</i>
AUD40407	<i>CsDELLA3</i>	<i>Camellia sinensis</i>	P93771	<i>OsGA20OX1</i>	<i>Oryza sativa</i>
AUD40408	<i>CsDELLA4</i>	<i>Camellia sinensis</i>	P0C5H5	<i>OsGA20OX2</i>	<i>Oryza sativa</i>
AT1G15550	<i>AtGA3OX1</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q69LD8	<i>OsGA20OX3</i>	<i>Oryza sativa</i>
AT1G80340	<i>AtGA3OX2</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	AGV40767	<i>CsGA20OX1</i>	<i>Camellia sinensis</i>
AT4G21690	<i>AtGA3OX3</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	AUD40401	<i>CsGA20OX2</i>	<i>Camellia sinensis</i>
AT1G80330	<i>AtGA3OX4</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	AVZ45852	<i>CsGA20OX3</i>	<i>Camellia sinensis</i>
NM_001246919	<i>SIGA3OX1</i>	<i>Solanum lycopersicum</i>	AT1G78440	<i>AtGA2OX1</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>
NM_001246926	<i>SIGA3OX2</i>	<i>Solanum lycopersicum</i>	AT1G30040	<i>AtGA2OX2</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>
AHC32022	<i>CsGA3OX1</i>	<i>Camellia sinensis</i>	AT2G34555	<i>AtGA2OX3</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>
AUD40404	<i>CsGA3OX2</i>	<i>Camellia sinensis</i>	AT1G47990	<i>AtGA2OX4</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>
AVZ45854	<i>CsGA3OX3</i>	<i>Camellia sinensis</i>	AT1G02400	<i>AtGA2OX6</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>
Q6AT12	<i>OsGA3OX1</i>	<i>Oryza sativa</i>	AT1G50960	<i>AtGA2OX7</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>
Q9FU53	<i>OsGA3OX2</i>	<i>Oryza sativa</i>	AT4G21200	<i>AtGA2OX8</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>
Q7XP65	<i>OsGA3OX6</i>	<i>Oryza sativa</i>	Solyc05g053340	<i>SIGA2OX1</i>	<i>Solanum lycopersicum</i>
solyc02g080120	<i>SIGA2OX7</i>	<i>Solanum lycopersicum</i>	Solyc07g056670	<i>SIGA2OX2</i>	<i>Solanum lycopersicum</i>
ASJ80913	<i>CsGA2OX1</i>	<i>Camellia sinensis</i>	Solyc01g079200	<i>SIGA2OX3</i>	<i>Solanum lycopersicum</i>
ASJ80914	<i>CsGA2OX2</i>	<i>Camellia sinensis</i>	Solyc07g061720	<i>SIGA2OX4</i>	<i>Solanum lycopersicum</i>
ASJ80915	<i>CsGA2OX3</i>	<i>Camellia sinensis</i>	Solyc07g061730	<i>SIGA2OX5</i>	<i>Solanum lycopersicum</i>
AVZ45855	<i>CsGA2OX4</i>	<i>Camellia sinensis</i>	AVZ45857	<i>CsGA2OX7</i>	<i>Camellia sinensis</i>
AVZ45856	<i>CsGA2OX6</i>	<i>Camellia sinensis</i>	AVZ45858	<i>CsGA2OX78</i>	<i>Camellia sinensis</i>
Q5W726	<i>OsGA2OX1</i>	<i>Oryza sativa</i>	AT1G62360	<i>AtSTM1</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>
Q5ZA21	<i>OsGA2OX2</i>	<i>Oryza sativa</i>	AT4G08150	<i>AtKNAT1</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>
Q8S0S6	<i>OsGA2OX3</i>	<i>Oryza sativa</i>	AT1G70510	<i>AtKNAT2</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>
Q8LGZ9	<i>OsGA2OX5</i>	<i>Oryza sativa</i>	AT5G25220	<i>AtKNAT3</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>
Q7XP65	<i>OsGA2OX6</i>	<i>Oryza sativa</i>	AT5G11060	<i>AtKNAT4</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>

**Supplementary Table 1.** Accession number of gene sequences used for phylogenetic trees (*continued*).

Gene ID	Name	Species	Gene ID	Name gene	Species
AT4G32040	<i>AtKNAT5</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	XP_024456723	<i>PtKNAT1</i>	<i>Populus trichocarpa</i>
AT1G23380	<i>AtKNAT6</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	XP_002301134	<i>PtKNAT2</i>	<i>Populus trichocarpa</i>
AT1G62990	<i>AtKNAT7</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	XP_024459661	<i>PtKNAT3</i>	<i>Populus trichocarpa</i>
NP_001233941	<i>SILET6</i>	<i>Solanum lycopersicum</i>	XP_006374529	<i>PtKNAT6</i>	<i>Populus trichocarpa</i>
NP_001233945	<i>SILET12</i>	<i>Solanum lycopersicum</i>	XP_028097641	<i>CsKNAT1</i>	<i>Camellia sinensis</i>
XP_019068272	<i>SIKNAT2</i>	<i>Solanum lycopersicum</i>	XP_028104355	<i>CsKNAT2</i>	<i>Camellia sinensis</i>
XP_004244941	<i>SIKNAT3</i>	<i>Solanum lycopersicum</i>	XP_028115052	<i>CsKNAT3</i>	<i>Camellia sinensis</i>
XP_024456723	<i>PtKNAT1</i>	<i>Populus trichocarpa</i>	XP_028092972	<i>CsKNAT4</i>	<i>Camellia sinensis</i>
XP_002301134	<i>PtKNAT2</i>	<i>Populus trichocarpa</i>	XP_028073991	<i>CsKNAT5</i>	<i>Camellia sinensis</i>
XP_024459661	<i>PtKNAT3</i>	<i>Populus trichocarpa</i>	XP_028068158	<i>CsKNAT6</i>	<i>Camellia sinensis</i>
AT5G11060	<i>AtKNAT4</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	NP_001388421	<i>OsKNAT1</i>	<i>Oryza sativa</i>
AT4G32040	<i>AtKNAT5</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	NP_001396291	<i>OsKNAT2</i>	<i>Oryza sativa</i>
AT1G23380	<i>AtKNAT6</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	NP_001388957	<i>OsKNAT3</i>	<i>Oryza sativa</i>
AT1G62990	<i>AtKNAT7</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	NP_001405333	<i>OsKNAT4</i>	<i>Oryza sativa</i>
NP_001233941	<i>SILET6</i>	<i>Solanum lycopersicum</i>	XP_006651679	<i>OsKNAT5</i>	<i>Oryza sativa</i>
NP_001233945	<i>SILET12</i>	<i>Solanum lycopersicum</i>	NP_001389174	<i>OsKNAT6</i>	<i>Oryza sativa</i>
XP_019068272	<i>SIKNAT2</i>	<i>Solanum lycopersicum</i>	NP_001405555	<i>OsKNAT7</i>	<i>Oryza sativa</i>
XP_004244941	<i>SIKNAT3</i>	<i>Solanum lycopersicum</i>	NP_001405653	<i>OsKNAT8</i>	<i>Oryza sativa</i>
Q40638	<i>OzEXPB1</i>	<i>Oryza sativa</i>	XP_025879690	<i>OsKNAT9</i>	<i>Oryza sativa</i>
O24230	<i>OzEXPB2</i>	<i>Oryza sativa</i>	NP_001407056	<i>OsKNAT10</i>	<i>Oryza sativa</i>
Q336T5	<i>OzEXPB3</i>	<i>Oryza sativa</i>	NP_001389827	<i>OsKNAT11</i>	<i>Oryza sativa</i>
Q94LR4	<i>OzEXPB4</i>	<i>Oryza sativa</i>	NP_001389921	<i>OsKNAT12</i>	<i>Oryza sativa</i>
Q7XT39	<i>OzEXPB5</i>	<i>Oryza sativa</i>	XP_052165404	<i>OsKNAT13</i>	<i>Oryza sativa</i>
Q7XCA7	<i>OzEXPB6</i>	<i>Oryza sativa</i>	AT2G20750	<i>AtEXPB1</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>
Q9LD07	<i>OzEXPB7</i>	<i>Oryza sativa</i>	AT1G65680	<i>AtEXPB2</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>
Q10T32	<i>OzEXPB8</i>	<i>Oryza sativa</i>	AT4G28250	<i>AtEXPB3</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>
Q7XCG7	<i>OzEXPB9</i>	<i>Oryza sativa</i>	AT2G45110	<i>AtEXPB4</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>
Q8H7T4	<i>OzEXPB10</i>	<i>Oryza sativa</i>	AT3G60570	<i>AtEXPB5</i>	<i>Arabidopsis</i>
Q6H676	<i>OzEXPB11</i>	<i>Oryza sativa</i>	AT1G65681	<i>AtEXPB6</i>	<i>Arabidopsis</i>
Q10G40	<i>OzEXPB12</i>	<i>Oryza sativa</i>	Solyc10g008440	<i>SlEXPB1</i>	<i>Solanum</i>
Q946J4	<i>OzEXPB13</i>	<i>Oryza sativa</i>	NP_001233766	<i>SlEXPB2</i>	<i>Solanum</i>
Q6H677	<i>OzEXPB14</i>	<i>Oryza sativa</i>	XP_004243343	<i>SlEXPB3</i>	<i>Solanum</i>
Q7XT40	<i>OzEXPB15</i>	<i>Oryza sativa</i>	XP_004243861	<i>SlEXPB14</i>	<i>Solanum</i>

**Supplementary Table 1.** Accession number of gene sequences used for phylogenetic trees (*continued*).

Gene ID	Name gene	Species
XP_028119054	<i>CsEXLB1</i>	<i>Camellia sinensis</i>
XP_028071704	<i>CsEXLB3</i>	<i>Camellia sinensis</i>
XP_028119831	<i>CsEXPB2</i>	<i>Camellia sinensis</i>
XP_028072058	<i>CsEXPB14</i>	<i>Camellia sinensis</i>
XP_028108410	<i>CsEXPB15</i>	<i>Camellia sinensis</i>
XP_028108409	<i>CsEXPB18</i>	<i>Camellia sinensis</i>
XP_024463835	<i>PtEXLB1</i>	<i>Populus trichocarpa</i>
XP_002320708	<i>PtEXPB2</i>	<i>Populus trichocarpa</i>
XP_002319359	<i>PtEXPB3</i>	<i>Populus trichocarpa</i>

**Supplementary Table 2.** RT-qPCR primers used in this study.

Name genes	Forward primers	Reverse primers	Sequence position on the <i>H. macrophylla</i> genome (GCA_013391905.1) (Forward/Reverse)
<i>HmEXPB2</i>	ACCTGCCGGAAT GACATTGT	GGGTGCAGTTTG GAAGCTTG	2359864 to 2359883 / 2359959 to 2359978
<i>HmKNAT7</i>	TGGCTGTTTGAG AGTTGCTG	AAGGCAAAGCT TGTGGAAGA	830639 to 830658 / 830722 to 830741
<i>HmGAI</i>	TGAATTTTCGTGG ATTCGTCA	GAGACAAGAGC CGATGAAGC	2197471 to 2197490 / 2197366 to 2197385
<i>HmGA2ox8</i>	CGGATTAATGCC ACACACTG	ACTGCAATCCAC TTCCCATC	261814 to 261833 / 261893 to 261912
<i>HmGA3ox1</i>	GGATTGTGAGCA GGGTGGAA	GAACTCCTACCC TGC GTGTC	220839 to 220858 / 220899 to 220918
<i>HmGA20ox1</i>	CCAATGTTGACA ACAAAAGCGC	TTCACCAAGATA CTGTGGGTGG	1192636 to 1192657 / 1192708 to 1192729

**ANNEXE IV : Liste des communications pendant la thèse**

- 1- **Ley-Ngardigal B**, Guérin V, Huché-Thélier L, Brouard N, Eveleens T, Roman H, Leduc N. Impact of mechanical stimulation on *Hydrangea macrophylla*. 30 Juin et 1<sup>er</sup> Juillet 2022. Journées Scientifiques de l'ED EGAAL. Rennes, France. (Poster)
- 2- **Ley-Ngardigal B**, Guérin V, Huché-Thélier L, Brouard N, Eveleens T, Roman H, Leduc N. Impact of mechanical stimulation on *Hydrangea macrophylla*. 14 au 20 Août 2022. 31<sup>ème</sup> Congrès International d'Horticulture (IHC 2022), Angers, France. (Communication oral)
- 3- Roman H, Guérin V, Huché-Thélier L, **Ley-Ngardigal B**, Herbomez E, Eveleens T, Leduc N. Effect of different Al supplies during vegetative phase on sepal blueing in hydrangea inflorescence. 31<sup>ème</sup> Congrès International d'Horticulture (IHC 2022), Angers, France. (Communication oral)
- 4- Guérin V, Roman H, Huché-Thélier L, **Ley-Ngardigal B**, Herbomez E, Eveleens T, Leduc N. Impact of fertilization level during flowering phase on blueness of hydrangea sepals and plant visual quality. 31<sup>ème</sup> Congrès International d'Horticulture (IHC 2022), Angers, France. (Poster)
- 5- **Ley-Ngardigal B**, Guérin V, Huché-Thélier L, Brouard N, Eveleens T, Roman H, Leduc N. Impact of mechanical stimulation on *Hydrangea macrophylla*. 17 Novembre 2022. 15<sup>ème</sup> édition de la Journée des Doctorants de la SFR QuaSaV, Angers, France. (Communication oral)
- 6- **Ley-Ngardigal B**, Roman H, Brouard N, Huché-Thélier L, Guérin V, Leduc N. Recurrent symmetrical bending causes dwarfing in *Hydrangea* through spatial, molecular regulation of xylem cell walls. Assemblée Générale de la SFR QuaSaV. 23 Mai 2023. Angers, France. (Communication oral)
- 7- **Ley-Ngardigal B**, Guérin V, Huché-Thélier L, Brouard N, Eveleens T, Roman H, Leduc N. Effet de la stimulation mécanique sur la croissance et le développement de jeunes plants d'*Hydrangea macrophylla*. 21 et 22 Novembre 2023. 12<sup>ème</sup> édition des Rencontres du Végétal, Angers, France. (Poster)
- 8- Roman H, Guérin V, Huché-Thélier L, **Ley-Ngardigal B**, Herbomez E, Eveleens T, Leduc N. Effect of different Al supplies during vegetative phase on sepal blueing in hydrangea inflorescence. 21 et 22 Novembre 2023. 12<sup>ème</sup> édition des Rencontres du Végétal, Angers, France. (Communication oral)

**ANNEXE V : Liste des publications pendant la thèse**

- 1- **Ley-Ngardigal B**, Guérin V, Huché-Thélier L, Brouard N, Eveleens T, Roman H, Leduc N. Impact of mechanical stimulation on *Hydrangea macrophylla*. Cet article a été publié en juin 2023 dans le numéro 1372 d'*Acta horticulturae* ([10.17660/ActaHortic.2023.1372.36](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2023.1372.36)).
  
- 2- **Ley-Ngardigal B**, Roman H, Brouard N, Huché-Thélier L, Guérin V, Leduc N. Recurrent symmetrical bending causes dwarfing in *Hydrangea* through spatial, molecular regulation of xylem cell walls. Cet article a été soumis fin juillet 2023 dans le journal *Frontiers in Plant Sciences*. Il est actuellement en relecteur.
  
- 3- **Ley-Ngardigal B**, Pelletier S, Guérin V, Huché-Thélier L, Brouard N, Roman H, Leduc N. Unraveling the Dataset Transcriptomic Response of *Hydrangea Macrophylla* Stem to Mechanical Stimulation: De Novo Assembly and Functional Annotation. Cet article a été soumis en début août 2023 dans le journal *Data in Brief* et est en cours de relecture (<http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.4560820>).
  
- 4- Roman H, Guérin V, Huché-Thélier L, **Ley-Ngardigal B**, Herbomez E, Eveleens T, Leduc N. Effect of different Al supplies during vegetative phase on sepal blueing in hydrangea inflorescence. Cet article a été accepté dans le journal *Acta horticulturae* et est en cours de publication.
  
- 5- Guérin V, Roman H, Huché-Thélier L, **Ley-Ngardigal B**, Herbomez E, Eveleens T, Leduc N. Impact of fertilization level during flowering phase on blueness of hydrangea sepals and plant visual quality. Cet article a été accepté dans le journal *Acta horticulturae* et est en cours de publication.

## **ANNEXE VI : Liste des formations dispensées pendant la thèse**

- 1- Introduction à l'éthique de la recherche et à l'intégrité scientifique : 3h30
- 2- MOOC Entreprendre dans l'économie circulaire : 6h
- 3- MOOC Semences végétales, quels enjeux pour notre avenir ? : 24h
- 4- MOOC Biomasse et Chimie Verte : 20h
- 5- MOOC Rédiger et publier un article scientifique : 16h
- 6- MOOC Bioinformatique : algorithmes et génomes : 16h





## Références

- Abeles, F. B., Morgan, P. W., and Saltveit Jr, M. E. (2012). *Ethylene in plant biology*. Academic press.
- Abidi, F., Douillet, O., Guillemain, G., Sintès, G., Huché-Thélier, L., Girault, T., et al. (2013). Ros Development Under Blue Light Environment: Behaviour Of Three Cultivars Of Rose Bushes. *Acta Hort.*, 129–134. doi: 10.17660/ActaHortic.2013.990.13.
- Afrin, S., Huang, J.-J., and Luo, Z.-Y. (2015). JA-mediated transcriptional regulation of secondary metabolism in medicinal plants. *Sci. Bull.* 60, 1062–1072. doi: 10.1007/s11434-015-0813-0.
- Aguilar-Martínez, J. A., Poza-Carrión, C., and Cubas, P. (2007). *Arabidopsis* BRANCHED1 Acts as an Integrator of Branching Signals within Axillary Buds. *Plant Cell* 19, 458–472. doi: 10.1105/tpc.106.048934.
- Agusti, J., Herold, S., Schwarz, M., Sanchez, P., Ljung, K., Dun, E. A., et al. (2011). Strigolactone signaling is required for auxin-dependent stimulation of secondary growth in plants. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 108, 20242–20247. doi: 10.1073/pnas.1111902108.
- Alem, P., Thomas, P. A., and van Iersel, M. W. (2015). Controlled Water Deficit as an Alternative to Plant Growth Retardants for Regulation of Poinsettia Stem Elongation. *HortScience* 50, 565–569. doi: 10.21273/HORTSCI.50.4.565.
- Ali, Md. S., and Baek, K.-H. (2020). Jasmonic Acid Signaling Pathway in Response to Abiotic Stresses in Plants. *Int. J. Mol. Sci.* 21, 621. doi: 10.3390/ijms21020621.
- Ali, S., Hayat, K., Iqbal, A., and Xie, L. (2020). Implications of Abscisic Acid in the Drought Stress Tolerance of Plants. *Agronomy* 10, 1323. doi: 10.3390/agronomy10091323.
- Aliche, E. B., Screpanti, C., De Mesmaeker, A., Munnik, T., and Bouwmeester, H. J. (2020). Science and application of strigolactones. *New Phytol.* 227, 1001–1011. doi: 10.1111/nph.16489.
- Alonso-Ramírez, A., Rodríguez, D., Reyes, D., Jiménez, J. A., Nicolás, G., López-Climent, M., et al. (2009). Cross-talk between gibberellins and salicylic acid in early stress responses in *Arabidopsis thaliana* seeds. *Plant Signal. Behav.* 4, 750–751. doi: 10.4161/psb.4.8.9175.
- An, J.-P., Liu, Z.-Y., Zhang, X.-W., Wang, D.-R., Zeng, F., You, C.-X., et al. (2023). Brassinosteroid signaling regulator BIM1 integrates brassinolide and jasmonic acid signaling during cold tolerance in apple. *Plant Physiol.* 193, 1652–1674. doi: 10.1093/plphys/kiad371.

- Andersen, A. S. (1979). “Plant Growth Retardants: Present and Future Use in Food Production,” in *Plant Regulation and World Agriculture*, ed. T. K. Scott (Boston, MA: Springer US), 251–277. doi: 10.1007/978-1-4684-3512-2\_15.
- Andersen, A. S., and Andersen, L. (2000). Growth regulation as a necessary prerequisite for introduction of new plants. *Acta Hort.*, 183–192. doi: 10.17660/ActaHortic.2000.541.26.
- Anten, N. P. R., Alcalá-Herrera, R., Schieving, F., and Onoda, Y. (2010). Wind and mechanical stimuli differentially affect leaf traits in *Plantago major*. *New Phytol.* 188, 554–564. doi: 10.1111/j.1469-8137.2010.03379.x.
- Antosiewicz, D. M., Purugganan, M. M., Polisensky, D. H., and Braam, J. (1997). Cellular Localization of Arabidopsis Xyloglucan Endotransglycosylase-Related Proteins during Development and after Wind Stimulation. *Plant Physiol.* 115, 1319–1328. doi: 10.1104/pp.115.4.1319.
- Armanda, D. T., Guinée, J. B., and Tukker, A. (2019). The second green revolution: Innovative urban agriculture’s contribution to food security and sustainability – A review. *Glob. Food Secur.* 22, 13–24. doi: 10.1016/j.gfs.2019.08.002.
- Arteca, J. M., and Arteca, R. N. (1999). A multi-responsive gene encoding 1-aminocyclopropane-1- carboxylate synthase (ACS6) in mature Arabidopsis leaves. *Plant Mol. Biol.* 39, 209–219.
- ASTREDHOR Sud-Ouest GIE Fleurs et Plantes (2016). Maîtrise de la croissance des plantes par thigmomorphogénèse. Evaluation de l’efficacité de la stimulation mécanique pour réguler la croissance des plantes.
- Autio, J., Voipio, I., and Koivunen, T. (1994). Responses of Aster, Dusty Miller, and Petunia Seedlings to Daily Exposure to Mechanical Stress. *HortScience* 29, 1449–1452. doi: 10.21273/HORTSCI.29.12.1449.
- Ayano, M., Kani, T., Kojima, M., Sakakibara, H., Kitaoka, T., Kuroha, T., et al. (2014). Gibberellin biosynthesis and signal transduction is essential for internode elongation in deepwater rice. *Plant Cell Environ.* 37, 2313–2324. doi: 10.1111/pce.12377.
- Bai, M.-Y., Shang, J.-X., Oh, E., Fan, M., Bai, Y., Zentella, R., et al. (2012). Brassinosteroid, gibberellin and phytochrome impinge on a common transcription module in Arabidopsis. *Nat. Cell Biol.* 14, 810–817. doi: 10.1038/ncb2546.
- Bailey, D. A., and Clark, B. (1992). Summer Applications of Plant Growth Retardants Affect Spring Forcing of Hydrangeas. *HortTechnology* 2, 213–216. doi: 10.21273/HORTTECH.2.2.213.
- Bajguz, A. (2007). Metabolism of brassinosteroids in plants. *Plant Physiol. Biochem.* 45, 95–107. doi: 10.1016/j.plaphy.2007.01.002.
- Bantis, F., Koukounaras, A., Siomos, A. S., Fotelli, M. N., and Kintzonidis, D. (2019). Bichromatic red and blue LEDs during healing enhance the vegetative growth and quality of grafted watermelon seedlings. *Sci. Hort.* 261, 109000. doi: 10.1016/j.scienta.2019.109000.

- Bantis, F., Smirnakou, S., Ouzounis, T., Koukounaras, A., Ntagkas, N., and Radoglou, K. (2018). Current status and recent achievements in the field of horticulture with the use of light-emitting diodes (LEDs). *Sci. Hortic.* 235, 437–451. doi: 10.1016/j.scienta.2018.02.058.
- Barbier, F. F., Dun, E. A., Kerr, S. C., Chabikwa, T. G., and Beveridge, C. A. (2019). An Update on the Signals Controlling Shoot Branching. *Trends Plant Sci.* 24, 220–236. doi: 10.1016/j.tplants.2018.12.001.
- Bari, R., and Jones, J. D. G. (2009). Role of plant hormones in plant defence responses. *Plant Mol. Biol.* 69, 473–488. doi: 10.1007/s11103-008-9435-0.
- Basiouny, F. M. (1994). Shelf life and quality of Rabbiteye Blueberry fruit in response to preharvest application of CaEDTA, Nutrical and Paclobutrazol. *Acta Hortic.*, 893–900. doi: 10.17660/ActaHortic.1994.368.107.
- Belhadj, A., Saigne, C., Telef, N., Cluzet, S., Bouscaut, J., Corio-Costet, M.-F., et al. (2006). Methyl Jasmonate Induces Defense Responses in Grapevine and Triggers Protection against *Erysiphe necator*. *J. Agric. Food Chem.* 54, 9119–9125. doi: 10.1021/jf0618022.
- Benikhlef, L., L’Haridon, F., Abou-Mansour, E., Serrano, M., Binda, M., Costa, A., et al. (2013). Perception of soft mechanical stress in Arabidopsis leaves activates disease resistance. *BMC Plant Biol.* 13, 133. doi: 10.1186/1471-2229-13-133.
- Ben-Targem, M., Ripper, D., Bayer, M., and Ragni, L. (2021). Auxin and gibberellin signaling cross-talk promotes hypocotyl xylem expansion and cambium homeostasis. *J. Exp. Bot.* 72, 3647–3660. doi: 10.1093/jxb/erab089.
- Bergstrand, K.-J., Asp, H., and Schüssler, H. K. (2016). Growth control of ornamental and bedding plants by manipulation of photoperiod and light quality. *Acta Hortic.*, 33–40. doi: 10.17660/ActaHortic.2016.1134.5.
- Bergstrand, K.-J. I. (2017). Methods for growth regulation of greenhouse produced ornamental pot- and bedding plants – a current review. *Folia Hortic.* 29, 63–74. doi: 10.1515/fhort-2017-0007.
- Bertheloot, J., Barbier, F., Boudon, F., Perez-Garcia, M. D., Péron, T., Citerne, S., et al. (2020). Sugar availability suppresses the auxin-induced strigolactone pathway to promote bud outgrowth. *New Phytol.* 225, 866–879. doi: 10.1111/nph.16201.
- Bertram, L., and Karlsen, P. (1994). Patterns in stem elongation rate in chrysanthemum and tomato plants in relation to irradiance and day/night temperature. *Sci. Hortic.* 58, 139–150. doi: 10.1016/0304-4238(94)90134-1.
- Bertram, L., and Karlsen, P. (1995). Kinetics And Circadian Rhythms Of Stem Elongation In Greenhouse Plants. *Acta Hortic.*, 53–62. doi: 10.17660/ActaHortic.1995.378.7.
- Beveridge, C. A., Rameau, C., and Wijerathna-Yapa, A. (2023). Lessons from a century of apical dominance research. *J. Exp. Bot.* 74, 3903–3922. doi: 10.1093/jxb/erad137.

- Beyl, C. A., and Mitchell, C. A. (1983). Alteration of Growth, Exudation Rate, and Endogenous Hormone Profiles in Mechanically Dwarfed Sunflower1. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 108, 257–262. doi: 10.21273/JASHS.108.2.257.
- Bhadouriya, S. L., Mehrotra, S., Basantani, M. K., Loake, G. J., and Mehrotra, R. (2021). Role of Chromatin Architecture in Plant Stress Responses: An Update. *Front. Plant Sci.* 11, 603380. doi: 10.3389/fpls.2020.603380.
- Biddington, N. L. (1986). The effects of mechanically-induced stress in plants ? a review. *Plant Growth Regul.* 4, 103–123. doi: 10.1007/BF00025193.
- Biro, R. L., Hunt, E. R., Erner, Y., and Jaffe, M. J. (1980). Thigmomorphogenesis: Changes in Cell Division and Elongation in the Internodes of Mechanically-perturbed or Ethrel-treated Bean Plants\*. *Ann. Bot.* 45, 655–664. doi: 10.1093/oxfordjournals.aob.a085874.
- Biro, R. L., and Jaffe, M. J. (1984). Thigmomorphogenesis: Ethylene evolution and its role in the changes observed in mechanically perturbed bean plants. *Physiol. Plant.* 62, 289–296. doi: 10.1111/j.1399-3054.1984.tb04575.x.
- Bishopp, A., Help, H., El-Shawk, S., Weijers, D., Scheres, B., Friml, J., et al. (2011). A Mutually Inhibitory Interaction between Auxin and Cytokinin Specifies Vascular Pattern in Roots. *Curr. Biol.* 21, 917–926. doi: 10.1016/j.cub.2011.04.017.
- Boba, A., Kostyn, K., Kostyn, A., Wojtasik, W., Dziadas, M., Preisner, M., et al. (2017). Methyl Salicylate Level Increase in Flax after *Fusarium oxysporum* Infection Is Associated with Phenylpropanoid Pathway Activation. *Front. Plant Sci.* 7. doi: 10.3389/fpls.2016.01951.
- Bochu, W., Jiping, S., Biao, L., Jie, L., and Chuanren, D. (2004). Soundwave stimulation triggers the content change of the endogenous hormone of the *Chrysanthemum* mature callus. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 37, 107–112. doi: 10.1016/j.colsurfb.2004.03.004.
- Bonnesoeur, V., Constant, T., Moulia, B., and Fournier, M. (2016). Forest trees filter chronic wind-signals to acclimate to high winds. *New Phytol.* 210, 850–860. doi: 10.1111/nph.13836.
- Börnke, F., and Rocksch, T. (2018). Thigmomorphogenesis – Control of plant growth by mechanical stimulation. *Sci. Hortic.* 234, 344–353. doi: 10.1016/j.scienta.2018.02.059.
- Boumaza, R., Huché-Thélier, L., Demotes-Mainard, S., Coz, E. L., Leduc, N., Pelleschi-Travier, S., et al. (2010). Sensory profiles and preference analysis in ornamental horticulture: The case of the rosebush. *Food Qual. Prefer.* 21, 987–997. doi: 10.1016/j.foodqual.2010.05.003.
- Bouteraa, M. T., Ben Romdhane, W., Baazaoui, N., Alfaifi, M. Y., Chouaibi, Y., Ben Akacha, B., et al. (2023). GASA Proteins: Review of Their Functions in Plant Environmental Stress Tolerance. *Plants* 12, 2045. doi: 10.3390/plants12102045.

- Boyer, N. (1967). Modification de la croissance de la tige de Bryone (*Bryonia dioica*) à la suite d'irritations tactiles. *CR Acad Sci Paris* 264, 2114–2117.
- Boyer, N., Gaspar, Th., and Lamond, M. (1979). Modifications des Isoperoxydases et de l'Allongement des Entre-Noeuds de Bryone à la Suite d'Irritations Mécaniques. *Z. Für Pflanzenphysiol.* 93, 459–470. doi: 10.1016/S0044-328X(79)80180-4.
- Braam, J. (2004). In touch: plant responses to mechanical stimuli: Tansley review. *New Phytol.* 165, 373–389. doi: 10.1111/j.1469-8137.2004.01263.x.
- Braam, J., and Davis, R. W. (1990). Rain-, wind-, and touch-induced expression of calmodulin and calmodulin-related genes in *Arabidopsis*. *Cell* 60, 357–364. doi: 10.1016/0092-8674(90)90587-5.
- Braybrook, S. A., and Peaucelle, A. (2013). Mechano-Chemical Aspects of Organ Formation in *Arabidopsis thaliana*: The Relationship between Auxin and Pectin. *PLoS ONE* 8, e57813. doi: 10.1371/journal.pone.0057813.
- Brenya, E., Chen, Z.-H., Tissue, D., Papanicolaou, A., and Cazzonelli, C. I. (2020). Prior exposure of *Arabidopsis* seedlings to mechanical stress heightens jasmonic acid-mediated defense against necrotrophic pathogens. *BMC Plant Biol.* 20, 548. doi: 10.1186/s12870-020-02759-9.
- Brenya, E., Pervin, M., Chen, Z., Tissue, D. T., Johnson, S., Braam, J., et al. (2022). Mechanical stress acclimation in plants: Linking hormones and somatic memory to thigmomorphogenesis. *Plant Cell Environ.* 45, 989–1010. doi: 10.1111/pce.14252.
- Brewer, P. B., Dun, E. A., Ferguson, B. J., Rameau, C., and Beveridge, C. A. (2009). Strigolactone Acts Downstream of Auxin to Regulate Bud Outgrowth in Pea and *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 150, 482–493. doi: 10.1104/pp.108.134783.
- Brewer, P. B., Yoneyama, K., Filardo, F., Meyers, E., Scaffidi, A., Frickey, T., et al. (2016). Lateral Branching Oxidoreductase acts in the final stages of strigolactone biosynthesis in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 113, 6301–6306. doi: 10.1073/pnas.1601729113.
- Brookbank, B. P., Patel, J., Gazzarrini, S., and Nambara, E. (2021). Role of Basal ABA in Plant Growth and Development. *Genes* 12, 1936. doi: 10.3390/genes12121936.
- Brown, C. M., Kawaide, H., Yang, Y. Y., Rademacher, W., and Kamiya, Y. eds. (1997). Daminozide and prohexadione have similar modes of action as inhibitors of the late stages of gibberellin metabolism. *Physiol. Plant.* 101, 309–313.
- Brownleader, M. D., Hopkins, J., Mobasher, A., Dey, P. M., Jackson, P., and Trevan, M. (2000). Role of extensin peroxidase in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seedling growth. *Planta* 210, 668–676. doi: 10.1007/s004250050058.
- Bruce, T. J. A., Matthes, M. C., Napier, J. A., and Pickett, J. A. (2007). Stressful “memories” of plants: Evidence and possible mechanisms. *Plant Sci.* 173, 603–608. doi: 10.1016/j.plantsci.2007.09.002.

- Cabane, M., Afif, D., and Hawkins, S. (2012). “Lignins and Abiotic Stresses,” in *Advances in Botanical Research* (Elsevier), 219–262. doi: 10.1016/B978-0-12-416023-1.00007-0.
- Caderas, D., Muster, M., Vogler, H., Mandel, T., Rose, J. K. C., McQueen-Mason, S., et al. (2000). Limited Correlation between Expansin Gene Expression and Elongation Growth Rate. *Plant Physiol.* 123, 1399–1414. doi: 10.1104/pp.123.4.1399.
- Cao, S., Zheng, Y., Wang, K., Rui, H., and Tang, S. (2010). Effect of methyl jasmonate on cell wall modification of loquat fruit in relation to chilling injury after harvest. *Food Chem.* 118, 641–647. doi: 10.1016/j.foodchem.2009.05.047.
- Cao, X., Yang, H., Shang, C., Ma, S., Liu, L., and Cheng, J. (2019). The Roles of Auxin Biosynthesis YUCCA Gene Family in Plants. *Int. J. Mol. Sci.* 20, 6343. doi: 10.3390/ijms20246343.
- Carneiro, A. K., Montessoro, P. D. F., Fusaro, A. F., Araújo, B. G., and Hemerly, A. S. (2021). Plant CDKs—Driving the Cell Cycle through Climate Change. *Plants* 10, 1804. doi: 10.3390/plants10091804.
- Carrari, F., Fernie, A. R., and Iusem, N. D. (2004). Heard it through the grapevine? ABA and sugar cross-talk: the ASR story. *Trends Plant Sci.* 9, 57–59. doi: 10.1016/j.tplants.2003.12.004.
- Casal, J. J. (2012). Shade Avoidance. *Arab. Book* 10, e0157. doi: 10.1199/tab.0157.
- Casal, J. J. (2013). Photoreceptor Signaling Networks in Plant Responses to Shade. *Annu. Rev. Plant Biol.* 64, 403–427. doi: 10.1146/annurev-arplant-050312-120221.
- Casanova-Sáez, R., Mateo-Bonmatí, E., and Ljung, K. (2021). Auxin Metabolism in Plants. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 13, a039867. doi: 10.1101/cshperspect.a039867.
- Catala, C., Rose, J. K. C., and Bennett, A. B. (1997). Auxin regulation and spatial localization of an endo-1,4-beta-D-glucanase and a xyloglucan endotransglycosylase in expanding tomato hypocotyls. *Plant J.* 12, 417–426. doi: 10.1046/j.1365-313X.1997.12020417.x.
- Cazzonelli, C. I., Millar, T., Finnegan, E. J., and Pogson, B. J. (2009). Promoting gene expression in plants by permissive histone lysine methylation. *Plant Signal. Behav.* 4, 484–488. doi: 10.4161/psb.4.6.8316.
- Cazzonelli, C. I., Nisar, N., Roberts, A. C., Murray, K. D., Borevitz, J. O., and Pogson, B. J. (2014). A chromatin modifying enzyme, SDG8, is involved in morphological, gene expression, and epigenetic responses to mechanical stimulation. *Front. Plant Sci.* 5. doi: 10.3389/fpls.2014.00533.
- Cerny, T. A., Faust, J. E., Layne, D. R., and Rajapakse, N. C. (2003). Influence of Photoselective Films and Growing Season on Stem Growth and Flowering of Six Plant Species. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 128, 486–491. doi: 10.21273/JASHS.128.4.0486.

- Cerny-Koenig, T. A., Faust, J. E., and Rajapakse, N. C. (2005). Role of Gibberellin A4 and Gibberellin Biosynthesis Inhibitors on Flowering and Stem Elongation in *Petunia* under Modified Light Environments. *HortScience* 40, 134–137. doi: 10.21273/HORTSCI.40.1.134.
- Cerón-Bustamante, M., Tini, F., Beccari, G., Benincasa, P., and Covarelli, L. (2023). Effect of Different Light Wavelengths on *Zymoseptoria tritici* Development and Leaf Colonization in Bread Wheat. *JoF* 9, 670. doi: 10.3390/jof9060670.
- Chandler, S. F., and Sanchez, C. (2012). Genetic modification; the development of transgenic ornamental plant varieties: Transformation technology and new ornamental plant varieties. *Plant Biotechnol. J.* 10, 891–903. doi: 10.1111/j.1467-7652.2012.00693.x.
- Chapman, E. J., Greenham, K., Castillejo, C., Sartor, R., Bialy, A., Sun, T., et al. (2012). Hypocotyl Transcriptome Reveals Auxin Regulation of Growth-Promoting Genes through GA-Dependent and -Independent Pathways. *PLoS ONE* 7, e36210. doi: 10.1371/journal.pone.0036210.
- Chehab, E. W., Eich, E., and Braam, J. (2008). Thigmomorphogenesis: a complex plant response to mechano-stimulation. *J. Exp. Bot.* 60, 43–56. doi: 10.1093/jxb/ern315.
- Chehab, E. W., Yao, C., Henderson, Z., Kim, S., and Braam, J. (2012). Arabidopsis Touch-Induced Morphogenesis Is Jasmonate Mediated and Protects against Pests. *Curr. Biol.* 22, 701–706. doi: 10.1016/j.cub.2012.02.061.
- Chen, F., Nonogaki, H., and Bradford, K. J. (2002). A gibberellin-regulated xyloglucan endotransglycosylase gene is expressed in the endosperm cap during tomato seed germination. *J. Exp. Bot.* 53, 215–223. doi: 10.1093/jexbot/53.367.215.
- Chen, Y., Zhou, Y., Cai, Y., Feng, Y., Zhong, C., Fang, Z., et al. (2022). De novo transcriptome analysis of high-salinity stress-induced antioxidant activity and plant phytohormone alterations in *Sesuvium portulacastrum*. *Front. Plant Sci.* 13, 995855. doi: 10.3389/fpls.2022.995855.
- Chen, Z., Zheng, Z., Huang, J., Lai, Z., and Fan, B. (2009). Biosynthesis of salicylic acid in plants. *Plant Signal. Behav.* 4, 493–496. doi: 10.4161/psb.4.6.8392.
- Chervin, C., Tira-umphon, A., Terrier, N., Zouine, M., Severac, D., and Roustan, J.-P. (2008). Stimulation of the grape berry expansion by ethylene and effects on related gene transcripts, over the ripening phase. *Physiol. Plant.* 134, 534–546. doi: 10.1111/j.1399-3054.2008.01158.x.
- Cheval, C., Perez, M., Leba, L. J., Ranty, B., Perochon, A., Reichelt, M., et al. (2017). PRR2, a pseudo-response regulator, promotes salicylic acid and camalexin accumulation during plant immunity. *Sci. Rep.* 7, 6979. doi: 10.1038/s41598-017-07535-8.
- Chinnusamy, V., and Zhu, J.-K. (2009). Epigenetic regulation of stress responses in plants. *Curr. Opin. Plant Biol.* 12, 133–139. doi: 10.1016/j.pbi.2008.12.006.



- Choi, W.-G., Hilleary, R., Swanson, S. J., Kim, S.-H., and Gilroy, S. (2016). Rapid, Long-Distance Electrical and Calcium Signaling in Plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 67, 287–307. doi: 10.1146/annurev-arplant-043015-112130.
- Cipollini, D. F. (1997). Wind-induced mechanical stimulation increases pest resistance in common bean. *Oecologia* 111, 84–90. doi: 10.1007/s004420050211.
- Clifford, S. C., Runkle, E. S., Langton, F. A., Mead, A., Foster, S. A., Pearson, S., et al. (2004). Height Control of Poinsettia Using Photosensitive Filters. *HortScience* 39, 383–387. doi: 10.21273/HORTSCI.39.2.383.
- Cline, M. G. (1997). Concepts and terminology of apical dominance. *Am. J. Bot.* 84, 1064–1069. doi: 10.2307/2446149.
- Cochran, D. R., and Fulcher, A. (2013). Type and Rate of Plant Growth Regulator Influence Vegetative, Floral Growth, and Quality of Little Lime™ Hydrangea. 6.
- Colebrook, E. H., Thomas, S. G., Phillips, A. L., and Hedden, P. (2014). The role of gibberellin signalling in plant responses to abiotic stress. *J. Exp. Biol.*, 9.
- Collado, C. E., and Hernández, R. (2021). Effects of Light Intensity, Spectral Composition, and Paclobutrazol on the Morphology, Physiology, and Growth of Petunia, Geranium, Pansy, and Dianthus Ornamental Transplants. *J. Plant Growth Regul.* doi: 10.1007/s00344-021-10306-5.
- Coomey, J. H., MacKinnon, K. J.-M., McCahill, I. W., Khahani, B., Handakumbura, P. P., Trabucco, G. M., et al. (2021). Mechanotropic bZIP localization is associated with thigmomorphogenic and secondary cell wall associated gene expression. *Plant Biology* doi: 10.1101/2021.02.03.429573.
- Correia, S., Queirós, F., Ribeiro, C., Vilela, A., Aires, A., Barros, A. I., et al. (2019). Effects of calcium and growth regulators on sweet cherry (*Prunus avium* L.) quality and sensory attributes at harvest. *Sci. Hortic.* 248, 231–240. doi: 10.1016/j.scienta.2019.01.024.
- Cosgrove, D. J. (2001). Wall Structure and Wall Loosening. A Look Backwards and Forwards. 125, 4.
- Cosgrove, D. J. (2005). Growth of the plant cell wall. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 6, 850–861. doi: 10.1038/nrm1746.
- Cosgrove, D. J. (2018a). Diffuse Growth of Plant Cell Walls. *Plant Physiol.* 176, 16–27. doi: 10.1104/pp.17.01541.
- Cosgrove, D. J. (2018b). Primary walls in second place. *Nat. Plants* 4, 748–749. doi: 10.1038/s41477-018-0278-7.
- Cosgrove, D. J., and Jarvis, M. C. (2012). Comparative structure and biomechanics of plant primary and secondary cell walls. *Front. Plant Sci.* 3. doi: 10.3389/fpls.2012.00204.

- Crespel, L., Le Bras, C., Amoroso, T., Unda Ulloa, M. G., Morel, P., and Sakr, S. (2020). Genotype  $\times$  Light Quality Interaction on Rose Architecture. *Agronomy* 10, 913. doi: 10.3390/agronomy10060913.
- Crespel, L., Morel, P., Li-Marchetti, C., Deogratias, J.-M., Ferre, A., Stapel, O., et al. (2018). Contrôler l'architecture des plantes horticoles en prenant en compte les facteurs génétiques, environnementaux et culturaux. *Innov. Agron.* 63, 43–55.
- Dahnous, K., Vigue, G. T., Law, A. G., Konzak, C. F., and Miller, D. G. (1982). Height and Yield Response of Selected Wheat, Barley, and Triticale Cultivars to Ethephon<sup>1</sup>. *Agron. J.* 74, 580–582. doi: 10.2134/agronj1982.00021962007400030041x.
- Damiani, I., Morreel, K., Danoun, S., Goeminne, G., Yahiaoui, N., Marque, C., et al. (2005). Metabolite Profiling Reveals a Role for Atypical Cinnamyl Alcohol Dehydrogenase CAD1 in the Synthesis of Coniferyl Alcohol in Tobacco Xylem. *Plant Mol. Biol.* 59, 753–769. doi: 10.1007/s11103-005-0947-6.
- Danquah, A., de Zelicourt, A., Colcombet, J., and Hirt, H. (2014). The role of ABA and MAPK signaling pathways in plant abiotic stress responses. *Biotechnol. Adv.* 32, 40–52. doi: 10.1016/j.biotechadv.2013.09.006.
- Davies, P. J. ed. (2004). *Plant hormones: biosynthesis, signal transduction, action!*. 3rd ed. Dordrecht ; Boston: Kluwer Academic.
- de Hsie, B. S., Bueno, A. I. S., Bertolucci, S. K. V., de Carvalho, A. A., da Cunha, S. H. B., Martins, E. R., et al. (2019). Study of the influence of wavelengths and intensities of LEDs on the growth, photosynthetic pigment, and volatile compounds production of *Lippia rotundifolia* Cham in vitro. *J. Photochem. Photobiol. B* 198, 111577. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2019.111577.
- De Jaeger, G., Boyer, N., and Gaspar, Th. (1985). Thigmomorphogenesis in *Bryonia dioica*: Changes in soluble and wall peroxidases, phenylalanine ammonia-lyase activity, cellulose, lignin content and monomeric constituents. *Plant Growth Regul.* 3, 133–148. doi: 10.1007/BF01806053.
- de Langre, E. (2008). Effects of Wind on Plants. *Annu. Rev. Fluid Mech.* 40, 141–168. doi: 10.1146/annurev.fluid.40.111406.102135.
- De Rybel, B., Adibi, M., Breda, A. S., Wendrich, J. R., Smit, M. E., Novák, O., et al. (2014). Integration of growth and patterning during vascular tissue formation in *Arabidopsis*. *Science* 345, 1255215. doi: 10.1126/science.1255215.
- De, T., Basak, A., and De, L. C. (2023). “Resistance Breeding in Ornamental Plants: An Overview,” in *Emerging Issues in Agricultural Sciences Vol. 5*, ed. Prof. C. C. Chang (B P International (a part of SCIENCEDOMAIN International)), 78–93. doi: 10.9734/bpi/eias/v5/10545F.
- Debbarma, J., Sarki, Y. N., Saikia, B., Boruah, H. P. D., Singha, D. L., and Chikkaputtaiah, C. (2019). Ethylene Response Factor (ERF) Family Proteins in Abiotic Stresses and CRISPR–Cas9 Genome Editing of ERFs for Multiple Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants: A Review. *Mol. Biotechnol.* 61, 153–172. doi: 10.1007/s12033-018-0144-x.

- Demotes-Mainard, S., Péron, T., Corot, A., Bertheloot, J., Le Gourrierec, J., Pelleschi-Travier, S., et al. (2016). Plant responses to red and far-red lights, applications in horticulture. *Environ. Exp. Bot.* 121, 4–21. doi: 10.1016/j.envexpbot.2015.05.010.
- Depuydt, S., and Hardtke, C. S. (2011). Hormone Signalling Crosstalk in Plant Growth Regulation. *Curr. Biol.* 21, R365–R373. doi: 10.1016/j.cub.2011.03.013.
- Desta, B., and Amare, G. (2021). Paclobutrazol as a plant growth regulator. *Chem. Biol. Technol. Agric.* 8, 1. doi: 10.1186/s40538-020-00199-z.
- Dias, J. P. T. (2019). Plant growth regulators in horticulture: practices and perspectives. 19.
- Didi, V., Jackson, P., and Hejátko, J. (2015). Hormonal regulation of secondary cell wall formation. *J. Exp. Bot.* 66, 5015–5027. doi: 10.1093/jxb/erv222.
- Dilta, B., Latpate, M., Gupta, Y., Sharma, B., Negi, N., and Kaushal, S. (2015). Influence of growing media and daminozide on growth, flowering and pot presentability of *Hydrangea macrophylla* Thunb. *Int. J. Farm Sci.* 5, 111–118.
- Ding, Y., Sun, T., Ao, K., Peng, Y., Zhang, Y., Li, X., et al. (2018). Opposite Roles of Salicylic Acid Receptors NPR1 and NPR3/NPR4 in Transcriptional Regulation of Plant Immunity. *Cell* 173, 1454–1467.e15. doi: 10.1016/j.cell.2018.03.044.
- Ding, Z., Galván-Ampudia, C. S., Demarsy, E., Łangowski, Ł., Kleine-Vehn, J., Fan, Y., et al. (2011). Light-mediated polarization of the PIN3 auxin transporter for the phototropic response in *Arabidopsis*. *Nat. Cell Biol.* 13, 447–452. doi: 10.1038/ncb2208.
- Djakovic-Petrovic, T., Wit, M. de, Voesenek, L. A. C. J., and Pierik, R. (2007). DELLA protein function in growth responses to canopy signals: DELLA regulation during shade-avoidance. *Plant J.* 51, 117–126. doi: 10.1111/j.1365-313X.2007.03122.x.
- Doebley, J., Stec, A., and Gustus, C. (1995). teosinte branched1 and the origin of maize: evidence for epistasis and the evolution of dominance. *Genetics* 141, 333–346. doi: 10.1093/genetics/141.1.333.
- Dong, H., Wang, J., Song, X., Hu, C., Zhu, C., Sun, T., et al. (2023). HY5 functions as a systemic signal by integrating BRC1-dependent hormone signaling in tomato bud outgrowth. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 120, e2301879120. doi: 10.1073/pnas.2301879120.
- Dong, N., and Lin, H. (2021). Contribution of phenylpropanoid metabolism to plant development and plant–environment interactions. *J. Integr. Plant Biol.* 63, 180–209. doi: 10.1111/jipb.13054.
- Du, H., Wu, N., Fu, J., Wang, S., Li, X., Xiao, J., et al. (2012). A GH3 family member, OsGH3-2, modulates auxin and abscisic acid levels and differentially affects drought and cold tolerance in rice. *J. Exp. Bot.* 63, 6467–6480. doi: 10.1093/jxb/ers300.
- Dubois, M., Van den Broeck, L., and Inzé, D. (2018). The Pivotal Role of Ethylene in Plant Growth. *Trends Plant Sci.* 23, 311–323. doi: 10.1016/j.tplants.2018.01.003.

- Dun, E. A., Brewer, P. B., Gillam, E. M. J., and Beveridge, C. A. (2023). Strigolactones and Shoot Branching: What Is the Real Hormone and How Does It Work? *Plant Cell Physiol.* 64, 967–983. doi: 10.1093/pcp/pcad088.
- Dun, E. A., De Saint Germain, A., Rameau, C., and Beveridge, C. A. (2012). Antagonistic Action of Strigolactone and Cytokinin in Bud Outgrowth Control. *Plant Physiol.* 158, 487–498. doi: 10.1104/pp.111.186783.
- Elo, A., Immanen, J., Nieminen, K., and Helariutta, Y. (2009). Stem cell function during plant vascular development. *Semin. Cell Dev. Biol.* 20, 1097–1106. doi: 10.1016/j.semcdb.2009.09.009.
- Emenecker, R. J., and Strader, L. C. (2020). Auxin-Abscisic Acid Interactions in Plant Growth and Development. *Biomolecules* 10, 281. doi: 10.3390/biom10020281.
- Emery, R. J. N., Reid, D. M., and Chinnappa, C. C. (1994). Phenotypic plasticity of stem elongation in two ecotypes of *Stellaria longipes*: the role of ethylene and response to wind. *Plant Cell Environ.* 17, 691–700. doi: 10.1111/j.1365-3040.1994.tb00161.x.
- Eriksson, M. E., Israelsson, M., Olsson, O., and Moritz, T. (2000). Increased gibberellin biosynthesis in transgenic trees promotes growth, biomass production and xylem fiber length. *Nat. Biotechnol.* 18, 784–788. doi: 10.1038/77355.
- Erner, Y., and Jaffe, M. J. (1982). Thigmomorphogenesis: The Involvement of Auxin and Abscisic Acid in Growth Retardation Due to Mechanical Perturbation. *Plant Cell Physiol.* 23, 935–941. doi: doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076446.
- Erner, Y., and Jaffe, M. J. (1983). Thigmomorphogenesis: membrane lipid and protein changes in bean plants as affected by mechanical perturbation and Ethrel. *Physiol. Plant.* 58, 197–203. doi: 10.1111/j.1399-3054.1983.tb04169.x.
- Etchells, J. P., Provost, C. M., and Turner, S. R. (2012). Plant Vascular Cell Division Is Maintained by an Interaction between PXY and Ethylene Signalling. *PLoS Genet.* 8, e1002997. doi: 10.1371/journal.pgen.1002997.
- Evenson, R. E., and Gollin, D. (2003). Assessing the Impact of the Green Revolution, 1960 to 2000. *Science* 300, 758–762. doi: 10.1126/science.1078710.
- Fàbregas, N., Formosa-Jordan, P., Confraria, A., Siligato, R., Alonso, J. M., Swarup, R., et al. (2015). Auxin Influx Carriers Control Vascular Patterning and Xylem Differentiation in *Arabidopsis thaliana*. *PLOS Genet.* 11, e1005183. doi: 10.1371/journal.pgen.1005183.
- Feng, Z., Liang, X., Tian, H., Watanabe, Y., Nguyen, K. H., Tran, C. D., et al. (2023). SUPPRESSOR of MAX2 1 (SMAX1) and SMAX1-LIKE2 (SMXL2) Negatively Regulate Drought Resistance in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* 63, 1900–1913. doi: 10.1093/pcp/pcac080.
- Ferre, A. (2014). Thigmomorphogénèse : réguler les plantes en les touchant. *Lien Hortic.*, 12–13.

- Finkelstein, R. R., and Rock, C. D. (2002). Abscisic Acid Biosynthesis and Response. *Arab. Book* 1, e0058. doi: 10.1199/tab.0058.
- Fonseca, S., Chini, A., Hamberg, M., Adie, B., Porzel, A., Kramell, R., et al. (2009). (+)-7-iso-Jasmonoyl-L-isoleucine is the endogenous bioactive jasmonate. *Nat. Chem. Biol.* 5, 344–350. doi: 10.1038/nchembio.161.
- Franklin, K. A. (2008). Shade avoidance. *New Phytol.* 179, 930–944. doi: 10.1111/j.1469-8137.2008.02507.x.
- Franklin, K. A., and Whitelam, G. C. (2005). Phytochromes and Shade-avoidance Responses in Plants. *Ann. Bot.* 96, 169–175. doi: 10.1093/aob/mci165.
- Frebort, I., Kowalska, M., Hluska, T., Frebortova, J., and Galuszka, P. (2011). Evolution of cytokinin biosynthesis and degradation. *J. Exp. Bot.* 62, 2431–2452. doi: 10.1093/jxb/err004.
- Frébortová, J., and Frébort, I. (2021). Biochemical and Structural Aspects of Cytokinin Biosynthesis and Degradation in Bacteria. *Microorganisms* 9, 1314. doi: 10.3390/microorganisms9061314.
- Frigerio, M., Alabadí, D., Pérez-Gómez, J., García-Cárcel, L., Phillips, A. L., Hedden, P., et al. (2006). Transcriptional Regulation of Gibberellin Metabolism Genes by Auxin Signaling in Arabidopsis. *Plant Physiol.* 142, 553–563. doi: 10.1104/pp.106.084871.
- Fu, X. L., Xiao, W., Wang, D. L., Chen, M., Tan, Q. P., Li, L., et al. (2014). Roles of Endoplasmic Reticulum Stress and Unfolded Protein Response Associated Genes in Seed Stratification and Bud Endodormancy during Chilling Accumulation in *Prunus persica*. *PLoS ONE* 9, e101808. doi: 10.1371/journal.pone.0101808.
- Fugate, K. K., Finger, F. L., Lafta, A. M., Dogramaci, M., and Khan, M. F. R. (2023). Wounding rapidly alters transcription factor expression, hormonal signaling, and phenolic compound metabolism in harvested sugarbeet roots. *Front. Plant Sci.* 13, 1070247. doi: 10.3389/fpls.2022.1070247.
- Fujii, H., and Zhu, J.-K. (2009). Arabidopsis mutant deficient in 3 abscisic acid-activated protein kinases reveals critical roles in growth, reproduction, and stress. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 106, 8380–8385. doi: 10.1073/pnas.0903144106.
- Fujioka, S., and Sakurai, A. (1997). Biosynthesis and metabolism of brassinosteroids. *Physiol. Plant.* 100, 710–715. doi: 10.1111/j.1399-3054.1997.tb03078.x.
- Fujioka, S., and Yokota, T. (2003). Biosynthesis and Metabolism of Brassinosteroids. *Annu. Rev. Plant Biol.* 54, 137–164. doi: 10.1146/annurev.arplant.54.031902.134921.
- Gallego-Bartolomé, J., Minguet, E. G., Grau-Enguix, F., Abbas, M., Locascio, A., Thomas, S. G., et al. (2012). Molecular mechanism for the interaction between gibberellin and brassinosteroid signaling pathways in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 109, 13446–13451. doi: 10.1073/pnas.1119992109.

- Gallego-Giraldo, L., Escamilla-Trevino, L., Jackson, L. A., and Dixon, R. A. (2011). Salicylic acid mediates the reduced growth of lignin down-regulated plants. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 108, 20814–20819. doi: 10.1073/pnas.1117873108.
- Galopin, G., Codarin, S., Viemont, J.-D., and Morel, P. (2008). Architectural Development of Inflorescence in *Hydrangea macrophylla* cv. Hermann Dienemann. *HortScience* 43, 361–365. doi: 10.21273/HORTSCI.43.2.361.
- Galopin, G., Crespel, L., Mauget, J. C., and Morel, P. (2011). Analysis of the Impact of Climatic Conditions on Floral Transformation in *Hydrangea macrophylla* ‘Leuchtfeuer.’ *HortScience* 46, 1373–1376. doi: 10.21273/HORTSCI.46.10.1373.
- Gardiner, B., Barnett, J., Saranpää, P., and Gril, J. eds. (2014). *The Biology of Reaction Wood*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg doi: 10.1007/978-3-642-10814-3.
- Gardiner, B., Berry, P., and Moulia, B. (2016). Review: Wind impacts on plant growth, mechanics and damage. *Plant Sci.* 245, 94–118. doi: 10.1016/j.plantsci.2016.01.006.
- Garner, L., Allen Langton, F., and Björkman, T. (1997). Commercial Adaptations Of Mechanical Stimulation For The Control Of Transplant Growth. *Acta Hort.*, 219–230. doi: 10.17660/ActaHortic.1997.435.21.
- Garner, L. C., and Björkman, T. (1996). Mechanical Conditioning for Controlling Excessive Elongation in Tomato Transplants: Sensitivity to Dose, Frequency, and Timing of Brushing. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 121, 894–900. doi: 10.21273/JASHS.121.5.894.
- Gartner, B. L. ed. (1995). *Plant stems: physiology and functional morphology*. San Diego, CA: Academic Press.
- Gianfagna, T. (1995). “Natural and synthetic growth regulators and their use in horticultural and agronomic crops,” in *Plant hormones: physiology, biochemistry and molecular biology* (Springer), 751–773.
- Gibson, J. L., and Whipker, B. E. (2001). Ornamental Cabbage and Kale Growth Responses to Daminozide, Paclobutrazol, and Uniconazole. *HortTechnology* 11, 226–230. doi: 10.21273/HORTTECH.11.2.226.
- Girault, T., Bergougnot, V., Combes, D., Viemont, J.-D., and Leduc, N. (2008). Light controls shoot meristem organogenic activity and leaf primordia growth during bud burst in *Rosa* sp. *Plant Cell Environ.* 31, 1534–1544. doi: 10.1111/j.1365-3040.2008.01856.x.
- Givnish, T. J. (1995). “Plant Stems: Biomechanical Adaptation for Energy Capture and Influence on Species Distributions,” in *Plant Stems* (Elsevier), 3–49. doi: 10.1016/B978-012276460-8/50003-5.
- Głąb, T., Gondek, K., and Szewczyk, W. (2021). Effects of plant growth regulators on the mechanical traits of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Sci. Hortic.* 288, 110351. doi: 10.1016/j.scienta.2021.110351.

- Gladala-Kostarz, A., Doonan, J. H., and Bosch, M. (2020). Mechanical stimulation in *BRACHYPODIUM DISTACHYON* : Implications for fitness, productivity, and cell wall properties. *Plant Cell Environ.* 43, 1314–1330. doi: 10.1111/pce.13724.
- Goda, H., Sawa, S., Asami, T., Fujioka, S., Shimada, Y., and Yoshida, S. (2004). Comprehensive Comparison of Auxin-Regulated and Brassinosteroid-Regulated Genes in Arabidopsis. *Plant Physiol.* 134, 1555–1573. doi: 10.1104/pp.103.034736.
- Golan, I., Dominguez, P. G., Konrad, Z., Shkolnik-Inbar, D., Carrari, F., and Bar-Zvi, D. (2014). Tomato ABSCISIC ACID STRESS RIPENING (ASR) Gene Family Revisited. *PLoS ONE* 9, e107117. doi: 10.1371/journal.pone.0107117.
- Gomez-Roldan, V., Fermas, S., Brewer, P. B., Puech-Pagès, V., Dun, E. A., Pillot, J.-P., et al. (2008). Strigolactone inhibition of shoot branching. *Nature* 455, 189–194. doi: 10.1038/nature07271.
- Gonzalez-Guzman, M., Pizzio, G. A., Antoni, R., Vera-Sirera, F., Merilo, E., Bassel, G. W., et al. (2012). *Arabidopsis* PYR/PYL/RCAR Receptors Play a Major Role in Quantitative Regulation of Stomatal Aperture and Transcriptional Response to Abscisic Acid. *Plant Cell* 24, 2483–2496. doi: 10.1105/tpc.112.098574.
- Goto, E. (2003). Effects of Light Quality on Growth of Crop Plants under Artificial Lighting. *Environ. Control Biol.* 41, 121–132. doi: 10.2525/ecb1963.41.121.
- Graham, T., and Wheeler, R. (2017). Mechanical Stimulation Modifies Canopy Architecture and Improves Volume Utilization Efficiency in Bell Pepper: Implications for Bioregenerative Life-support and Vertical Farming. *Open Agric.* 2. doi: 10.1515/opag-2017-0004.
- Gray, W. M. (2004). Hormonal Regulation of Plant Growth and Development. *PLoS Biology* 2, e311. doi: 10.1371/journal.pbio.0020311.
- Grossmann, K. (1992). “Plant growth retardants: Their mode of action and benefit for physiological research,” in *Progress in Plant Growth Regulation Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture.*, eds. C. M. Karssen, L. C. van Loon, and D. Vreugdenhil (Dordrecht: Springer Netherlands), 788–797. doi: 10.1007/978-94-011-2458-4\_97.
- Guan, C., Xue, Y., Jiang, P., He, C., Zhuge, X., Lan, T., et al. (2021). Overexpression of PtoCYCD3;3 Promotes Growth and Causes Leaf Wrinkle and Branch Appearance in Populus. *Int. J. Mol. Sci.* 22, 1288. doi: 10.3390/ijms22031288.
- Guichard, L., Dedieu, F., Jeuffroy, M.-H., Meynard, J.-M., Reau, R., and Savini, I. (2017). Le plan Ecophyto de réduction d’usage des pesticides en France : décryptage d’un échec et raisons d’espérer. *Cah. Agric.* 26, 14002. doi: 10.1051/cagri/2017004.
- Guo, Y., Xu, C., Sun, X., Hu, Z., Fan, S., Jiang, Q., et al. (2019). TaSAUR78 enhances multiple abiotic stress tolerance by regulating the interacting gene TaVDAC1. *J. Integr. Agric.* 18, 2682–2690. doi: 10.1016/S2095-3119(19)62651-1.
- Gupta, B., Joshi, R., Pareek, A., and Singla-Pareek, S. L. (2017). “Transgenic Approaches to Improve Crop Productivity via Phytohormonal Research: A Focus on the

- Mechanisms of Phytohormone Action,” in *Mechanism of Plant Hormone Signaling under Stress*, ed. G. K. Pandey (Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc.), 533–567. doi: 10.1002/9781118889022.ch36.
- Gutjahr, C., Riemann, M., Müller, A., Düchting, P., Weiler, E. W., and Nick, P. (2005). Cholodny–Went revisited: a role for jasmonate in gravitropism of rice coleoptiles. *Planta* 222, 575–585. doi: 10.1007/s00425-005-0001-6.
- Halstead, N. T., McMahon, T. A., Johnson, S. A., Raffel, T. R., Romansic, J. M., Crumrine, P. W., et al. (2014). Community ecology theory predicts the effects of agrochemical mixtures on aquatic biodiversity and ecosystem properties. *Ecol. Lett.* 17, 932–941. doi: 10.1111/ele.12295.
- Han, H.-Hee., Coutand, C., Cochard, H., Trottier, C., and Lauri, P.-É. (2007). Effects of shoot bending on lateral fate and hydraulics: invariant and changing traits across five apple genotypes. *J. Exp. Bot.* 58, 3537–3547. doi: 10.1093/jxb/erm200.
- Hansen, C. W., and Petersen, K. K. (2004). Reduced Nutrient and Water Availability to Hibiscus rosa-sinensis ‘Cairo Red’ as a Method to Regulate Growth and Improve Post-production Quality. *Eur. J. Hortic. Sci.*, 159–166.
- Hara, M., Furukawa, J., Sato, A., Mizoguchi, T., and Miura, K. (2012). “Abiotic Stress and Role of Salicylic Acid in Plants,” in *Abiotic Stress Responses in Plants*, eds. P. Ahmad and M. N. V. Prasad (New York, NY: Springer New York), 235–251. doi: 10.1007/978-1-4614-0634-1\_13.
- Harberd, N. P., Belfield, E., and Yasumura, Y. (2009). The Angiosperm Gibberellin-GID1-DELLA Growth Regulatory Mechanism: How an “Inhibitor of an Inhibitor” Enables Flexible Response to Fluctuating Environments. *Plant Cell* 21, 1328–1339. doi: 10.1105/tpc.109.066969.
- Harms, C. L., and Oplinger, E. S. (1988). Plant growth regulators: their use in crop production. *IA North Cent. Reg. Ext. Publ.*
- Hassaan, M. A., and El Nemr, A. (2020). Pesticides pollution: Classifications, human health impact, extraction and treatment techniques. *Egypt. J. Aquat. Res.* 46, 207–220. doi: 10.1016/j.ejar.2020.08.007.
- Hedden, P. (2020). The Current Status of Research on Gibberellin Biosynthesis. *Plant Cell Physiol.* 61, 1832–1849. doi: 10.1093/pcp/pcaa092.
- Hedden, P., and Thomas, S. G. (2012). Gibberellin biosynthesis and its regulation. *Biochem. J.* 444, 11–25. doi: 10.1042/BJ20120245.
- Hendrickson, J. R., Hanson, J. D., Tanaka, D. L., and Sassenrath, G. (2008). Principles of integrated agricultural systems: Introduction to processes and definition. *Renew. Agric. Food Syst.* 23, 265–271. doi: 10.1017/S1742170507001718.
- Herrmann, K. M., and Weaver, L. M. (1999). The Shikimate Pathway.



- Hertzberg, M., Aspeborg, H., Schrader, J., Andersson, A., Erlandsson, R., Blomqvist, K., et al. (2001). A transcriptional roadmap to wood formation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 98, 14732–14737. doi: 10.1073/pnas.261293398.
- Hjollund, N. H. (2004). Pesticide exposure in male farmers and survival of in vitro fertilized pregnancies. *Hum. Reprod.* 19, 1331–1337. doi: 10.1093/humrep/deh203.
- Höfte, H., and Voxeur, A. (2017). Plant cell walls. *Curr. Biol.* 27, R865–R870. doi: 10.1016/j.cub.2017.05.025.
- Holtappels, D., Fortuna, K., Lavigne, R., and Wagemans, J. (2021). The future of phage biocontrol in integrated plant protection for sustainable crop production. *Curr. Opin. Biotechnol.* 68, 60–71. doi: 10.1016/j.copbio.2020.08.016.
- Hou, X., Ding, L., and Yu, H. (2013). Crosstalk between GA and JA signaling mediates plant growth and defense. *Plant Cell Rep.* 32, 1067–1074. doi: 10.1007/s00299-013-1423-4.
- Huché-Théliér, L., Crespel, L., Gourrierc, J. L., Morel, P., Sakr, S., and Leduc, N. (2016). Light signaling and plant responses to blue and UV radiations—Perspectives for applications in horticulture. *Environ. Exp. Bot.* 121, 22–38. doi: 10.1016/j.envexpbot.2015.06.009.
- Hunter, D. M., and Proctor, J. T. A. (1992). Paclobutrazol Affects Growth and Fruit Composition of Potted Grapevines. *HortScience* 27, 319–321. doi: 10.21273/HORTSCI.27.4.319.
- Hussein, M. M. M., Mansour, H. A., and Ashour, H. A. (2012). Response of *Paspalum vaginatum* Turfgrass Grown under Shade Conditions to Paclobutrazol and Trinexapac-Ethyl as Plant Growth Retardants (PGRs).
- Hutchison, C. E., Li, J., Argueso, C., Gonzalez, M., Lee, E., Lewis, M. W., et al. (2006). The *Arabidopsis* Histidine Phosphotransfer Proteins Are Redundant Positive Regulators of Cytokinin Signaling. *Plant Cell* 18, 3073–3087. doi: 10.1105/tpc.106.045674.
- Hwang, I., and Sakakibara, H. (2006). Cytokinin biosynthesis and perception. *Physiol. Plant.* 126, 528–538. doi: 10.1111/j.1399-3054.2006.00665.x.
- Idrees, M., Naeem, M., Aftab, T., Khan, M. M. A., and Moinuddin (2011). Salicylic acid mitigates salinity stress by improving antioxidant defence system and enhances vincristine and vinblastine alkaloids production in periwinkle [*Catharanthus roseus* (L.) G. Don]. *Acta Physiol. Plant.* 33, 987–999. doi: 10.1007/s11738-010-0631-6.
- Iida, H. (2014). Mugifumi, a beneficial farm work of adding mechanical stress by treading to wheat and barley seedlings. *Front. Plant Sci.* 5. doi: 10.3389/fpls.2014.00453.
- Immanen, J., Nieminen, K., Smolander, O.-P., Kojima, M., Alonso Serra, J., Koskinen, P., et al. (2016). Cytokinin and Auxin Display Distinct but Interconnected Distribution and Signaling Profiles to Stimulate Cambial Activity. *Curr. Biol.* 26, 1990–1997. doi: 10.1016/j.cub.2016.05.053.

- Ishida, K., Yamashino, T., Yokoyama, A., and Mizuno, T. (2008). Three Type-B Response Regulators, ARR1, ARR10 and ARR12, Play Essential but Redundant Roles in Cytokinin Signal Transduction Throughout the Life Cycle of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* 49, 47–57. doi: 10.1093/pcp/pcm165.
- Ishihara, K. L., Lee, E. K. W., and Borthakur, D. (2017). Thigmomorphogenesis: changes in morphology, biochemistry, and levels of transcription in response to mechanical stress in *Acacia koa*. *Can. J. For. Res.* 47, 583–593. doi: 10.1139/cjfr-2016-0356.
- Israelsson, M., Mellerowicz, E., Chono, M., Gullberg, J., and Moritz, T. (2004). Cloning and Overproduction of Gibberellin 3-Oxidase in Hybrid Aspen Trees. Effects on Gibberellin Homeostasis and Development. *Plant Physiol.* 135, 221–230. doi: 10.1104/pp.104.038935.
- Jaffe, M. J. (1973). Thigmomorphogenesis: The response of plant growth and development to mechanical stimulation: With special reference to *Bryonia dioica*. *Planta* 114, 143–157. doi: 10.1007/BF00387472.
- Jaffe, M. J., and Biro, R. (1979). Thigmomorphogenesis: the effect of mechanical perturbation on the growth of plants, with special reference to anatomical changes, the role of ethylene, and interaction with other environmental stresses. *Stress Physiol. Crop Plants*, 25–59.
- Jaffe, M. J., and Forbes, S. (1993). Thigmomorphogenesis: the effect of mechanical perturbation on plants. 49, 313–324. doi: 10.1007/BF00027213.
- Jamwal, K., Bhattacharya, S., and Puri, S. (2018). Plant growth regulator mediated consequences of secondary metabolites in medicinal plants. *J. Appl. Res. Med. Aromat. Plants* 9, 26–38. doi: 10.1016/j.jarmap.2017.12.003.
- Jędrzejuk, A., Kuźma, N., Nawrot, K., Budzyński, R., and Orłowski, A. (2020). Mechanical stimulation affects growth dynamics, IAA content and activity of POD and IAA oxidase in *Petunia x atkinsiana*. *Sci. Hortic.* 274, 109661. doi: 10.1016/j.scienta.2020.109661.
- Jensen, G. S., Fal, K., Hamant, O., and Haswell, E. S. (2016). The RNA Polymerase-Associated Factor 1 Complex Is Required for Plant Touch Responses. *J. Exp. Bot.*, erw439. doi: 10.1093/jxb/erw439.
- Jeong, Y.-H., and Ota, Y. (1980). A Relationship between Growth Inhibition and Abscisic Acid Content by Mechanical Stimulation in Rice Plant. *Jpn. J. Crop Sci.* 49, 615–616. doi: 10.1626/jcs.49.615.
- Jia, H., Jiu, S., Zhang, C., Wang, C., Tariq, P., Liu, Z., et al. (2016). Abscisic acid and sucrose regulate tomato and strawberry fruit ripening through the abscisic acid-stress-ripening transcription factor. *Plant Biotechnol. J.* 14, 2045–2065. doi: 10.1111/pbi.12563.
- John, D. A., and Babu, G. R. (2021). Lessons From the Aftermaths of Green Revolution on Food System and Health. *Front. Sustain. Food Syst.* 5, 644559. doi: 10.3389/fsufs.2021.644559.

- Johnson, K. A., Sistrunk, M. L., Polisensky, D. H., and Braam, J. (1998). *Arabidopsis thaliana* Responses to Mechanical Stimulation Do Not Require ETR1 or EIN21. *Plant Physiol.* 116, 643–649. doi: 10.1104/pp.116.2.643.
- Jones, M. A. (2018). Using light to improve commercial value. *Hortic. Res.* 5, 47. doi: 10.1038/s41438-018-0049-7.
- Jung, J., Kim, S.-K., Jung, S.-H., Jeong, M.-J., and Ryu, C.-M. (2020). Sound Vibration-Triggered Epigenetic Modulation Induces Plant Root Immunity Against *Ralstonia solanacearum*. *Front. Microbiol.* 11, 1978. doi: 10.3389/fmicb.2020.01978.
- Kachroo, A., and Kachroo, P. (2007). “Salicylic Acid-, Jasmonic Acid- and Ethylenemediated Regulation of Plant Defense Signaling,” in *Genetic Engineering*, ed. J. K. Setlow (Boston, MA: Springer US), 55–83. doi: 10.1007/978-0-387-34504-8\_4.
- Kaiser, E., Ouzounis, T., Giday, H., Schipper, R., Heuvelink, E., and Marcelis, L. F. M. (2019). Adding Blue to Red Supplemental Light Increases Biomass and Yield of Greenhouse-Grown Tomatoes, but Only to an Optimum. *Front. Plant Sci.* 9, 2002. doi: 10.3389/fpls.2018.02002.
- Kami, C., Lorrain, S., Hornitschek, P., and Fankhauser, C. (2010). “Light-Regulated Plant Growth and Development,” in *Current Topics in Developmental Biology* (Elsevier), 29–66. doi: 10.1016/S0070-2153(10)91002-8.
- Kamran, M., Cui, W., Ahmad, I., Meng, X., Zhang, X., Su, W., et al. (2018). Effect of paclobutrazol, a potential growth regulator on stalk mechanical strength, lignin accumulation and its relation with lodging resistance of maize. *Plant Growth Regul.* 84, 317–332. doi: 10.1007/s10725-017-0342-8.
- Kasahara, H., Hanada, A., Kuzuyama, T., Takagi, M., Kamiya, Y., and Yamaguchi, S. (2002). Contribution of the Mevalonate and Methylerythritol Phosphate Pathways to the Biosynthesis of Gibberellins in *Arabidopsis*. *J. Biol. Chem.* 277, 45188–45194. doi: 10.1074/jbc.M208659200.
- Kazan, K. (2018). A new twist in SA signalling. *Nat. Plants* 4, 327–328. doi: 10.1038/s41477-018-0171-4.
- Kendrick, R. E., and Kronenberg, G. H. M. eds. (1994). *Photomorphogenesis in Plants*. Dordrecht: Springer Netherlands doi: 10.1007/978-94-011-1884-2.
- Khalil, S., Alsanius, B., and Naznin, M. T. (2023). Dark Interruption with Red or Blue Led Light to Reduce the Incidence of Pathogen Attack and Enhance Product Quality of Organically Grown Strawberries. SSRN Journal. doi: 10.2139/ssrn.4389428.
- Khan, M. A., Gul, B., and Weber, D. J. (2004). Action of plant growth regulators and salinity on seed germination of *Ceratoides lanata*. *Can. J. Bot.* 82, 37–42. doi: 10.1139/b03-140.
- Khuvung, K., Silva Gutierrez, F. A. O., and Reinhardt, D. (2022). How Strigolactone Shapes Shoot Architecture. *Front. Plant Sci.* 13, 889045. doi: 10.3389/fpls.2022.889045.

- Kieber, J. J., and Schaller, G. E. (2018). Cytokinin signaling in plant development. *Development* 145, dev149344. doi: 10.1242/dev.149344.
- Kim, G.-T., Fujioka, S., Kozuka, T., Tax, F. E., Takatsuto, S., Yoshida, S., et al. (2005). CYP90C1 and CYP90D1 are involved in different steps in the brassinosteroid biosynthesis pathway in *Arabidopsis thaliana*: ROT3 and CYP90D1 in brassinosteroid biosynthesis. *Plant J.* 41, 710–721. doi: 10.1111/j.1365-3113.2004.02330.x.
- Klerkx, L., and Rose, D. (2020). Dealing with the game-changing technologies of Agriculture 4.0: How do we manage diversity and responsibility in food system transition pathways? *Glob. Food Secur.* 24, 100347. doi: 10.1016/j.gfs.2019.100347.
- Koch, T., Bandemer, K., and Boland, W. (1997). Biosynthesis of cis-Jasmone: a pathway for the inactivation and the disposal of the plant stress hormone jasmonic acid to the gas phase? *Helv. Chim. Acta* 80, 838–850. doi: 10.1002/hlca.19970800318.
- Koo, A. J. K., and Howe, G. A. (2009). The wound hormone jasmonate. *Phytochemistry* 70, 1571–1580. doi: 10.1016/j.phytochem.2009.07.018.
- Kou, E., Huang, X., Zhu, Y., Su, W., Liu, H., Sun, G., et al. (2021). Crosstalk between auxin and gibberellin during stalk elongation in flowering Chinese cabbage. *Sci. Rep.* 11, 3976. doi: 10.1038/s41598-021-83519-z.
- Kou, X., Zhao, X., Wu, B., Wang, C., Wu, C., Yang, S., et al. (2022). Auxin Response Factors Are Ubiquitous in Plant Growth and Development, and Involved in Crosstalk between Plant Hormones: A Review. *Appl. Sci.* 12, 1360. doi: 10.3390/app12031360.
- Kour, J., Kohli, S. K., Khanna, K., Bakshi, P., Sharma, P., Singh, A. D., et al. (2021). Brassinosteroid Signaling, Crosstalk and, Physiological Functions in Plants Under Heavy Metal Stress. *Front. Plant Sci.* 12, 608061. doi: 10.3389/fpls.2021.608061.
- Kováčik, J., Grúz, J., Bačkor, M., Strnad, M., and Repčák, M. (2009). Salicylic acid-induced changes to growth and phenolic metabolism in *Matricaria chamomilla* plants. *Plant Cell Rep.* 28, 135–143. doi: 10.1007/s00299-008-0627-5.
- Kumar, M., Campbell, L., and Turner, S. (2016). Secondary cell walls: biosynthesis and manipulation. *J. Exp. Bot.* 67, 515–531. doi: 10.1093/jxb/erv533.
- Kumar, M., Kesawat, M. S., Ali, A., Lee, S.-C., Gill, S. S., and Kim, H. U. (2019). Integration of Abscisic Acid Signaling with Other Signaling Pathways in Plant Stress Responses and Development. *Plants* 8, 592. doi: 10.3390/plants8120592.
- Kushwah, S., Banasiak, A., Nishikubo, N., Derba-Maceluch, M., Majda, M., Endo, S., et al. (2020). *Arabidopsis XTH4* and *XTH9* Contribute to Wood Cell Expansion and Secondary Wall Formation. *Plant Physiol.* 182, 1946–1965. doi: 10.1104/pp.19.01529.
- Lafarguette, F., Leplé, J., Déjardin, A., Laurans, F., Costa, G., Lesage-Descauses, M., et al. (2004). Poplar genes encoding fasciclin-like arabinogalactan proteins are highly

- expressed in tension wood. *New Phytol.* 164, 107–121. doi: 10.1111/j.1469-8137.2004.01175.x.
- Lafon-Placette, C., Faivre-Rampant, P., Delaunay, A., Street, N., Brignolas, F., and Maury, S. (2013). Methylome of DNase I sensitive chromatin in *Populus trichocarpa* shoot apical meristematic cells: a simplified approach revealing characteristics of gene-body DNA methylation in open chromatin state. *New Phytol.* 197, 416–430. doi: 10.1111/nph.12026.
- Lämke, J., and Bäurle, I. (2017). Epigenetic and chromatin-based mechanisms in environmental stress adaptation and stress memory in plants. *Genome Biol.* 18, 124. doi: 10.1186/s13059-017-1263-6.
- Lang, G. A., Early, J. D., Martin, G. C., and Darnell, R. L. (1987). Endo-, Para-, and Ecodormancy: Physiological Terminology and Classification for Dormancy Research. 22.
- Lange, M. J. P., and Lange, T. (2015). Touch-induced changes in Arabidopsis morphology dependent on gibberellin breakdown. *Nat. Plants* 1, 14025. doi: 10.1038/nplants.2014.25.
- Lange, T., and Pimenta Lange, M. J. (2020). The Multifunctional Dioxygenases of Gibberellin Synthesis. *Plant Cell Physiol.* 61, 1869–1879. doi: 10.1093/pcp/pcaa051.
- Latché, A., Ayub, R., and Martinez, G. (1995). Biosynthèse et mode d'action de l'hormone végétale éthylène. *Fruits* 50, 379–396.
- Latimer, J. G. (1991). Mechanical Conditioning for Control of Growth and Quality of Vegetable Transplants. *HortScience* 26, 1456–1461. doi: 10.21273/HORTSCI.26.12.1456.
- Latimer, J., and Whipker, B. (2013). Selecting and Using Plant Growth Regulators on Floricultural Crops.
- Lauri, P.-É., and Lespinasse, J.-M. (2001). Genotype of Apple Trees Affects Growth and Fruiting Responses to Shoot Bending at Various Times of Year. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 126, 169–174. doi: 10.21273/JASHS.126.2.169.
- Lavy, M., and Estelle, M. (2016). Mechanisms of auxin signaling. *Development* 143, 3226–3229. doi: 10.1242/dev.131870.
- Leblanc-Fournier, N., Martin, L., Lenne, C., and Decourteix, M. (2014). To respond or not to respond, the recurring question in plant mechanosensitivity. *Front. Plant Sci.* 5. doi: 10.3389/fpls.2014.00401.
- Leduc, N., Roman, H., Barbier, F., Péron, T., Huché-Théliet, L., Lothier, J., et al. (2014). Light Signaling in Bud Outgrowth and Branching in Plants. *Plants* 3, 223–250. doi: 10.3390/plants3020223.

- Lee, D., Polisensky, D. H., and Braam, J. (2004). Genome-wide identification of touch- and darkness-regulated Arabidopsis genes: a focus on calmodulin-like and XTH genes. *New Phytol.* 165, 429–444. doi: 10.1111/j.1469-8137.2004.01238.x.
- Lee, I.-J., Foster, K. R., and Morgan, P. W. (1998). Effect of Gibberellin Biosynthesis Inhibitors on Native Gibberellin Content, Growth and Floral Initiation in Sorghum bicolor. *J. Plant Growth Regul.* 17, 185–195. doi: 10.1007/PL00007034.
- Lee, Y. I., Fang, W., and Chen, C. C. (2011). Effect Of Six Different LED Light Qualities On The Seedlings Growth Of Paphiopedilum Orchid In Vitro. *Acta Hort.*, 389–391. doi: 10.17660/ActaHortic.2011.907.65.
- Lefevre, H., Bauters, L., and Gheysen, G. (2020). Salicylic Acid Biosynthesis in Plants. *Front. Plant Sci.* 11, 338. doi: 10.3389/fpls.2020.00338.
- Lewis, K. P., Faust, J. E., Sparkman, J. D., and Grimes, L. W. (2004). The Effect of Daminozide and Chlormequat on the Growth and Flowering of Poinsettia and Pansy. *HortScience* 39, 1315–1318. doi: 10.21273/HORTSCI.39.6.1315.
- Lezoche, M., Hernandez, J. E., Alemany Díaz, M. D. M. E., Panetto, H., and Kacprzyk, J. (2020). Agri-food 4.0: A survey of the supply chains and technologies for the future agriculture. *Comput. Ind.* 117, 103187. doi: 10.1016/j.compind.2020.103187.
- Li, A., Sun, X., and Liu, L. (2022). Action of Salicylic Acid on Plant Growth. *Front. Plant Sci.* 13, 878076. doi: 10.3389/fpls.2022.878076.
- Li, C., Dong, L., Durairaj, J., Guan, J.-C., Yoshimura, M., Quinodoz, P., et al. (2023). Maize resistance to witchweed through changes in strigolactone biosynthesis. *Science* 379, 94–99. doi: 10.1126/science.abq4775.
- Li, C., Zheng, L., Wang, X., Hu, Z., Zheng, Y., Chen, Q., et al. (2019a). Comprehensive expression analysis of Arabidopsis GA2-oxidase genes and their functional insights. *Plant Sci.* 285, 1–13. doi: 10.1016/j.plantsci.2019.04.023.
- Li, J., and Chory, J. (1999). Brassinosteroid actions in plants. *J. Exp. Bot.* 50, 275–282. doi: 10.1093/jxb/50.332.275.
- Li, J., Nagpal, P., Vitart, V., McMorris, T. C., and Chory, J. (1996). A Role for Brassinosteroids in Light-Dependent Development of *Arabidopsis*. *Science* 272, 398–401. doi: 10.1126/science.272.5260.398.
- Li, J., Zhang, K., Meng, Y., Hu, J., Ding, M., Bian, J., et al. (2018a). Jasmonic acid/ethylene signaling coordinates hydroxycinnamic acid amides biosynthesis through ORA59 transcription factor. *Plant J.* 95, 444–457. doi: 10.1111/tpj.13960.
- Li, N., Han, X., Feng, D., Yuan, D., and Huang, L.-J. (2019b). Signaling Crosstalk between Salicylic Acid and Ethylene/Jasmonate in Plant Defense: Do We Understand What They Are Whispering? *Int. J. Mol. Sci.* 20, 671. doi: 10.3390/ijms20030671.
- Li, Y., Mukherjee, I., Thum, K. E., Tanurdzic, M., Katari, M. S., Obertello, M., et al. (2015). The histone methyltransferase SDG8 mediates the epigenetic modification of light

- and carbon responsive genes in plants. *Genome Biol.* 16, 79. doi: 10.1186/s13059-015-0640-2.
- Li, Z., Zhang, X., Zhao, Y., Li, Y., Zhang, G., Peng, Z., et al. (2018b). Enhancing auxin accumulation in maize root tips improves root growth and dwarfs plant height. *Plant Biotechnol. J.* 16, 86–99. doi: 10.1111/pbi.12751.
- Li, Z.-G., and Gong, M. (2011). Mechanical Stimulation-Induced Cross-Adaptation in Plants: An Overview. *J. Plant Biol.* 54, 358. doi: 10.1007/s12374-011-9178-3.
- Liao, Y., Bai, Q., Xu, P., Wu, T., Guo, D., Peng, Y., et al. (2018). Mutation in Rice Abscisic Acid2 Results in Cell Death, Enhanced Disease-Resistance, Altered Seed Dormancy and Development. *Front. Plant Sci.* 9, 405. doi: 10.3389/fpls.2018.00405.
- Lim, J., Lim, C. W., and Lee, S. C. (2021). Pepper Novel Pseudo Response Regulator Protein CaPRR2 Modulates Drought and High Salt Tolerance. *Front. Plant Sci.* 12, 736421. doi: 10.3389/fpls.2021.736421.
- Lin, K.-H., Li, J.-M., Wu, C.-W., and Chang, Y.-S. (2021). Effects of plant growth regulators and polyamines on bract longevity in *Bougainvillea buttiana*. *Hortic. Environ. Biotechnol.* 62, 149–157. doi: 10.1007/s13580-020-00305-y.
- Lin, Z., Zhong, S., and Grierson, D. (2009). Recent advances in ethylene research. *J. Exp. Bot.* 60, 3311–3336. doi: 10.1093/jxb/erp204.
- Litlere, B., and Strømme, E. (1975). The Influence Of Temperature, Daylength And Light Intensity On Flowering In *Hydrangea Macrophylla* (Thunb.) Ser. *Acta Hortic.*, 285–298. doi: 10.17660/ActaHortic.1975.51.30.
- Litwińczuk, W., and Jacek, B. (2023). Growth of *Paulownia* ssp. Interspecific Hybrid ‘Oxytree’ Micropropagated Nursery Plants under the Influence of Plant-Growth Regulators. *Agronomy* 13, 2474. doi: 10.3390/agronomy13102474.
- Liu, J., Magwanga, R. O., Xu, Y., Wei, T., Kirungu, J. N., Zheng, J., et al. (2021a). Functional Characterization of Cotton C-Repeat Binding Factor Genes Reveal Their Potential Role in Cold Stress Tolerance. *Front. Plant Sci.* 12, 766130. doi: 10.3389/fpls.2021.766130.
- Liu, N., Wang, Y., Li, K., Li, C., Liu, B., Zhao, L., et al. (2023a). Transcriptional Analysis of Tea Plants (*Camellia sinensis*) in Response to Salicylic Acid Treatment. *J. Agric. Food Chem.* 71, 2377–2389. doi: 10.1021/acs.jafc.2c07046.
- Liu, Y., Jafari, F., and Wang, H. (2021b). Integration of light and hormone signaling pathways in the regulation of plant shade avoidance syndrome. *aBIOTECH* 2, 131–145. doi: 10.1007/s42994-021-00038-1.
- Liu, Z., Fadiji, T., Yang, J., Li, Z., and Tchuenbou-Magaia, F. (2023b). Impact of mechanical stimulation on the life cycle of horticultural plant. *Hortic. Plant J.* 9, 381–394. doi: 10.1016/j.hpj.2023.01.003.

- Lopez-Obando, M., Ligerot, Y., Bonhomme, S., Boyer, F.-D., and Rameau, C. (2015). Strigolactone biosynthesis and signaling in plant development. *Development* 142, 3615–3619. doi: 10.1242/dev.120006.
- Luger, K. (1997). Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution. 389, 10.
- Lurie, S. (2010). Plant Growth Regulators For Improving Postharvest Stone Fruit Quality. *Acta Hort.*, 189–197. doi: 10.17660/ActaHortic.2010.884.21.
- Ma, Y., MacMillan, C. P., de Vries, L., Mansfield, S. D., Hao, P., Ratcliffe, J., et al. (2022). FLA11 and FLA12 glycoproteins fine-tune stem secondary wall properties in response to mechanical stresses. *New Phytol.* 233, 1750–1767. doi: 10.1111/nph.17898.
- Macioszek, V. K., Jęcz, T., Ciereszko, I., and Kononowicz, A. K. (2023). Jasmonic Acid as a Mediator in Plant Response to Necrotrophic Fungi. *Cells* 12, 1027. doi: 10.3390/cells12071027.
- Majda, M., and Robert, S. (2018). The Role of Auxin in Cell Wall Expansion. *Int. J. Mol. Sci.* 19, 951. doi: 10.3390/ijms19040951.
- Malinovsky, F. G., Fangel, J. U., and Willats, W. G. T. (2014). The role of the cell wall in plant immunity. *Front. Plant Sci.* 5. doi: 10.3389/fpls.2014.00178.
- Mandava, N. B. (1988). Plant Growth-Promoting Brassinosteroids. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 39, 23–52.
- Manghwar, H., Hussain, A., Ali, Q., and Liu, F. (2022). Brassinosteroids (BRs) Role in Plant Development and Coping with Different Stresses. *Int. J. Mol. Sci.* 23, 1012. doi: 10.3390/ijms23031012.
- Martin, L., Decourteix, M., Badel, E., Huguet, S., Moulia, B., Julien, J.-L., et al. (2014). The zinc finger protein PtaZFP2 negatively controls stem growth and gene expression responsiveness to external mechanical loads in poplar. *New Phytol.* 203, 168–181. doi: 10.1111/nph.12781.
- Martin, L., Leblanc-Fournier, N., Julien, J.-L., Moulia, B., and Coutand, C. (2010). Acclimation kinetics of physiological and molecular responses of plants to multiple mechanical loadings. *J. Exp. Bot.* 61, 2403–2412. doi: 10.1093/jxb/erq069.
- Mashiguchi, K., Seto, Y., Onozuka, Y., Suzuki, S., Takemoto, K., Wang, Y., et al. (2022). A carlactonoic acid methyltransferase that contributes to the inhibition of shoot branching in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 119, e2111565119. doi: 10.1073/pnas.2111565119.
- Mashonjowa, E., Ronsse, F., Mhizha, T., Milford, J. R., Lemeur, R., and Pieters, J. G. (2010). The effects of whitening and dust accumulation on the microclimate and canopy behaviour of rose plants (*Rosa hybrida*) in a greenhouse in Zimbabwe. *Sol. Energy* 84, 10–23.



- Mata, D. A., and Botto, J. F. (2009). Manipulation of Light Environment to Produce High-quality Poinsettia Plants. *HortScience* 44, 702–706. doi: 10.21273/HORTSCI.44.3.702.
- Matsumoto-Kitano, M., Kusumoto, T., Tarkowski, P., Kinoshita-Tsujimura, K., Václavíková, K., Miyawaki, K., et al. (2008). Cytokinins are central regulators of cambial activity. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 105, 20027–20031. doi: 10.1073/pnas.0805619105.
- Matsuo, S., Nanya, K., Imanishi, S., Honda, I., and Goto, E. (2019). Effects of Blue and Red Lights on Gibberellin Metabolism in Tomato Seedlings. *Hortic. J.* 88, 76–82. doi: 10.2503/hortj.UTD-005.
- Mauch, F., Kmecl, A., Schaffrath, U., Volrath, S., Goslach, J., Ward, E., et al. (1997). Mechanosensitive Expression of a Lipoxygenase Gene in Wheat. *Plant Physiol.* 114, 1561–1566. doi: 10.1104/pp.114.4.1561.
- Mauch-Mani, B., Baccelli, I., Luna, E., and Flors, V. (2017). Defense Priming: An Adaptive Part of Induced Resistance. *Annu. Rev. Plant Biol.* 68, 485–512. doi: 10.1146/annurev-arplant-042916-041132.
- Maugin, E., and Ferre, A. (2018). “La stimulation mécanique pour réguler la croissance et le développement des végétaux,” in *Méthodes alternatives en protection des plantes* (Paris: ASTREDHOR, Institut technique de l’horticulture).
- Maury, S., Sow, M. D., Le Gac, A.-L., Genitoni, J., Lafon-Placette, C., and Mozgova, I. (2019). Phytohormone and Chromatin Crosstalk: The Missing Link For Developmental Plasticity? *Front. Plant Sci.* 10, 395. doi: 10.3389/fpls.2019.00395.
- Mazoyer, M. (2008). La situation agricole et alimentaire mondiale : causes, conséquences, perspectives. *Ol. Corps Gras Lipides* 15, 385–390. doi: 10.1051/ocl.2008.0233.
- McKeon, T. A., and Yang, S.-F. (1987). “Biosynthesis and Metabolism of Ethylene,” in *Plant Hormones and their Role in Plant Growth and Development*, ed. P. J. Davies (Dordrecht: Springer Netherlands), 94–112. doi: 10.1007/978-94-009-3585-3\_6.
- McMichael, A. J., Powles, J. W., Butler, C. D., and Uauy, R. (2007). Food, livestock production, energy, climate change, and health. *The Lancet* 370, 1253–1263. doi: 10.1016/S0140-6736(07)61256-2.
- Meents, M. J., Watanabe, Y., and Samuels, A. L. (2018). The cell biology of secondary cell wall biosynthesis. *Ann. Bot.* 121, 1107–1125. doi: 10.1093/aob/mcy005.
- Megersa, H., Lemma, D., and Banjawu, D. (2018). Effects of Plant Growth Retardants and Pot Sizes on the Height of Potting Ornamental Plants: A Short Review. *J. Hortic.* 05. doi: 10.4172/2376-0354.1000220.
- Meijón, M., Rodríguez, R., Jesús Cañal, M., and Feito, I. (2009). Improvement of compactness and floral quality in azalea by means of application of plant growth regulators. *Sci. Hortic.* 119, 169–176. doi: 10.1016/j.scienta.2008.07.023.

- Mekapogu, M., Kwon, O.-K., Song, H.-Y., and Jung, J.-A. (2022). Towards the Improvement of Ornamental Attributes in Chrysanthemum: Recent Progress in Biotechnological Advances. *Int. J. Mol. Sci.* 23, 12284. doi: 10.3390/ijms232012284.
- Mellerowicz, E. J., Baucher, M., Sundberg, B., and Boerjan, W. (2001). “Unravelling cell wall formation in the woody dicot stem,” in *Plant Cell Walls*, eds. N. C. Carpita, M. Campbell, and M. Tierney (Dordrecht: Springer Netherlands), 239–274. doi: 10.1007/978-94-010-0668-2\_15.
- Mensuali-Sodi, A., Serra, G., Veiga de vincenzo, M. C., Tognoni, F., and Ferrante, A. (2006). Ethylene Response To Mechanical Stress Perturbation Of *Salvia Splendens* L. Potted Plants. *Acta Hortic.*, 421–426. doi: 10.17660/ActaHortic.2006.723.59.
- Miceli, A., Moncada, A., Sabatino, L., and Vetrano, F. (2019). Effect of Gibberellic Acid on Growth, Yield, and Quality of Leaf Lettuce and Rocket Grown in a Floating System. *Agronomy* 9, 382. doi: 10.3390/agronomy9070382.
- Mijnsbrugge, K. V., Montagu, M. V., Inze, D., and Boerjan, W. (1996). Tissue-Specific Expression Conferred by the S-Adenosyl-L-Methionine Synthetase Promoter of *Arabidopsis thaliana* in Transgenic Poplar. 37, 1108–1115. doi: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a029061>.
- Miller, W. B., Lu, W., and Tang, D. (2022). Root Absorption and Xylem Movement of Ethephon in Tomato. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 147, 116–121. doi: 10.21273/JASHS05116-21.
- Miyashima, S., Sebastian, J., Lee, J.-Y., and Helariutta, Y. (2012). Stem cell function during plant vascular development. *EMBO J.* 32, 178–193. doi: 10.1038/emboj.2012.301.
- Mockaitis, K., and Estelle, M. (2008). Auxin Receptors and Plant Development: A New Signaling Paradigm. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 24, 55–80. doi: 10.1146/annurev.cellbio.23.090506.123214.
- Morel, Crespel, L., Galopin, G., and Moullia, B. (2012). Effect of mechanical stimulation on the growth and branching of garden rose. *Sci. Hortic.* 135, 59–64. doi: 10.1016/j.scienta.2011.12.007.
- Mori, I. C., and Schroeder, J. I. (2004). Reactive Oxygen Species Activation of Plant Ca<sup>2+</sup> Channels. A Signaling Mechanism in Polar Growth, Hormone Transduction, Stress Signaling, and Hypothetically Mechanotransduction: Figure 1. *Plant Physiol.* 135, 702–708. doi: 10.1104/pp.104.042069.
- Mortensen, L. M. (1990). Effects of temperature and light quality on growth and flowering of *Begonia X hiemalis* Fotsch. and *Campanula isophylla* Moretti. *Sci. Hortic.* 44, 309–314. doi: [https://doi.org/10.1016/0304-4238\(90\)90131-W](https://doi.org/10.1016/0304-4238(90)90131-W).
- Mortensen, L. M., and Moe, R. (1983). Growth responses of some greenhouse plants to environment. VI. Effect of CO<sub>2</sub> and artificial light on growth of *Chrysanthemum morifolium* Ramat. *Sci. Hortic.* 19, 141–147. doi: 10.1016/0304-4238(83)90054-7.

- Müller, D., Waldie, T., Miyawaki, K., To, J. P. C., Melnyk, C. W., Kieber, J. J., et al. (2015). Cytokinin is required for escape but not release from auxin mediated apical dominance. *Plant J.* 82, 874–886. doi: 10.1111/tpj.12862.
- Mutava, R. N., Prince, S. J. K., Syed, N. H., Song, L., Valliyodan, B., Chen, W., et al. (2015). Understanding abiotic stress tolerance mechanisms in soybean: A comparative evaluation of soybean response to drought and flooding stress. *Plant Physiol. Biochem.* 86, 109–120. doi: 10.1016/j.plaphy.2014.11.010.
- Na, C.-I., Hamayun, M., Khan, A. L., Kim, Y.-H., Choi, K.-I., Kang, M., et al. (2011). Influence of prohexadione-calcium, trinexapac-ethyl and hexaconazole on lodging characteristic and gibberellin biosynthesis of rice (*Oryza sativa* L.). *Afr. J. Biotechnol.* 10, 13097–13106.
- Nahirňak, V., Almasia, N. I., Hopp, H. E., and Vazquez-Rovere, C. (2012). Snakin/GASA proteins: Involvement in hormone crosstalk and redox homeostasis. *Plant Signal. Behav.* 7, 1004–1008. doi: 10.4161/psb.20813.
- Nambara, E., and Marion-Poll, A. (2005). Abscisic Acid Biosynthesis And Catabolism. *Annu. Rev. Plant Biol.* 56, 165–185. doi: 10.1146/annurev.arplant.56.032604.144046.
- Nashima, K., Shirasawa, K., Ghelfi, A., Hirakawa, H., Isobe, S., Suyama, T., et al. (2021). Genome sequence of *Hydrangea macrophylla* and its application in analysis of the double flower phenotype. *DNA Res.* 28, dsaa026. doi: 10.1093/dnares/dsaa026.
- Nemhauser, J. L., Mockler, T. C., and Chory, J. (2004). Interdependency of Brassinosteroid and Auxin Signaling in Arabidopsis. *PLoS Biol.* 2, e258. doi: 10.1371/journal.pbio.0020258.
- Nieminen, K., Immanen, J., Laxell, M., Kauppinen, L., Tarkowski, P., Dolezal, K., et al. (2008). Cytokinin signaling regulates cambial development in poplar. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 105, 20032–20037. doi: 10.1073/pnas.0805617106.
- Niklas, K. J., and Telewski, F. W. (2022). Environmental–biomechanical reciprocity and the evolution of plant material properties. *J. Exp. Bot.* 73, 1067–1079. doi: 10.1093/jxb/erab411.
- Nishant Bhanu, A. (2019). Brassinosteroids: Relevance in Biological Activities of Plants and Agriculture. *J. Plant Sci. Res.* 35, 1–15. doi: 10.32381/JPSR.2019.35.01.1.
- Nordli, E. F., Strøm, M., and Torre, S. (2011). Temperature and photoperiod control of morphology and flowering time in two greenhouse grown *Hydrangea macrophylla* cultivars. *Sci. Hortic.* 127, 372–377. doi: 10.1016/j.scienta.2010.09.019.
- Novák, O., Hényková, E., Sairanen, I., Kowalczyk, M., Pospíšil, T., and Ljung, K. (2012). Tissue-specific profiling of the *Arabidopsis thaliana* auxin metabolome: *Auxin metabolite profiling in Arabidopsis*. *Plant J.* 72, 523–536. doi: 10.1111/j.1365-313X.2012.05085.x.

- Oberkofler, V., Pratz, L., and Bäurle, I. (2021). Epigenetic regulation of abiotic stress memory: maintaining the good things while they last. *Curr. Opin. Plant Biol.* 61, 102007. doi: 10.1016/j.pbi.2021.102007.
- Ogawa, M., Hanada, A., Yamauchi, Y., Kuwahara, A., Kamiya, Y., and Yamaguchi, S. (2003). Gibberellin Biosynthesis and Response during Arabidopsis Seed Germination[W]. *Plant Cell* 15, 1591–1604. doi: 10.1105/tpc.011650.
- Omar, M. N., Taha, A. T., Samak, A. A., Keshek, M. H., Gomaa, E. M., and Elsis, S. F. (2021). Simulation and validation model of cooling greenhouse by solar energy (PV) integrated with painting its cover and its effect on the cucumber production. *Renew. Energy* 172, 1154–1173.
- Onohata, T., and Gomi, K. (2020). Overexpression of jasmonate-responsive OsbHLH034 in rice results in the induction of bacterial blight resistance via an increase in lignin biosynthesis. *Plant Cell Rep.* 39, 1175–1184. doi: 10.1007/s00299-020-02555-7.
- Ouzounis, T., Heuvelink, E., Ji, Y., Schouten, H. J., Visser, R. G. F., and Marcelis, L. F. M. (2016). Blue and red LED lighting effects on plant biomass, stomatal conductance, and metabolite content in nine tomato genotypes. *Acta Hortic.*, 251–258. doi: 10.17660/ActaHortic.2016.1134.34.
- Ouzounis, T., Razi Parjikolaei, B., FrettÃ©, X., Rosenqvist, E., and Ottosen, C.-O. (2015). Predawn and high intensity application of supplemental blue light decreases the quantum yield of PSII and enhances the amount of phenolic acids, flavonoids, and pigments in *Lactuca sativa*. *Front. Plant Sci.* 6. doi: 10.3389/fpls.2015.00019.
- Overvoorde, P. J., Okushima, Y., Alonso, J. M., Chan, A., Chang, C., Ecker, J. R., et al. (2005). Functional Genomic Analysis of the *AUXIN/INDOLE-3-ACETIC ACID* Gene Family Members in *Arabidopsis thaliana* [W]. *Plant Cell* 17, 3282–3300. doi: 10.1105/tpc.105.036723.
- Pal, S. (2019). Role of plant growth regulators in floriculture: An overview. *J. Pharmacogn. Phytochem.* 8, 789–796.
- Pandey, G. K., Grant, J. J., Cheong, Y. H., Kim, B. G., Li, L., and Luan, S. (2005). ABR1, an APETALA2-Domain Transcription Factor That Functions as a Repressor of ABA Response in Arabidopsis. *Plant Physiol.* 139, 1185–1193. doi: 10.1104/pp.105.066324.
- Park, Y. G., and Jeong, B. R. (2018). “The Quality and Quality Shifting of the Night Interruption Light Affect the Morphogenesis and Flowering in Floricultural Plants,” in *Smart Plant Factory*, ed. T. Kozai (Singapore: Springer Singapore), 223–238. doi: 10.1007/978-981-13-1065-2\_15.
- Park, Y. G., and Jeong, B. R. (2020). Both the Quality and Positioning of the Night Interruption Light are Important for Flowering and Plant Extension Growth. *J. Plant Growth Regul.* 39, 583–593. doi: 10.1007/s00344-019-10002-5.
- Park, Y. J., Kim, Y. J., and Kim, K. S. (2013). Vegetative growth and flowering of *Dianthus*, *Zinnia*, and *Pelargonium* as affected by night interruption at different timings. *Hortic. Environ. Biotechnol.* 54, 236–242. doi: 10.1007/s13580-013-0012-3.

- Park, Y., and Runkle, E. S. (2019). Blue radiation attenuates the effects of the red to far-red ratio on extension growth but not on flowering. *Environ. Exp. Bot.* 168, 103871. doi: 10.1016/j.envexpbot.2019.103871.
- Paskhin, M. O., Yanykin, D. V., and Gudkov, S. V. (2022). Current Approaches to Light Conversion for Controlled Environment Agricultural Applications: A Review. *Horticulturae* 8, 885. doi: <https://doi.org/10.3390/horticulturae8100885>.
- Passardi, F., Penel, C., and Dunand, C. (2004). Performing the paradoxical: how plant peroxidases modify the cell wall. *Trends Plant Sci.* 9, 534–540. doi: 10.1016/j.tplants.2004.09.002.
- Paul-Victor, C., and Rowe, N. (2011). Effect of mechanical perturbation on the biomechanics, primary growth and secondary tissue development of inflorescence stems of *Arabidopsis thaliana*. *Ann. Bot.* 107, 209–218. doi: 10.1093/aob/mcq227.
- Pedmale, U. V., Celaya, R. B., and Liscum, E. (2010). Phototropism: Mechanism and Outcomes. *Arab. Book* 8, e0125. doi: 10.1199/tab.0125.
- Peng, J., Dong, X., Xue, C., Liu, Z., and Cao, F. (2021). Exploring the Molecular Mechanism of Blue Flower Color Formation in *Hydrangea macrophylla* cv. “Forever Summer.” *Front. Plant Sci.* 12, 585665. doi: 10.3389/fpls.2021.585665.
- Peng, J., Richards, D. E., Hartley, N. M., Murphy, G. P., Devos, K. M., Flintham, J. E., et al. (1999). ‘Green revolution’ genes encode mutant gibberellin response modulators. *Nature* 400, 256–261. doi: 10.1038/22307.
- Per, T. S., Fatma, M., Asgher, Mohd., Javied, S., and Khan, N. A. (2017). “Salicylic Acid and Nutrients Interplay in Abiotic Stress Tolerance,” in *Salicylic Acid: A Multifaceted Hormone*, eds. R. Nazar, N. Iqbal, and N. A. Khan (Singapore: Springer Singapore), 221–237. doi: 10.1007/978-981-10-6068-7\_11.
- Petrášek, J., and Friml, J. (2009). Auxin transport routes in plant development. *Development* 136, 2675–2688. doi: 10.1242/dev.030353.
- Pierik, R., and de Wit, M. (2014). Shade avoidance: phytochrome signalling and other aboveground neighbour detection cues. *J. Exp. Bot.* 65, 2815–2824. doi: 10.1093/jxb/ert389.
- Pierik, R., de Wit, M., and Voesenek, L. A. C. J. (2011). Growth-mediated stress escape: convergence of signal transduction pathways activated upon exposure to two different environmental stresses. *New Phytol.* 189, 122–134. doi: 10.1111/j.1469-8137.2010.03458.x.
- Pinto, A. C. R., Rodrigues, T. de J. D., Leite, I. C., and Barbosa, J. C. (2005). Growth retardants on development and ornamental quality of potted “Lilliput” *Zinnia elegans* Jacq. *Sci. Agric.* 62, 337–345. doi: 10.1590/S0103-90162005000400006.
- Planas-Riverola, A., Gupta, A., Betegón-Putze, I., Bosch, N., Ibañes, M., and Caño-Delgado, A. I. (2019). Brassinosteroid signaling in plant development and adaptation to stress. *Development* 146, dev151894. doi: 10.1242/dev.151894.

- Polko, J. K., van Zanten, M., van Rooij, J. A., Marée, A. F. M., Voesenek, L. A. C. J., Peeters, A. J. M., et al. (2012). Ethylene-induced differential petiole growth in *Arabidopsis thaliana* involves local microtubule reorientation and cell expansion. *New Phytol.* 193, 339–348. doi: 10.1111/j.1469-8137.2011.03920.x.
- Pomiès, L., Decourteix, M., Franchel, J., Moulia, B., and Leblanc-Fournier, N. (2017). Poplar stem transcriptome is massively remodelled in response to single or repeated mechanical stimuli. *BMC Genomics* 18, 300. doi: 10.1186/s12864-017-3670-1.
- Poppenberger, B., Rozhon, W., Khan, M., Husar, S., Adam, G., Luschnig, C., et al. (2011). CESTA, a positive regulator of brassinosteroid biosynthesis: CES regulates brassinosteroid biosynthesis. *EMBO J.* 30, 1149–1161. doi: 10.1038/emboj.2011.35.
- Pramod, S., Rao, K. S., and Sundberg, A. (2013). Structural, histochemical and chemical characterization of normal, tension and opposite wood of Subabul (*Leucaena leucocephala* (lam.) De wit.). *Wood Sci. Technol.* 47, 777–796. doi: 10.1007/s00226-013-0528-9.
- Prasad, T. K., and Cline, M. G. (1985). Mechanical perturbation-induced ethylene releases apical dominance in *Pharbitis nil* by restricting shoot growth. *Plant Sci.* 41, 217–222. doi: 10.1016/0168-9452(85)90092-5.
- Qi, F., and Zhang, F. (2020). Cell Cycle Regulation in the Plant Response to Stress. *Front. Plant Sci.* 10, 1765. doi: 10.3389/fpls.2019.01765.
- Qiao, Y., Lu, W., Wang, R., Nisa, Z., Yu, Y., Jin, X., et al. (2020). Identification and Expression Analysis of Strigolactone Biosynthetic and Signaling Genes in Response to Salt and Alkaline Stresses in Soybean (*Glycine max*). *DNA Cell Biol.* 39, 1850–1861. doi: 10.1089/dna.2020.5637.
- Rademacher, W. (2000). Growth Retardants: Effects on Gibberellin Biosynthesis and Other Metabolic Pathways. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 51, 501–531. doi: 10.1146/annurev.arplant.51.1.501.
- Rademacher, W. (2015). Plant Growth Regulators: Backgrounds and Uses in Plant Production. *J. Plant Growth Regul.* 34, 845–872. doi: 10.1007/s00344-015-9541-6.
- Rademacher, W. (2017). “Chemical Regulators of Gibberellin Status and Their Application in Plant Production,” in *Annual Plant Reviews online*, ed. J. A. Roberts (Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd), 359–403. doi: 10.1002/9781119312994.apr0541.
- Radman-Livaja, M., and Rando, O. J. (2010). Nucleosome positioning: How is it established, and why does it matter? *Dev. Biol.* 339, 258–266. doi: 10.1016/j.ydbio.2009.06.012.
- Rajala, A., Peltonen-Sainio, P., Onnela, M., and Jackson, M. (2002). Effects of applying stem-shortening plant growth regulators to leaves on root elongation by seedlings of wheat, oat and barley: mediation by ethylene. *Plant Growth Regul.* 38, 51–59.
- Rameau, C., Bertheloot, J., Leduc, N., Andrieu, B., Foucher, F., and Sakr, S. (2015). Multiple pathways regulate shoot branching. *Front. Plant Sci.* 5. doi: 10.3389/fpls.2014.00741.

- Rameau, C., Goormachtig, S., Cardinale, F., Bennett, T., and Cubas, P. (2019). “Strigolactones as Plant Hormones,” in *Strigolactones - Biology and Applications*, eds. H. Koltai and C. Prandi (Cham: Springer International Publishing), 47–87. doi: 10.1007/978-3-030-12153-2\_2.
- Rathod, K. D., Ahlawat, T. R., Kumar, S., Sarkar, M., and Chakraborty, B. (2020). Effect of Plant Growth Regulators on Growth, Yield and Quality of Strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) Cv. Winter Dawn under Open Field Conditions of South Gujarat. *Agric. Sci. Dig. - Res. J.* doi: 10.18805/ag.D-5240.
- Rehman, S., and Park, I.-H. (2000). Effect of scarification, GA and chilling on the germination of goldenrain-tree (*Koeleruteria paniculata* Laxm.) seeds. *Sci. Hortic.* 85, 319–324. doi: 10.1016/S0304-4238(00)00126-6.
- Ren, H., Willige, B. C., Jaillais, Y., Geng, S., Park, M. Y., Gray, W. M., et al. (2019). BRASSINOSTEROID-SIGNALING KINASE 3, a plasma membrane-associated scaffold protein involved in early brassinosteroid signaling. *PLoS Genet.* 15, e1007904. doi: 10.1371/journal.pgen.1007904.
- Rezazadeh, A., and Harkess, R. L. (2015). Effects of Pinching, Number of Cuttings per Pot, and Plant Growth Regulators on Height Control of Purple Firespike. *HortTechnology* 25, 71–75. doi: 10.21273/HORTTECH.25.1.71.
- Roberts, J. A., and Hooley, R. (1988). *Plant Growth Regulators*. Boston, MA: Springer US doi: 10.1007/978-1-4615-7592-4.
- Rodriguez, L., Gonzalez-Guzman, M., Diaz, M., Rodrigues, A., Izquierdo-Garcia, A. C., Peirats-Llobet, M., et al. (2014). C2-Domain Abscisic Acid-Related Proteins Mediate the Interaction of PYR/PYL/RCAR Abscisic Acid Receptors with the Plasma Membrane and Regulate Abscisic Acid Sensitivity in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 26, 4802–4820. doi: 10.1105/tpc.114.129973.
- Roeder, S., Dreschler, K., Wirtz, M., Cristescu, S. M., van Harren, F. J. M., Hell, R., et al. (2009). SAM levels, gene expression of SAM synthetase, methionine synthase and ACC oxidase, and ethylene emission from *N. suaveolens* flowers. *Plant Mol. Biol.* 70, 535–546. doi: 10.1007/s11103-009-9490-1.
- Roignant, J., Badel, É., Leblanc-Fournier, N., Brunel-Michac, N., Ruelle, J., Moulia, B., et al. (2018). Feeling stretched or compressed? The multiple mechanosensitive responses of wood formation to bending. *Ann. Bot.* 121, 1151–1161. doi: 10.1093/aob/mcx211.
- Roman, H., Girault, T., Barbier, F., Péron, T., Brouard, N., Pěnčík, A., et al. (2016). Cytokinins Are Initial Targets of Light in the Control of Bud Outgrowth. *Plant Physiol.* 172, 489–509. doi: 10.1104/pp.16.00530.
- Rose, J. K. C., Braam, J., Fry, S. C., and Nishitani, K. (2002). The XTH Family of Enzymes Involved in Xyloglucan Endotransglucosylation and Endohydrolysis: Current Perspectives and a New Unifying Nomenclature. *Plant Cell Physiol.* 43, 1421–1435. doi: 10.1093/pcp/pcf171.

- Ross, J. J., O'Neill, D. P., and Rathbone, D. A. (2003). Auxin-Gibberellin Interactions in Pea: Integrating the Old with the New. *J. Plant Growth Regul.* 22, 99–108. doi: 10.1007/s00344-003-0021-z.
- Ross, J. J., O'Neill, D. P., Smith, J. J., Kerckhoffs, L. H. J., and Elliott, R. C. (2000). Evidence that auxin promotes gibberellin A<sub>1</sub> biosynthesis in pea: Auxin promotes gibberellin biosynthesis in pea. *Plant J.* 21, 547–552. doi: 10.1046/j.1365-313x.2000.00702.x.
- Ruan, J., Zhou, Y., Zhou, M., Yan, J., Khurshid, M., Weng, W., et al. (2019). Jasmonic Acid Signaling Pathway in Plants. *Int. J. Mol. Sci.* 20, 2479. doi: 10.3390/ijms20102479.
- Runkle, E. S., and Heins, R. D. (2001). Specific Functions of Red, Far Red, and Blue Light in Flowering and Stem Extension of Long-day Plants. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 126, 275–282. doi: 10.21273/JASHS.126.3.275.
- Saberi, M., Nezhad, F., and Etemadi, N. (2015). Interactive Effects of Vermicompost and Salicylic Acid on Chlorophyll and Carotenoid Contents of Petunia Hybrid Under Drought Stress. *J. Earth Environ. Health Sci.* 1, 52. doi: 10.4103/2423-7752.170580.
- Sablowski, R., and Gutierrez, C. (2022). Cycling in a crowd: Coordination of plant cell division, growth, and cell fate. *Plant Cell* 34, 193–208. doi: 10.1093/plcell/koab222.
- Saibo, N. J. M., Vriezen, W. H., Beemster, G. T. S., and Van Der Straeten, D. (2003). Growth and stomata development of *Arabidopsis* hypocotyls are controlled by gibberellins and modulated by ethylene and auxins: *Hormonal control of Arabidopsis hypocotyl growth*. *Plant J.* 33, 989–1000. doi: 10.1046/j.1365-313X.2003.01684.x.
- Saidi, I., Ammar, S., Demont-Caulet, N., Thévenin, J., Lapierre, C., Bouzid, S., et al. (2009). Thigmomorphogenesis in *Solanum lycopersicum*: Morphological and biochemical responses in stem after mechanical stimulation. *Plant Sci.* 177, 1–6. doi: 10.1016/j.plantsci.2009.03.002.
- Saidi, I., Djebali, W., Naija, S., Bouzid, S., and Ammar, S. (2011). Change in antioxidant and lignifying enzyme activities in rubbing tomato (*Solanum lycopersicum*) internodes. *Afr. J. Biotechnol.* 10, 1684–5315. doi: 10.5897/AJB10.689.
- Sajjad, Y. (2017). Application of plant growth regulators in ornamental plants: a review. *Pak. J. Agric. Sci.* 54, 327–333. doi: 10.21162/PAKJAS/17.3659.
- Sakakibara, H. (2006). CYTOKININS: Activity, Biosynthesis, and Translocation. *Annu. Rev. Plant Biol.* 57, 431–449. doi: 10.1146/annurev.arplant.57.032905.105231.
- Sakurai, A. (1999). Brassinosteroid biosynthesis. *Plant Physiol. Biochem.* 37, 351–361. doi: 10.1016/S0981-9428(99)80041-2.
- Santner, A., Calderon-Villalobos, L. I. A., and Estelle, M. (2009). Plant hormones are versatile chemical regulators of plant growth. *Nat. Chem. Biol.* 5, 301–307. doi: 10.1038/nchembio.165.



- Santoro, M. V., Nievas, F., Zygadlo, J., Giordano, W., and Banchio, E. (2013). Effects of Growth Regulators on Biomass and the Production of Secondary Metabolites in Peppermint (*Mentha piperita*) Micropropagated in Vitro. *Am. J. Plant Sci.* 04, 49–55. doi: 10.4236/ajps.2013.45A008.
- Sasidharan, R., Chinnappa, C. C., Voeselek, L. A. C. J., and Pierik, R. (2008). The Regulation of Cell Wall Extensibility during Shade Avoidance: A Study Using Two Contrasting Ecotypes of *Stellaria longipes*. *Plant Physiol.* 148, 1557–1569. doi: 10.1104/pp.108.125518.
- Sasse, J. M. (2003). Physiological Actions of Brassinosteroids: An Update. *J. Plant Growth Regul.* 22, 276–288. doi: 10.1007/s00344-003-0062-3.
- Sato, A., and Yamamoto, K. T. (2008). Overexpression of the non-canonical Aux/IAA genes causes auxin-related aberrant phenotypes in Arabidopsis. *Physiol. Plant.* 133, 397–405. doi: 10.1111/j.1399-3054.2008.01055.x.
- Schaller, G. E., and Kieber, J. J. (2002). Ethylene. *Arab. Book* 1, e0071. doi: 10.1199/tab.0071.
- Schaller, G. E., Street, I. H., and Kieber, J. J. (2014). Cytokinin and the cell cycle. *Curr. Opin. Plant Biol.* 21, 7–15. doi: 10.1016/j.pbi.2014.05.015.
- Serra, O., Mähönen, A. P., Hetherington, A. J., and Ragni, L. (2022). The Making of Plant Armor: The Periderm. *Annu. Rev. Plant Biol.* 73, 405–432. doi: 10.1146/annurev-arplant-102720-031405.
- Shani, E., Yanai, O., and Ori, N. (2006). The role of hormones in shoot apical meristem function. *Curr. Opin. Plant Biol.* 9, 484–489. doi: 10.1016/j.pbi.2006.07.008.
- Shekoofa, A., and Emam, Y. (2008a). Effects of Nitrogen Fertilization and Plant Growth Regulators (PGRs) on Yield of Wheat (*Triticum aestivum* L.) cv. Shiraz. *J. Agric. Sci. Technol.* 10, 101–108.
- Shekoofa, A., and Emam, Y. (2008b). Plant growth regulator (ethephon) alters maize (*Zea mays* L.) growth, water use and grain yield under water stress. *J. Agron.* 7, 41–48.
- Shi, L., Gast, R. T., Gopalraj, M., and Olszewski, N. E. (1992). Characterization of a shoot-specific, GA3- and ABA-Regulated gene from tomato. *Plant J.* 2, 153–159. doi: 10.1111/j.1365-313X.1992.00153.x.
- Shimotohno, A., Aki, S. S., Takahashi, N., and Umeda, M. (2021). Regulation of the Plant Cell Cycle in Response to Hormones and the Environment. *Annu. Rev. Plant Biol.* 72, 273–296. doi: 10.1146/annurev-arplant-080720-103739.
- Si, T., Wang, X., Huang, M., Cai, J., Zhou, Q., Dai, T., et al. (2019). Double benefits of mechanical wounding in enhancing chilling tolerance and lodging resistance in wheat plants. *Plant Biol.* 21, 813–824. doi: 10.1111/plb.12995.
- Šimura, J., Antoniadi, I., Široká, J., Tarkowská, D., Strnad, M., Ljung, K., et al. (2018). Plant Hormonomics: Multiple Phytohormone Profiling by Targeted Metabolomics. *Plant Physiol.* 177, 476–489. doi: 10.1104/pp.18.00293.

- Smith, V. C., and Ennos, A. R. (2003). The effects of air flow and stem flexure on the mechanical and hydraulic properties of the stems of sunflowers *Helianthus annuus* L. *J. Exp. Bot.* 54, 845–849. doi: 10.1093/jxb/erg068.
- Smith, B. J., Stafne, E. T., Sakhanokho, H. F., and Sampson, B. J. (2023). Intensity of Supplemental Greenhouse Lighting Affects Strawberry Plant Growth, Anthracnose Infection Response, and Colletotrichum Pathogen Development in Culture. *horts* 58, 127–133. doi: 10.21273/HORTSCI16888-22.
- Sohn, S.-I., Pandian, S., Rakkammal, K., Largia, M. J. V., Thamilarasan, S. K., Balaji, S., et al. (2022). Jasmonates in plant growth and development and elicitation of secondary metabolites: An updated overview. *Front. Plant Sci.* 13, 942789. doi: 10.3389/fpls.2022.942789.
- Song, J., Irwin, J., and Dean, C. (2013). Remembering the Prolonged Cold of Winter. *Curr. Biol.* 23, R807–R811. doi: 10.1016/j.cub.2013.07.027.
- Sorensen, M. T., and Danielsen, V. (2006). Effects of the plant growth regulator, chlormequat, on mammalian fertility. *Int. J. Androl.* 29, 129–133. doi: 10.1111/j.1365-2605.2005.00629.x.
- Sparke, M., and Wünsche, J. (2020). “Mechanosensing of Plants,” in *Horticultural Reviews*, ed. I. Warrington (Wiley), 43–83. doi: 10.1002/9781119625407.ch2.
- Sparke, M.-A., Müller, J., Ruttensperger, U., Heesch, F., and Wünsche, J.-N. (2022). Growth regulation by air stream-based mechanical stimulation in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) – Part I: optimization of application frequency and intensity. *Sci. Hortic.* 304, 111252. doi: 10.1016/j.scienta.2022.111252.
- Sponsel, V. M., and Hedden, P. (2010). “Gibberellin Biosynthesis and Inactivation,” in *Plant hormones: biosynthesis, signal transduction, action!*, 63–94.
- Srivastava, D., Verma, G., Chawda, K., Chauhan, A. S., Pande, V., and Chakrabarty, D. (2022). Overexpression of Asr6, abscisic acid stress-ripening protein, enhances drought tolerance and modulates gene expression in rice (*Oryza sativa* L.). *Environ. Exp. Bot.* 202, 105005. doi: 10.1016/j.envexpbot.2022.105005.
- Stamm, P., and Kumar, P. P. (2013). Auxin and gibberellin responsive Arabidopsis SMALL AUXIN UP RNA36 regulates hypocotyl elongation in the light. *Plant Cell Rep.* 32, 759–769. doi: 10.1007/s00299-013-1406-5.
- Stapel, J. O., Maugin, E., Trihan, S., and Ferre, A. (2011). Light Filter Use In Ornamental Plant Production To Control Plant Growth And To Improve Plant Quality. *Acta Hortic.*, 205–211. doi: 10.17660/ActaHortic.2011.907.30.
- Stelmach, B. A., Müller, A., Hennig, P., Laudert, D., Andert, L., and Weiler, E. W. (1998). Quantitation of the octadecanoid 12-oxo-phytodienoic acid, a signalling compound in plant mechanotransduction. *Phytochemistry* 47, 539–546. doi: 10.1016/S0031-9422(97)00547-5.

- Su, T., Han, M., Cao, D., and Xu, M. (2020). Molecular and Biological Properties of Snakins: The Foremost Cysteine-Rich Plant Host Defense Peptides. *J. Fungi* 6, 220. doi: 10.3390/jof6040220.
- Suge, H. (1978). Growth and gibberellin production in *Phaseolus vulgaris* as affected by mechanical stress. *Plant Cell Physiol.* 19, 1557–1560.
- Sultana, R. S., Ishiguri, F., Yokota, S., Iizuka, K., Hiraiwa, T., and Yoshizawa, N. (2010). Wood Anatomy of nine Japanese Hardwood species forming reaction wood without gelatinous fibers. *IAWA J.* 31, 191–202. doi: 10.1163/22941932-90000016.
- Sun, J., Hirose, N., Wang, X., Wen, P., Xue, L., Sakakibara, H., et al. (2005). Arabidopsis SOI33/AtENT8 Gene Encodes a Putative Equilibrative Nucleoside Transporter That Is Involved in Cytokinin Transport In Planta. *J. Integr. Plant Biol.* 47, 588–603. doi: 10.1111/j.1744-7909.2005.00104.x.
- Sun, T. (2008). Gibberellin Metabolism, Perception and Signaling Pathways in Arabidopsis. *Arab. Book* 6, e0103. doi: 10.1199/tab.0103.
- Sun, Y., Fan, X.-Y., Cao, D.-M., Tang, W., He, K., Zhu, J.-Y., et al. (2010). Integration of Brassinosteroid Signal Transduction with the Transcription Network for Plant Growth Regulation in Arabidopsis. *Dev. Cell* 19, 765–777. doi: 10.1016/j.devcel.2010.10.010.
- Sun, Z.-Y., Zhang, T.-J., Su, J.-Q., Soon Chow, W., Liu, J.-Q., Chen, L.-L., et al. (2015). A novel role of ethephon in controlling the noxious weed *Ipomoea cairica* (Linn.) Sweet. *Sci. Rep.* 5, 11372. doi: 10.1038/srep11372.
- Takahashi, H., and Suge, H. (1980). Sex expression in cucumber plants as affected by mechanical stress. *Plant Cell Physiol.* 21, 303–310. doi: 10.1093/oxfordjournals.pcp.a076003.
- Takehara, S., and Ueguchi-Tanaka, M. (2018). “Gibberellin,” in *Plant Structural Biology: Hormonal Regulations*, eds. J. Hejátko and T. Hakoshima (Cham: Springer International Publishing), 83–95. doi: 10.1007/978-3-319-91352-0\_6.
- Tamasi, E., Stokes, A., Lasserre, B., Danjon, F., Berthier, S., Fourcaud, T., et al. (2005). Influence of wind loading on root system development and architecture in oak (*Quercus robur* L.) seedlings. *Trees* 19, 374–384. doi: 10.1007/s00468-004-0396-x.
- Tanaka, M., Takei, K., Kojima, M., Sakakibara, H., and Mori, H. (2006). Auxin controls local cytokinin biosynthesis in the nodal stem in apical dominance. *Plant J.* 45, 1028–1036. doi: 10.1111/j.1365-313X.2006.02656.x.
- Tarkowski, P., Václavíková, K., Novák, O., Pertry, I., Hanuš, J., Whenham, R., et al. (2010). Analysis of 2-methylthio-derivatives of isoprenoid cytokinins by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 680, 86–91. doi: 10.1016/j.aca.2010.09.020.
- Teale, W. D., Paponov, I. A., and Palme, K. (2006). Auxin in action: signalling, transport and the control of plant growth and development. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 7, 847–859. doi: 10.1038/nrm2020.

- Teichmann, T., and Muhr, M. (2015a). Shaping plant architecture. *Front. Plant Sci.* 6. doi: 10.3389/fpls.2015.00233.
- Teichmann, T., and Muhr, M. (2015b). Shaping plant architecture. *Front. Plant Sci.* 6. doi: 10.3389/fpls.2015.00233.
- Telewski, F. W. (1989). Structure and function of flexure wood in *Abies fraseri*. *Tree Physiol.* 5, 113–121. doi: 10.1093/treephys/5.1.113.
- Telewski, F. W. (1990). Growth, wood density, and ethylene production in response to mechanical perturbation in *Pinus taeda*. *Can. J. For. Res.* 20, 1277–1282. doi: 10.1139/x90-170.
- Telewski, F. W. (2016). “Flexure Wood: Mechanical Stress Induced Secondary Xylem Formation,” in *Secondary Xylem Biology* (Elsevier), 73–91. doi: 10.1016/B978-0-12-802185-9.00005-X.
- Telewski, F. W. (2021). Mechanosensing and Plant Growth Regulators Elicited During the Thigmomorphogenetic Response. *Front. For. Glob. Change* 3, 574096. doi: 10.3389/ffgc.2020.574096.
- Telewski, F. W., and Jaffe, M. J. (1986). Thigmomorphogenesis: Anatomical, morphological and mechanical analysis of genetically different sibs of *Pinus taeda* in response to mechanical perturbation. *Physiol. Plant.* 66, 219–226. doi: 10.1111/j.1399-3054.1986.tb02412.x.
- Telewski, F. W., and Pruyn, M. L. (1998). Thigmomorphogenesis: a dose response to flexing in *Ulmus americana* seedlings. *Tree Physiol.* 18, 65–68. doi: 10.1093/treephys/18.1.65.
- Tian, H., Lv, B., Ding, T., Bai, M., and Ding, Z. (2018). Auxin-BR Interaction Regulates Plant Growth and Development. *Front. Plant Sci.* 8, 2256. doi: 10.3389/fpls.2017.02256.
- Tian, J., Ma, Y., Chen, Y., Chen, X., and Wei, A. (2022). Plant Hormone Response to Low-Temperature Stress in Cold-Tolerant and Cold-Sensitive Varieties of *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. *Front. Plant Sci.* 13, 847202. doi: 10.3389/fpls.2022.847202.
- Tian, Y., Chen, Z., Jiang, Z., Huang, X., Zhang, L., Zhang, Z., et al. (2021). Effects of Plant Growth Regulators on Flower Abscission and Growth of Tea Plant *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze. *J. Plant Growth Regul.* doi: 10.1007/s00344-021-10365-8.
- Tong, X., Qi, J., Zhu, X., Mao, B., Zeng, L., Wang, B., et al. (2012). The rice hydroperoxide lyase OsHPL3 functions in defense responses by modulating the oxylipin pathway: Hydroperoxide lyase functions in rice defense. *Plant J.* 71, 763–775. doi: 10.1111/j.1365-313X.2012.05027.x.
- Torres-Pio, K., De la Cruz-Guzmán, G. H., Arévalo-Galarza, Ma. de L., Aguilar-Rodríguez, S., Grego-Valencia, D., Arriaga-Frías, A., et al. (2021). Morphological and anatomical changes in *Lilium* cv. Arcachon in response to plant growth regulators. *Hortic. Environ. Biotechnol.* 62, 325–335. doi: 10.1007/s13580-020-00319-6.

- Tyagi, A. C. (2016). Towards a Second Green Revolution. *Irrig. Drain.* 65, 388–389. doi: 10.1002/ird.2076.
- Ueguchi-Tanaka, M., Nakajima, M., Motoyuki, A., and Matsuoka, M. (2007). Gibberellin Receptor and Its Role in Gibberellin Signaling in Plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 58, 183–198. doi: 10.1146/annurev.arplant.58.032806.103830.
- Ulian, T., Diazgranados, M., Pironon, S., Padulosi, S., Liu, U., Davies, L., et al. (2020). Unlocking plant resources to support food security and promote sustainable agriculture. *PLANTS PEOPLE PLANET* 2, 421–445. doi: 10.1002/ppp3.10145.
- Ullah, F., Bano, A., and Nosheen, A. (2012). Effects of plant growth regulators on growth and oil quality of canola (*Brassica napus* L.) under drought stress. *Pak. J. Bot.* 44, 1873–1880.
- Umehara, M., Hanada, A., Yoshida, S., Akiyama, K., Arite, T., Takeda-Kamiya, N., et al. (2008). Inhibition of shoot branching by new terpenoid plant hormones. *Nature* 455, 195–200. doi: 10.1038/nature07272.
- Van Aken, O., De Clercq, I., Ivanova, A., Law, S. R., Van Breusegem, F., Millar, A. H., et al. (2016). Mitochondrial and Chloroplast Stress Responses Are Modulated in Distinct Touch and Chemical Inhibition Phases. *Plant Physiol.* 171, 2150–2165. doi: 10.1104/pp.16.00273.
- van Eeuwijk, F. A., Bustos-Korts, D., Millet, E. J., Boer, M. P., Kruijer, W., Thompson, A., et al. (2019). Modelling strategies for assessing and increasing the effectiveness of new phenotyping techniques in plant breeding. *Plant Sci.* 282, 23–39. doi: 10.1016/j.plantsci.2018.06.018.
- Van Moerkercke, A., Duncan, O., Zander, M., Šimura, J., Broda, M., Vanden Bossche, R., et al. (2019). A MYC2/MYC3/MYC4-dependent transcription factor network regulates water spray-responsive gene expression and jasmonate levels. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 116, 23345–23356. doi: 10.1073/pnas.1911758116.
- Van Mourik, H., Van Dijk, A. D. J., Stortenbeker, N., Angenent, G. C., and Bemer, M. (2017). Divergent regulation of Arabidopsis SAUR genes: a focus on the SAUR10-clade. *BMC Plant Biol.* 17, 245. doi: 10.1186/s12870-017-1210-4.
- Vandepoele, K., Raes, J., De Veylder, L., Rouzé, P., Rombauts, S., and Inzé, D. (2002). Genome-Wide Analysis of Core Cell Cycle Genes in Arabidopsis. *Plant Cell* 14, 903–916. doi: 10.1105/tpc.010445.
- Veit, B. (2009). Hormone mediated regulation of the shoot apical meristem. *Plant Mol. Biol.* 69, 397–408. doi: 10.1007/s11103-008-9396-3.
- Vera-Sirera, F., Gomez, M. D., and Perez-Amador, M. A. (2016). “DELLA Proteins, a Group of GRAS Transcription Regulators that Mediate Gibberellin Signaling,” in *Plant Transcription Factors* (Elsevier), 313–328. doi: 10.1016/B978-0-12-800854-6.00020-8.

- Vernieri, P., Mugnai, S., and Tognoni, F. (2003). Growth control by mechanical conditioning in *Salvia splendens* Sellow ex Schult. *Acta Hortic.*, 307–312. doi: 10.17660/ActaHortic.2003.614.46.
- Vernoux, T., Besnard, F., and Traas, J. (2010). Auxin at the Shoot Apical Meristem. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2, a001487–a001487. doi: 10.1101/cshperspect.a001487.
- Vilanova, S., Alonso, D., Gramazio, P., Plazas, M., García-Forte, E., Ferrante, P., et al. (2020). SILEX: a fast and inexpensive high-quality DNA extraction method suitable for multiple sequencing platforms and recalcitrant plant species. *Plant Methods* 16, 110. doi: 10.1186/s13007-020-00652-y.
- Visentin, I., Vitali, M., Ferrero, M., Zhang, Y., Ruyter-Spira, C., Novák, O., et al. (2016). Low levels of strigolactones in roots as a component of the systemic signal of drought stress in tomato. *New Phytol.* 212, 954–963. doi: 10.1111/nph.14190.
- Wang, B., Smith, S. M., and Li, J. (2018). Genetic Regulation of Shoot Architecture. *Annu. Rev. Plant Biol.* 69, 437–468. doi: 10.1146/annurev-arplant-042817-040422.
- Wang, K. L.-C., Li, H., and Ecker, J. R. (2002). Ethylene Biosynthesis and Signaling Networks. *Plant Cell* 14, S131–S151. doi: 10.1105/tpc.001768.
- Wang, M., Le Moigne, M.-A., Bertheloot, J., Crespel, L., Perez-Garcia, M.-D., Ogé, L., et al. (2019). BRANCHED1: A Key Hub of Shoot Branching. *Front. Plant Sci.* 10, 76. doi: 10.3389/fpls.2019.00076.
- Wang, Y., Zhao, J., Lu, W., and Deng, D. (2017). Gibberellin in plant height control: old player, new story. *Plant Cell Rep.* 36, 391–398. doi: 10.1007/s00299-017-2104-5.
- Wang, Z.-Y., Bai, M.-Y., Oh, E., and Zhu, J.-Y. (2012). Brassinosteroid Signaling Network and Regulation of Photomorphogenesis. *Annu. Rev. Genet.* 46, 701–724. doi: 10.1146/annurev-genet-102209-163450.
- Wasternack, C., and Hause, B. (2013). Jasmonates: biosynthesis, perception, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. An update to the 2007 review in *Annals of Botany*. *Ann. Bot.* 111, 1021–1058. doi: 10.1093/aob/mct067.
- Wasternack, C., and Strnad, M. (2016). Jasmonate signaling in plant stress responses and development – active and inactive compounds. *New Biotechnol.* 33, 604–613. doi: 10.1016/j.nbt.2015.11.001.
- Waters, M. T., Gutjahr, C., Bennett, T., and Nelson, D. C. (2017). Strigolactone Signaling and Evolution. *Annu. Rev. Plant Biol.* 68, 291–322. doi: 10.1146/annurev-arplant-042916-040925.
- Watt, M. S., Moore, J. R., and McKinlay, B. (2005). The influence of wind on branch characteristics of *Pinus radiata*. *Trees* 19, 58–65. doi: 10.1007/s00468-004-0363-6.

- Werner, T., Köllmer, I., Bartrina, I., Holst, K., and Schmölling, T. (2006). New Insights into the Biology of Cytokinin Degradation. *Plant Biol.* 8, 371–381. doi: 10.1055/s-2006-923928.
- Wezel, A., Goette, J., Lagneaux, E., Passuello, G., Reisman, E., Rodier, C., et al. (2018a). Agroecology in Europe: Research, Education, Collective Action Networks, and Alternative Food Systems. *Sustainability* 10, 1214. doi: 10.3390/su10041214.
- Wezel, A., Goris, M., Bruil, J., Félix, G., Peeters, A., Bàrberi, P., et al. (2018b). Challenges and Action Points to Amplify Agroecology in Europe. *Sustainability* 10, 1598. doi: 10.3390/su10051598.
- Whippo, C. W., and Hangarter, R. P. (2006). Phototropism: Bending towards Enlightenment. *Plant Cell* 18, 1110–1119. doi: 10.1105/tpc.105.039669.
- Wild, M., Davière, J.-M., Cheminant, S., Regnault, T., Baumberger, N., Heintz, D., et al. (2012). The *Arabidopsis* DELLA RGA - LIKE3 Is a Direct Target of MYC2 and Modulates Jasmonate Signaling Responses. *Plant Cell* 24, 3307–3319. doi: 10.1105/tpc.112.101428.
- Witomska, M., Jaszczuk, A., and Ilczuk, A. (2010). Branching stimulation in *Hosta* sp. 31, 35–41.
- Wróblewska, K., and Debicz, R. (2013). Influence of time of benzyladenine application on rooting of cuttings and subsequent development of *Portulaca umbraticola* Kunth. *Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus* 12.
- Wu, F., Gao, Y., Yang, W., Sui, N., and Zhu, J. (2022). Biological Functions of Strigolactones and Their Crosstalk With Other Phytohormones. *Front. Plant Sci.* 13, 821563. doi: 10.3389/fpls.2022.821563.
- Wu, L., Joshi, C. P., and Chiang, V. L. (2000). A xylem-specific cellulose synthase gene from aspen (*Populus tremuloides*) is responsive to mechanical stress. *Plant J.* 22, 495–502. doi: 10.1046/j.1365-3113x.2000.00758.x.
- Wu, Q., Li, Y., Lyu, M., Luo, Y., Shi, H., and Zhong, S. (2020). Touch-induced seedling morphological changes are determined by ethylene-regulated pectin degradation. *Sci. Adv.* 6, eabc9294. doi: 10.1126/sciadv.abc9294.
- Xiao, R., Zhang, C., Guo, X., Li, H., and Lu, H. (2021). MYB Transcription Factors and Its Regulation in Secondary Cell Wall Formation and Lignin Biosynthesis during Xylem Development. *Int. J. Mol. Sci.* 22, 3560. doi: 10.3390/ijms22073560.
- Xiong, L., and Zhu, J.-K. (2003). Regulation of Abscisic Acid Biosynthesis. *Plant Physiol.* 133, 29–36. doi: 10.1104/pp.103.025395.
- Xu, W., Purugganan, M. M., Polisensky, D. H., Antosiewicz, D. M., and Braam, J. (1995). *Arabidopsis* TCH4, Regulated by Hormones and the Environment, Encodes a Xyloglucan Endotransglycosylase. *Plant Cell* 7, 1555–1567. doi: 10.1105/tpc.7.10.1555.

- Xu, Y., Berkowitz, O., Narsai, R., De Clercq, I., Hooi, M., Bulone, V., et al. (2019). Mitochondrial function modulates touch signalling in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* 97, 623–645. doi: 10.1111/tpj.14183.
- Xue, Z., Liu, L., and Zhang, C. (2020). Regulation of Shoot Apical Meristem and Axillary Meristem Development in Plants. *Int. J. Mol. Sci.* 21, 2917. doi: 10.3390/ijms21082917.
- Yamada, A., Tanigawa, T., Suyama, T., Matsuno, T., and Kunitake, T. (2009). Red:far-red light ratio and far-red light integral promote or retard growth and flowering in *Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn. *Sci. Hortic.* 120, 101–106. doi: 10.1016/j.scienta.2008.09.009.
- Yamaguchi, S. (2008). Gibberellin Metabolism and its Regulation. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59, 225–251. doi: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092804.
- Yamamuro, C., Zhu, J.-K., and Yang, Z. (2016). Epigenetic Modifications and Plant Hormone Action. *Mol. Plant* 9, 57–70. doi: 10.1016/j.molp.2015.10.008.
- Yang, C., and Li, L. (2017). Hormonal Regulation in Shade Avoidance. *Front. Plant Sci.* 8, 1527. doi: 10.3389/fpls.2017.01527.
- Yang, J., Duan, G., Li, C., Liu, L., Han, G., Zhang, Y., et al. (2019). The Crosstalks Between Jasmonic Acid and Other Plant Hormone Signaling Highlight the Involvement of Jasmonic Acid as a Core Component in Plant Response to Biotic and Abiotic Stresses. *Front. Plant Sci.* 10, 1349. doi: 10.3389/fpls.2019.01349.
- Yang, Q., Gao, Y., Wu, X., Moriguchi, T., Bai, S., and Teng, Y. (2021). Bud endodormancy in deciduous fruit trees: advances and prospects. *Hortic. Res.* 8, 139. doi: 10.1038/s41438-021-00575-2.
- Yang, T., Lian, Y., Kang, J., Bian, Z., Xuan, L., Gao, Z., et al. (2020). The SUPPRESSOR of MAX2 1 (SMAX1)-Like SMXL6, SMXL7 and SMXL8 Act as Negative Regulators in Response to Drought Stress in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol.* 61, 1477–1492. doi: 10.1093/pcp/pcaa066.
- Yin, Y., Wang, Z.-Y., Mora-Garcia, S., Li, J., Yoshida, S., Asami, T., et al. (2002). BES1 Accumulates in the Nucleus in Response to Brassinosteroids to Regulate Gene Expression and Promote Stem Elongation. *Cell* 109, 181–191. doi: 10.1016/S0092-8674(02)00721-3.
- Yoneyama, K., Akiyama, K., Brewer, P. B., Mori, N., Kawano-Kawada, M., Haruta, S., et al. (2020). Hydroxyl carlactone derivatives are predominant strigolactones in *Arabidopsis*. *Plant Direct* 4, e00219. doi: 10.1002/pld3.219.
- Yoon, J., Choi, H., and An, G. (2015). Roles of lignin biosynthesis and regulatory genes in plant development. *J. Integr. Plant Biol.* 57, 902–912. doi: 10.1111/jipb.12422.
- Żabicki, P., Kuta, E., Tuleja, M., Rataj, K., and Przemysław, M. (2013). *Arabidopsis* Cyclin-Dependent Kinase Gene CDKG;2 is Involved in Organogenic Responses Induced in Vitro. *Acta Biol. Cracoviensia Ser. Bot.* 55. doi: 10.2478/abcsb-2013-0003.



- Zhang, S., and Wang, X. (2008). Expression pattern of GASA, downstream genes of DELLA, in Arabidopsis. *Sci. Bull.* 53, 3839–3846. doi: 10.1007/s11434-008-0525-9.
- Zhang, W., and Jiang, J. (2015). “Genome-Wide Mapping of DNase I Hypersensitive Sites in Plants,” in *Plant Functional Genomics Methods in Molecular Biology.*, eds. J. M. Alonso and A. N. Stepanova (New York, NY: Springer New York), 71–89. doi: 10.1007/978-1-4939-2444-8\_4.
- Zhang, W., Yu, C., Zhang, K., Zhou, Y., Tan, W., Zhang, L., et al. (2017). Plant growth regulator and its interactions with environment and genotype affect maize optimal plant density and yield. *Eur. J. Agron.* 91, 34–43. doi: 10.1016/j.eja.2017.09.008.
- Zhang, Y., Wang, Y., Ye, D., Xing, J., Duan, L., Li, Z., et al. (2020). Ethephon-regulated maize internode elongation associated with modulating auxin and gibberellin signal to alter cell wall biosynthesis and modification. *Plant Sci.* 290, 110196. doi: 10.1016/j.plantsci.2019.110196.
- Zhao, Y., Zhang, Z., Gao, J., Wang, P., Hu, T., Wang, Z., et al. (2018). Arabidopsis Duodecuple Mutant of PYL ABA Receptors Reveals PYL Repression of ABA-Independent SnRK2 Activity. *Cell Rep.* 23, 3340-3351.e5. doi: 10.1016/j.celrep.2018.05.044.
- Zhdanov, O., Blatt, M. R., Zare-Behtash, H., and Busse, A. (2021). Wind-evoked anemotropism affects the morphology and mechanical properties of Arabidopsis. *J. Exp. Bot.* 72, 1906–1918. doi: 10.1093/jxb/eraa541.
- Zheng, T., Dai, L., Li, S., Liu, Y., Zhao, Z., Yang, C., et al. (2023). *Populus* D-type cyclin gene *PsnCYCD1;1* accelerates cell division and participates in secondary growth of vascular bundles. *J. Exp. Bot.* 74, 4077–4092. doi: 10.1093/jxb/erad140.
- Zheng, X., Li, Y., Xi, X., Ma, C., Sun, Z., Yang, X., et al. (2021). Exogenous Strigolactones alleviate KCl stress by regulating photosynthesis, ROS migration and ion transport in *Malus hupehensis* Rehd. *Plant Physiol. Biochem.* 159, 113–122. doi: 10.1016/j.plaphy.2020.12.015.
- Zheng, X., Spivey, N. W., Zeng, W., Liu, P.-P., Fu, Z. Q., Klessig, D. F., et al. (2012). Coronatine Promotes *Pseudomonas syringae* Virulence in Plants by Activating a Signaling Cascade that Inhibits Salicylic Acid Accumulation. *Cell Host Microbe* 11, 587–596. doi: 10.1016/j.chom.2012.04.014.
- Zhong, R., Cui, D., and Ye, Z. (2019). Secondary cell wall biosynthesis. *New Phytol.* 221, 1703–1723. doi: 10.1111/nph.15537.
- Zhou, J.-J., and Luo, J. (2018). The PIN-FORMED Auxin Efflux Carriers in Plants. *Int. J. Mol. Sci.* 19, 2759. doi: 10.3390/ijms19092759.
- Zhu, J.-Y., Sae-Seaw, J., and Wang, Z.-Y. (2013a). Brassinosteroid signalling. *Development* 140, 1615–1620. doi: 10.1242/dev.060590.
- Zhu, X. F., Wang, Z. W., Dong, F., Lei, G. J., Shi, Y. Z., Li, G. X., et al. (2013b). Exogenous auxin alleviates cadmium toxicity in Arabidopsis thaliana by stimulating synthesis

- of hemicellulose 1 and increasing the cadmium fixation capacity of root cell walls. *J. Hazard. Mater.* 263, 398–403. doi: 10.1016/j.jhazmat.2013.09.018.
- Zhu, Y., Wang, K., Wu, C., Zhao, Y., Yin, X., Zhang, B., et al. (2019). Effect of Ethylene on Cell Wall and Lipid Metabolism during Alleviation of Postharvest Chilling Injury in Peach. *Cells* 8, 1612. doi: 10.3390/cells8121612.
- Zürcher, E., Liu, J., di Donato, M., Geisler, M., and Müller, B. (2016). Plant development regulated by cytokinin sinks. *Science* 353, 1027–1030. doi: 10.1126/science.aaf7254.









**Titre :** Analyse des réponses et de la mémoire de l'Hortensia (*Hydrangea macrophylla* L.) à des spectres lumineux et des stimulations mécaniques, potentiels traitements alternatifs aux retardateurs de croissance chimiques.

**Mots clés :** compacité, photomorphogenèse, thigmomorphogenèse, méthodes alternatives, régulateurs de croissance, nanifiants, plante d'ornement

**Résumé :** La production de plantes ornementales ayant un port compact et ramifié, esthétique et robuste, nécessite traditionnellement l'utilisation de retardateurs de croissance chimiques. Cependant, en raison des conséquences sur la santé humaine et l'environnement, les législations française et européenne interdisent progressivement leur utilisation et encouragent la recherche de méthodes alternatives plus respectueuses de l'environnement. Au cours de cette thèse, et pour la première fois, nous avons étudié l'impact de spectres lumineux et de stimulations mécaniques sur la compacité de jeunes plants d'hortensia (*Hydrangea macrophylla* L.) par des analyses morphologique, histologique, transcriptomique et métabolomique. Nos recherches ont montré que ces deux traitements produisaient des effets nanifiants proches de ceux des retardateurs de croissance chimiques. De plus, en augmentant la

croissance radiale des tiges, les traitements mécaniques renforcent ces dernières. En promouvant le débourrement des bourgeons axillaires à la base de la plante, ils améliorent le port buissonnant des plantes. Les réponses moléculaires suggèrent l'existence de mécanismes de réponses communs aux deux traitements qui agissent en particulier sur des gènes de contrôle de la paroi cellulaire et sur les régulations hormonales. L'analyse de l'état de compaction de la chromatine suggère aussi l'enclenchement de régulations épigénétiques par la stimulation mécanique. Enfin, l'étude de la mémoire des plants d'hortensia à des stimulations mécaniques répétées journalièrement et pendant 5 semaines montrent l'absence de désensibilisation des plantes. En somme, notre étude propose des traitements alternatifs efficaces et à faible impact environnemental pour cultiver des hortensias de qualité.

**Title :** Analysis of responses and memory of *Hydrangea* (*Hydrangea macrophylla* L.) to light spectra and mechanical stimulation, potential alternative treatments to chemical growth retardants.

**Keywords :** compactness, photomorphogenesis, thigmomorphogenesis, alternative methods, growth regulators, dwarfing agents, ornamental plant

**Abstract :** The production of ornamental plants with a compact and branched habit, aesthetic and robust, traditionally requires the use of chemical growth retardants. However, due to the consequences on human health and the environment, French and European legislation is gradually prohibiting their use and encouraging the search for alternatives, more environmentally friendly methods. During this thesis, and for the first time, we studied the impact of light spectra and mechanical stimulation on the compactness of young hydrangea plants (*Hydrangea macrophylla* L.) through morphological, histological, transcriptomic and metabolomic analyzes. Our research showed that these two treatments produced dwarfing effects similar to those of chemical growth retardants. In addition, by increasing the radial growth

of the stems, mechanical treatments strengthen them. By promoting the bursting of axillary buds at the base of the plant, they improve the bushy appearance of plants. The molecular responses suggest the existence of response mechanisms common to the two treatments which act in particular on cell wall control genes and on hormonal regulations. Analysis of the state of chromatin compaction also suggests the initiation of epigenetic regulations by mechanical stimulation. Finally, the study of the memory of hydrangea plants to mechanical stimulations repeated daily and for 5 weeks shows the absence of desensitization of the plants. In summary, our study offers effective alternative treatments with low environmental impact for growing quality hydrangeas.