Master "Biologie Végétale" co-accrédité :
Université d'Angers, Nantes Université et
l'Institut Agro Rennes-Angers

IRHS
U.F.R. 1345
Centre INRAE de Beaucouzé (49070)

RAPPORT de STAGE EFFECTUÉ

par

Valentin GOUPILLE

Au Laboratoire de l'IRHS
U.F.R. 1345
Centre INRAE de Beaucouzé

en vue de l'obtention du

Master Biologie Végétale
Parcours : Santé des Plantes

Responsables de stage :
Florent Pantin, Maître de Conférences, L'Institut Agro
Romain Larbat, Chargé de Recherches, INRAE
Bao-huynh Nguyen, Doctorant, INRAE

Sujet :
PHENOTYPAGE DU POMMIER POUR L'ANALYSE DU COMPROMIS
« CROISSANCE-DÉFENSE »

Soutenance devant le jury d'examen le 11/06/2024

Master "Biologie Végétale" co-accrédité :
Université d'Angers, Nantes Université et
l'Institut Agro Rennes-Angers

IRHS
U.F.R. 1345
Centre INRAE de Beaucouzé (49070)

RAPPORT de STAGE EFFECTUÉ

par

Valentin GOUPILLE

Au Laboratoire de l'IRHS
U.F.R. 1345
Centre INRAE de Beaucouzé

en vue de l'obtention du

Master Biologie Végétale
Parcours : Santé des Plantes

Responsables de stage :
Florent Pantin, Maître de Conférences, L'Institut Agro
Romain Larbat, Chargé de Recherches, INRAE
Bao-huynh Nguyen, Doctorant, INRAE

Sujet :
PHENOTYPAGE DU POMMIER POUR L'ANALYSE DU COMPROMIS
« CROISSANCE-DÉFENSE »

Soutenance devant le jury d'examen le 11/06/2024

ENGAGEMENT DE NON PLAGIAT

Je, soussigné(e) **Valentin GOUPILLE**
déclare être pleinement conscient(e) que le plagiat de documents ou d'une partie d'un document publiée sur toutes formes de support, y compris l'internet, constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée.
En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour écrire ce rapport ou mémoire.

le **03 / 06 / 2024**

FACULTÉ DES SCIENCES
UNIVERSITÉ D'ANGERS

L'auteur du présent document vous autorise à le partager, reproduire, distribuer et communiquer selon les conditions suivantes :

- Vous devez le citer en l'attribuant de la manière indiquée par l'auteur (mais pas d'une manière qui suggérerait qu'il approuve votre utilisation de l'œuvre).
- Vous n'avez pas le droit d'utiliser ce document à des fins commerciales.
- Vous n'avez pas le droit de le modifier, de le transformer ou de l'adapter.

Consulter la licence creative commons complète en français :
http://creativecommons.org/licences/by-nc-nd/2.0/fr/

Ces conditions d'utilisation (attribution, pas d'utilisation commerciale, pas de modification) sont symbolisées par les icônes positionnées en pied de page.

REMERCIEMENTS

Je remercie mes encadrants de stage, Romain Larbat, Florent Pantin, et Bao-huynh Nguyen, ainsi que ma tutrice Claire Campion pour leur accompagnement tout au long de mon stage.

Je remercie particulièrement Florent Pantin pour son aide précieuse dans la rédaction de ce rapport, et Bao-huynh Nguyen pour son aide dans les lectures de croissances et de symptômes.

Je tiens également à exprimer ma gratitude envers les membres de la plateforme Phenotic, notamment Joséphine Kocuiba, Tristan Bourreau et Étienne Belin, pour leur aide précieuse dans l'utilisation du robot PhenoBean 2.

Enfin, je remercie chaleureusement GIS Fruits pour le financement de ce stage.

Table des matières

PHENOTYPAGE DU POMMIER POUR L'ANALYSE DU COMPROMIS « CROISSANCE-DEFENSE » 1

INTRODUCTION 1
1°) Définitions et mécanismes de la croissance et de la défense des plantes 2
2°) Le concept du compromis « Croissance–Défense » 4
3°) Les phytohormones, des acteurs clefs du compromis « croissance–défense » 6
4°) La lumière comme modulateur du compromis « croissance–défense » 7
5°) Problématique et objectifs du stage 1
MATERIEL ET METHODES 8
1°) Matériel biologique et culture des plantes 8
2°) Échelle de notation des symptômes 8
3°) Utilisation d'un robot de phénotypage pour examiner l'effet du ratio R : FR ou du Bion sur le compromis « croissance-défense » 9
4°) Criblage de phytohormones pour l'étude du compromis croissance-défense 10
5°) Analyse des données 11
RESULTATS 12
1°) Utilisation d'un robot de phénotypage pour examiner l'effet du ratio R : FR ou du Bion sur le compromis « croissance-défense » 12
Analyse des symptômes du feu bactérien 12
Analyse de la croissance 13
Analyse comparée de la vitesse de croissance et de la sévérité des symptômes 14
2°) Criblage de phytohormones pour l'étude du compromis croissance-défense 15
Analyse des symptômes du feu bactérien 16
Analyse de la croissance 17
Analyse comparée de la vitesse de croissance et de la sévérité des symptômes 17
DISCUSSION 18
1°) Vers un phénotypage du compromis croissance-défense dans l'automate PhenoBean 18
2°) La biologie du compromis croissance-défense 19
CONCLUSION ET PERSPECTIVES 22

Table des figures

Figure 1 Cycle de développement et d'infection du feu bactérien sur pommier causé par la bactérie phytopathogène *Erwinia amylovora* 1
Figure 2 : Différentes facettes de la croissance des plantes et comment elles sont couplées 2
Figure 3 : Vue générale du « système immunitaire » des plantes 2
Figure 5 : Mécanismes généraux du concept de compromis croissance-défense 3
Figure 4 : Voie schématique pour la SAR induit par l'ASM (acibenzolar-S-méthyl). 3
Figure 6 : Interactions entre différentes hormones végétales affectant la croissance et la défense des plantes 4
Figure 7 : La qualité et la quantité de lumière régulent le compromis « croissance-défense » par l'intermédiaire de PhyB 6
Figure 8 : Échelle de notation pour la mesure de l'incidence et la sévérité du feu bactérien sur semis de pommier 8
Figure 9 : Utilisation du robot Phenobean 2 pour la caractérisation du compromis croissance-défense 9
Figure 10 : Protocole expérimental dans le robot Phenobean 2 permettant d'évaluer l'effet potentiel du Bion ou de l'augmentation du ratio R : FR pour modifier le compromis croissance-défense de semis de pommiers (Golden Delicious) inoculés avec *Erwinia amylovora* 10
Figure 11 : Protocole expérimental réalisé en serre pour évaluer le potentiel de phytohormones à modifier le compromis croissance-défense de semis de pommiers (Golden Delicious) inoculés avec *Erwinia amylovora* 11
Figure 12 : Effet du Bion ou d'un appauvrissement en rouge lointain sur la résistance de semis de pommier Golden delicious inoculés avec *Erwinia amylovora* 12
Figure 13 : Effet du Bion ou d'un ratio R/FR élevé sur la croissance en hauteur de semis de pommier Golden delicious inoculés ou non avec *Erwinia amylovora* 13
Figure 14 : Corrélation entre la vitesse de croissance des plantules de pommiers et la longueur de nécrose à J7 pour les trois traitements : lot témoin, lot avec un ratio R/FR élevé, lot traité au Bion 14
Figure 15 : Effet de l'application de différents analogues hormonaux sur la résistance de semis de pommier Golden delicious inoculés avec *Erwinia amylovora.* 16
Figure 16 : Effet de différents analogues hormonaux sur la croissance de semis de pommier Golden Delicious inoculés ou non avec *Erwinia amylovora* 17
Figure 17 : Distributions et corrélation de la longueur de nécrose 7 jours après l'inoculation avec *Erwinia amylovora* et la croissance de longueur de tige entre J-4 et J3 des différents lots de semis de pommier traités avec des analogues hormonaux à J4 et J-1 18

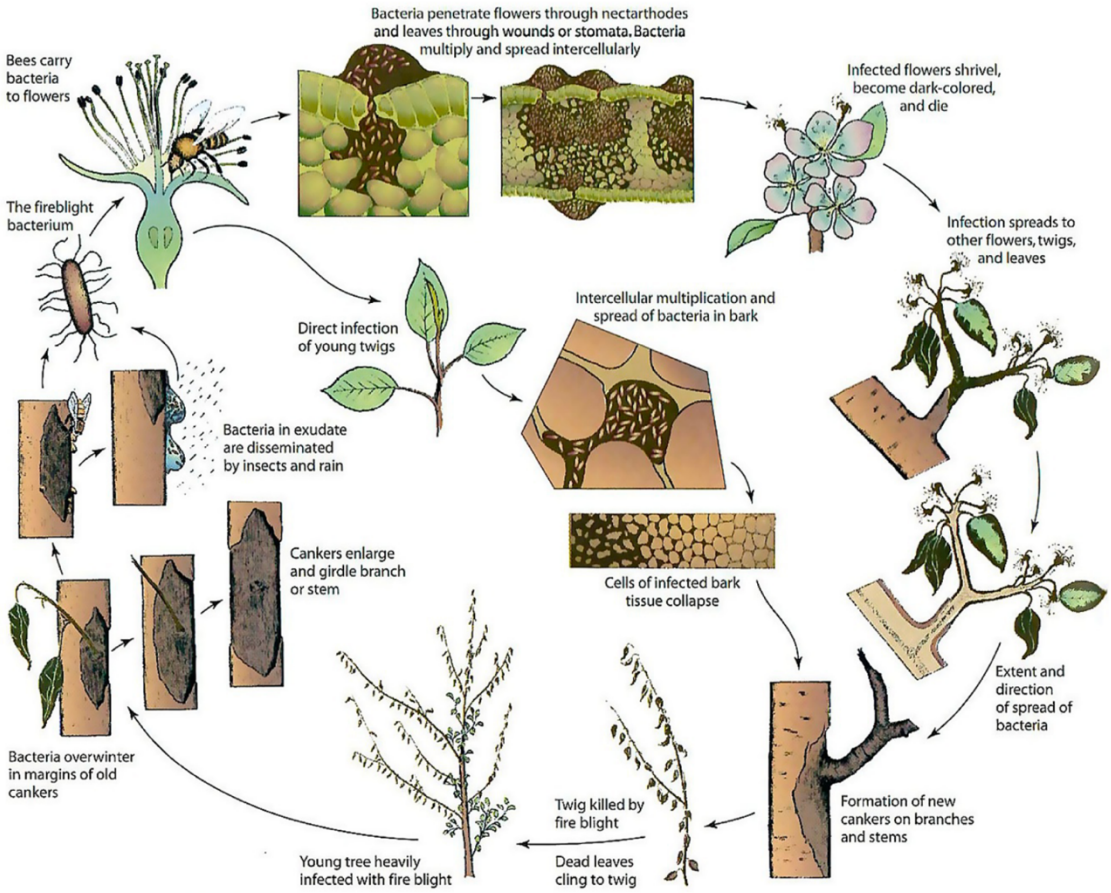


Figure 1 Cycle de développement et d'infection du feu bactérien sur pommier causé par la bactérie phytopathogène *Erwinia amylovora*

Erwinia amylovora hivernent dans les branches brûlées et au bord des chancres dans les zones de l'écorce tuées par les bactéries. Au printemps, lorsque la température augmente, les bactéries se multiplient rapidement. Les symptômes de la brûlure bactérienne sont relativement similaires sur différentes plantes hôtes et peuvent apparaître sur les fleurs, les fruits, les pousses, les branches et les racines. Les fleurs et les extrémités des pousses infectées deviennent brunes à noires et les pousses peuvent subir un flétrissement rapide et former une « crosse de berger ». Les feuilles des pousses malades présentent souvent une première nécrose sur la nervure médiane et les nervures avant de devenir complètement nécrotiques. Après l'infection des fleurs et des pousses, la bactérie peut coloniser les grosses branches, la tige et les racines, sur lesquelles des chancres peuvent se former, caractérisés par des zones légèrement enfoncées et irrégulières sur l'écorce. À l'intérieur, les tissus de la zone chancre présentent une décoloration rouge ou brune, qui se diffuse dans les tissus sains. Dans des conditions chaudes et humides, un suintement bactérien mucoïde blanchâtre et collant peut s'exsuder en gouttelettes des pousses, des chancres, des fruits et des fleurs infectés. *E. amylovora* est considéré comme infectant les plantes hôtes par des ouvertures naturelles (telles que des stomates, des hydathodes, des traces de feuilles) et des blessures ou des tissus autrement endommagés, l'humidité sous forme d'eau libre à la surface du tissu hôte étant nécessaire pour l'infection. À partir du point d'infection, il peut se propager dans l'espace intercellulaire du parenchyme cortical, tuant rapidement les éperons et les branches, le temps chaud facilitant la propagation interne. Si elle pénètre dans les vaisseaux du xylème, *E. amylovora* peut migrer rapidement bien au-delà du point d'entrée initial et à partir du xylème envahir à nouveau le parenchyme cortical pour induire les symptômes de la brûlure bactérienne. La propagation est favorisé par les insectes pollinisateurs (La Porta *et al.*, 2023).

Phénotypage du pommier pour l'analyse du compromis « croissance-défense »

Introduction

Les pommes constituent le troisième fruit le plus consommé dans le monde. En 2020, la France, avec une production de plus de 1,8 million de tonnes, était le troisième plus grand producteur européen (RNM, 2021). Le pommier (*Malus domestica*) est la culture ayant le plus fort IFT (indicateur de fréquence de traitement phytosanitaire) en France, avec des niveaux supérieurs à 30 (Zavagli *et al.*, 2018). Par ailleurs le changement climatique vient modifier les interactions entre le pommier et ses pathogènes (Velásquez *et al.*, 2018; Savary *et al.*, 2019; Pedroncelli and Puopolo, 2023). Dans un contexte de stress multiples, il y a donc urgence à trouver des leviers alternatifs à l'usage des pesticides pour pérenniser la filière. Parmi ces leviers, les stimulateurs de défenses des plantes (SDP) peuvent être appliqués sur les cultures pour renforcer leur immunité (Zhu *et al.*, 2024). Sur pommier, l'équipe ResPom a identifié plusieurs SDP efficaces, en conditions contrôlées, contre trois bioagresseurs majeurs : *Venturia inaequalis* (tavelure), *Dysaphis plantaginea* (puceron cendré) et *Erwinia amylovora* (feu bactérien) (Brisset *et al.*, 2000; Dugé de Bernonville *et al.*, 2014; Marolleau *et al.*, 2017; Warneys *et al.*, 2018). Le principal modèle de SDP utilisé dans l'équipe est le Bion® dont la matière active, l'acibenzolar-S-méthyl (ASM), est un analogue fonctionnel de l'acide salicylique – l'hormone majeure de l'immunité végétale (Peng *et al.*, 2021; Spoel and Dong, 2024). Chez le pommier, le Bion® est à ce jour l'inducteur de défenses le plus efficace, avec une importante reprogrammation transcriptomique (Warneys *et al.*, 2018). Toutefois, les données préliminaires de l'équipe montrent que le Bion® perd en efficacité de protection dans différentes conditions environnementales, alors même qu'il induit bien les marqueurs de défense suivis (Chavonet, 2022; Nguyen, 2023). Ces résultats suggèrent que la capacité du pommier à résister à ses bioagresseurs ne dépend pas que de son état immunitaire mais aussi de son état physiologique, sans que ce dernier soit clairement défini.

Dans ce stage, nous avons appréhendé l'état physiologique sous le prisme de la croissance, en nous appuyant sur la théorie du « compromis croissance–défense » selon laquelle la plante doit arbitrer l'allocation de ses ressources entre les processus de croissance et ceux de défense (Herms and Mattson, 1992; Huot *et al.*, 2014). Nous commençons ce rapport par une synthèse bibliographique sur le compromis croissance–défense et ses bases moléculaires. Nous explorons ensuite cette idée sur un pathosystème modèle dans l'équipe : des plantules de pommier confrontées à la bactérie *Erwinia amylovora* (La Porta *et al.*, 2023; Pedroncelli and Puopolo, 2023) dont voici le cycle de développement et mode d'infection (figure 1) (La Porta *et al.*, 2023).

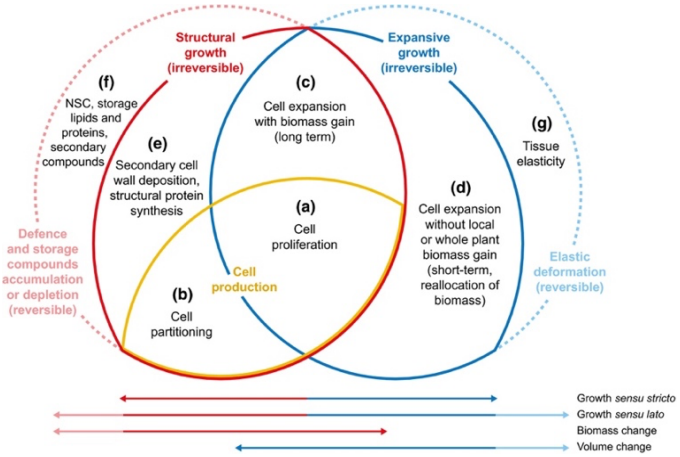


Figure 2 : Différentes facettes de la croissance des plantes et comment elles sont couplées

La croissance *sensu lato* (aire totale du diagramme de Venn) est la variation de la biomasse, ou du volume. La croissance *sensu stricto* (aire contenue dans les lignes pleines dans le diagramme de Venn) est une augmentation irréversible du nombre de cellules, de la biomasse structurelle (croissance structurelle) ou du volume de la plante (croissance expansive). La production cellulaire fait partie de la croissance structurelle, car elle nécessite la synthèse de l'ADN et de la paroi cellulaire. (a) La prolifération cellulaire est le processus d'augmentation du nombre de cellules tout en maintenant ou en augmentant la taille moyenne des cellules, ce qui augmente par conséquent le volume des tissus. (b) Une augmentation du nombre de cellules sans augmentation de la taille des cellules est appelée partitionnement cellulaire. (c, d) L'expansion cellulaire est l'augmentation irréversible de la taille des cellules sous l'effet combiné de la pression de turgescence et du relâchement de la paroi. À court terme (d), cela peut être dissocié de la synthèse de la paroi cellulaire et donc en dehors de la définition de la croissance structurelle. À des échelles temporelles plus longues (c), l'expansion nécessite la synthèse de la paroi cellulaire et le dépôt de cellulose, ce qui en fait une partie de la croissance structurelle. (e) La croissance de la paroi cellulaire secondaire, la synthèse des protéines et des lipides, etc., font partie de la croissance structurelle sans changements notables de volume. Deux autres catégories ne sont qu'une partie de la croissance *sensu lato* : (f) l'accumulation et l'épuisement des composants de défense ou de stockage (glucides non structurels, NSC ; métabolites secondaires tels que les tanins, les terpènes, etc.) qui peuvent tous deux entrer en concurrence avec la croissance structurelle, et (g) la déformation élastique (par exemple, les changements diurnes de volume dus à des changements de pression de turgescence) (Hilty *et al.*, 2021).

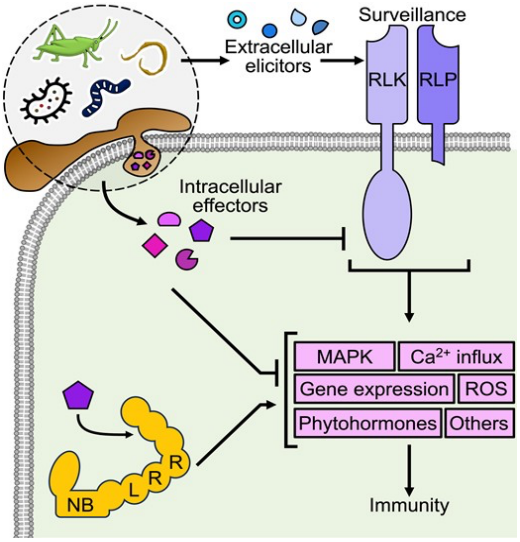


Figure 3 : Vue générale du « système immunitaire » des plantes

Les plantes utilisent des récepteurs de l'immunité extracellulaire localisés dans la membrane plasmique (RLK/RLP) qui peuvent détecter des éliciteurs extracellulaires tels que des motifs moléculaires conservés associés à l'infection ou à des effecteurs apoplasiques et déclencher des réponses de défense en aval. Les agents pathogènes envahissants peuvent délivrer des molécules effectrices protéiques dans la plante pour supprimer la signalisation de défense. Les récepteurs de l'immunité intracellulaire, principalement des protéines de répétition riche en leucine (NLR) se liant aux nucléotides, peuvent reconnaître des effecteurs spécifiques et activer la défense. Les réponses immunitaires RLK/RLP et NLR convergent vers des événements similaires en aval, notamment la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), l'expression des gènes de défense, l'afflux de Ca2+, l'activation de la protéine kinase activée par les mitogènes (MAPK) et la production d'hormones de défense. Les réponses NLR sont généralement plus fortes et sont plus souvent associées à la mort cellulaire que les réponses RLK/RLP (Dodds *et al.*, 2024).

.

1°) Définitions et mécanismes de la croissance et de la défense des plantes

Les plantes sont souvent confrontées à divers stress abiotiques et biotiques qui induisent des changements physiologiques, biochimiques et moléculaires, qui se traduisent finalement par une croissance et une productivité plus faible (Boyer, 1982). Cette notion de croissance est complexe et peut être appréhendée sous différents angles (Hilty *et al.*, 2021). La croissance *sensu stricto* peut être définie comme toute augmentation irréversible en nombre de cellules, en biomasse structurelle ou en volume de la plante (figure 2). Ces augmentations sont notamment régies par des flux d'eau (à l'origine de la pression de turgescence, moteur de la croissance) et de carbone (source de matériaux cellulaires, d'osmoticums et de signaux régulateurs) qui ne sont pas toujours coordonnés (Hilty *et al.*, 2021).

Dans la nature, les plantes évoluent dans des environnements divers où elles rencontrent constamment des agents pathogènes et d'insectes herbivores aux modes de vie et stratégies d'infection variés. Pour se protéger contre ces bioagresseurs, elles ont développé des défenses directes et indirectes, pouvant être constitutives ou induites (Zhou *et al.*, 2022; Jian *et al.*, 2024). Les réponses immunitaires spécifiques peuvent être divisées en trois étapes essentielles (figure 3) (Dodds *et al.*, 2024) : la reconnaissance microbienne par les récepteurs immunitaires, la transduction du signal dans les cellules végétales et l'exécution immunitaire supprimant directement les agents pathogènes (Zhang *et al.*, 2020). Les plantes préforment des barrières structurelles et moléculaires et répondent à l'infection en reconnaissant les molécules pathogènes ou les blessures induites via des récepteurs membranaires, les PRR, mais également des récepteurs intracellulaires, les NLR (Ngou *et al.*, 2023; Jones *et al.*, 2024). Les PRR reconnaissent les molécules dérivées de microbes ou bioagresseurs (M/P/H)AMPs ainsi que des molécules immunogènes dérivées de l'hôte tel que les phytocytokines ou DAMPs pour activer la PTI. Les NLR reconnaissent les protéines de virulence appelées effecteurs, délivrées par les agents pathogènes dans la cellule végétale, pour activer l'immunité déclenchée par les effecteurs (ETI). Les effecteurs extracellulaires peuvent être reconnus par les PRR, brouillant la distinction stricte entre PTI et ETI (Lu and Tsuda, 2021). De plus, des études récentes ont mis en évidence l'étroite interconnexion et l'interdépendance de ces deux mécanismes, qui se renforcent mutuellement pour induire une réponse immunitaire efficace (Ngou *et al.*, 2021; Yuan *et al.*, 2021). L'activation de la PTI et de l'ETI entraîne diverses réponses immunitaires, notamment une explosion oxydative (Mittler *et al.*, 2022), un afflux de calcium (Köster *et al.*, 2022), l'activation de cascades de protéines kinases (MAPK) (Sun and Zhang, 2022), une reprogrammation transcriptionnelle (Tsuda and Somssich, 2015) et la synthèse de phytohormones (Berens *et al.*, 2017). Par ailleurs, à la suite d'une infection par un agent pathogène, les plantes

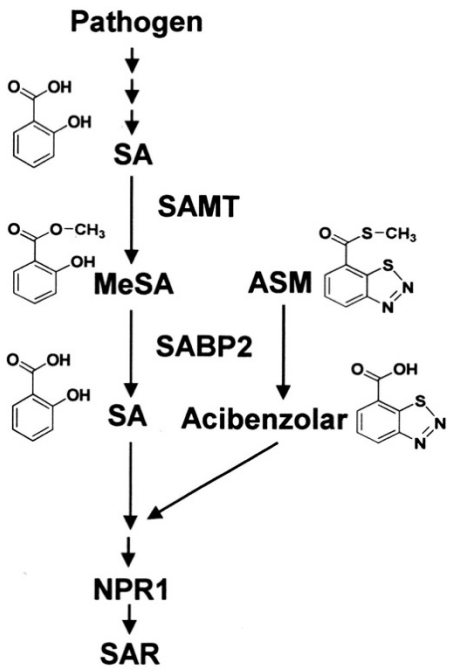


Figure 8 : Voie schématique pour la SAR induit par l'ASM (acibenzolar-S-méthyl).

SABP2 est nécessaire pour convertir l'ASM en acibenzolar, ce qui peut conduire à l'activation de NPR1 en déclenchant sa monomérisation et sa migration vers le noyau pour déclencher l'activation des gènes/protéines de défense.(Tripathi *et al.*, 2010)

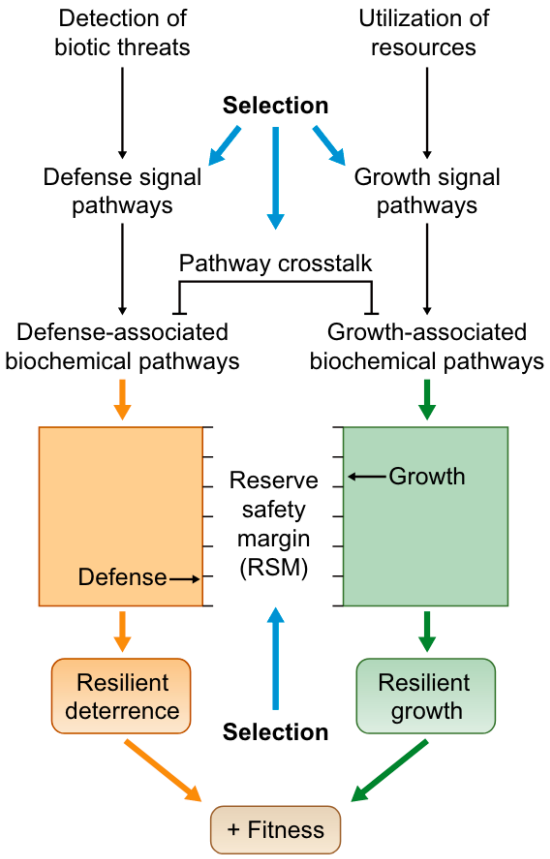


Figure 7 : Mécanismes généraux du concept de compromis croissance-défense

La sélection a favorisé une forme coordonnée d'allocation des ressources à la croissance ou à la défense, dépendant de la diaphonie des phytohormones entre les voies métaboliques et du maintien des marges de sécurité de réserve (RSM), qui confèrent toutes deux une résilience aux modèles de croissance et de défense face à la variabilité environnementale. Le crosstalk des voies de signalisation et les rétroactions associées produisent une coordination stratégique dans l'expression des flux de voies biochimiques qui produisent des corrélations négatives entre les traits et préservent les RSM pour des réponses phénotypiques résilientes qui dissuadent les attaques biotiques, maximisent la croissance et améliorent la fitness (Monson *et al.*, 2022).

peuvent développer une résistance accrue à de nouvelles attaques (Vlot *et al.*, 2021). Ceci est connu sous le nom de résistance induite qui peut être séparé en résistance systémique acquise (SAR) et résistance systémique induite (ISR) (Walters and Heil, 2007).

La SAR, généralement déclenchée par une infection locale ou bien par l'utilisation de SDP comme l'ASM, et peut conférer une résistance à long terme à une infection ultérieure (Tripathi *et al.*, 2010; Klessig *et al.*, 2018; Gupta and Bar, 2020; Hönig *et al.*, 2023; Leibman-Markus *et al.*, 2023; Zhu *et al.*, 2024) Pendant la SAR, les gènes codant pour des protéines liées à la pathogenèse (PR) sont activés. (Pieterse *et al.*, 2014). La SAR repose généralement sur l'acide salicylique (SA), dont la concentration augmente dans les tissus végétaux au cours de la pathogenèse (Yalpani *et al.*, 1991). Le récepteur du SA, NPR1, régule la signalisation SAR à la suite de la perception du SA. NPR1 est activé par le SA, puis active la transcription des gènes requis pour la SAR, y compris les gènes PR (Cao *et al.*, 1997; Heil and Bostock, 2002; Pieterse *et al.*, 2014; Chen *et al.*, 2021) (figure 4). En raison de l'amorçage, lors d'une infection secondaire, les réponses de défense se produisent plus rapidement et plus fortement que lors de l'infection primaire, permettant une réponse plus efficace à la nouvelle infection.

2°) Le concept du compromis « Croissance–Défense »

Bien que le déploiement de mécanismes de défense soit impératif pour la survie des plantes, l'activation de ces derniers se fait généralement au détriment de la croissance des plantes (Huot *et al.*, 2014; Figueroa-Macías *et al.*, 2021). Le phénomène du « compromis croissance–défense » a été observé pour la première fois dans des études forestières sur les interactions plantes-insectes (Herms and Mattson, 1992). Celui-ci repose sur l'hypothèse que les plantes possèdent un réservoir limité de ressources qui peuvent être investies soit dans la croissance, soit dans la défense. Les demandes concurrentes de la croissance et de la défense sont supposées réagir de manière à réduire l'allocation des ressources au processus ayant le moins d'impact sur la fitness des plantes (Monson *et al.*, 2022). Ce compromis est influencé par des facteurs génétiques, environnementaux, ainsi que par des contraintes physiologiques inhérentes telles que l'allocation des ressources. Les analyses à l'échelle cellulaire et moléculaire ont grandement permis d'améliorer la compréhension des régulations et de clarifier les modes par lesquels la sélection favorise les compromis (Schuman and Baldwin, 2016; Züst and Agrawal, 2017). Les interactions (*crosstalk*) entre phytohormones apparaissent comme un élément crucial dans la régulation de l'équilibre entre la croissance et la défense des plantes (figure 5).

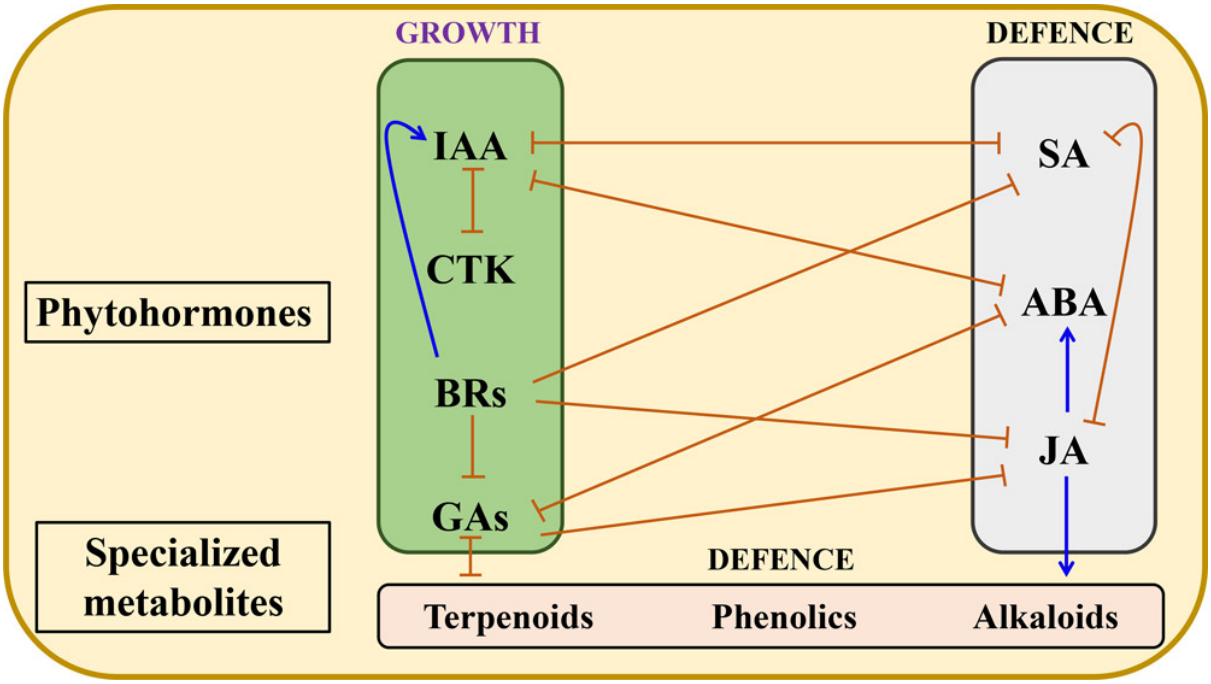


Figure 9 : Interactions entre différentes hormones végétales affectant la croissance et la défense des plantes

AIA, acide indole-3-acétique (auxine) ; CTK, cytokinine ; BR, brassinostéroïdes ; GA, gibbérellines ; SA, acide salicylique ; ABA, acide abscissique ; JA, acide jasmonique. Les flèches pointues indiquent les effets positifs d'un facteur sur un autre, tandis que les flèches émoussées indiquent les effets négatifs (Zhou *et al.*, 2022).

3°) Les phytohormones, des acteurs clefs du compromis « croissance–défense »

Les auxines (AUX), les cytokinines (CK), les gibbérellines (GA), les brassinostéroïdes (BR), les strigolactones (SL), l'éthylène (ET), l'acide salicylique (SA), l'acide jasmonique (JA) et l'acide abscissique (ABA) sont des molécules endogènes de faible poids moléculaire dont les plantes ont besoin à de faibles concentrations qui, en plus de leur fonction de signalisation de défense, sont également des régulateurs de la croissance, du développement, de la reproduction et d'une variété de processus physiologiques (Gasperini and Howe, 2024). Dans la partie qui va suivre nous allons brièvement présenter les différents rôles des phytohormones abordés dans le cadre de ce stage.

Les hormones dites « de croissance » sont AUX, les CK, les BR, les GA et les SL (Depuydt and Hardtke, 2011), (Huot *et al.*, 2014). Les auxines régulent de nombreux aspects fondamentaux de la croissance et du développement des plantes, notamment en favorisant la division cellulaire (prolifération), la croissance (expansion, élongation) et la différenciation cellulaire (Majda and Robert, 2018), (Cohen and Strader, 2024). Elles ont un impact sur l'élongation des tiges, des pétioles et l'architecture racinaire en réponse à la lumière, à la température et à la gravité (Vanneste and Friml, 2009), (Kazan, 2013). Les cytokinines sont impliquées dans la division cellulaire, la sénescence des feuilles, la dominance apicale, la différenciation vasculaire, le développement des racines et les réponses au stress (Zürcher *et al.*, 2016), (Kieber and Schaller, 2018), (Li *et al.*, 2021). Les gibbérellines (GA) sont des hormones de croissance des plantes impliquées dans l'allongement des tiges, le développement et la germination des graines, l'expansion des feuilles, la croissance végétative et l'initiation et le développement des fleurs et le développement des fruits (Sun, 2011) (Davière and Achard, 2013), (Shani *et al.*, 2024).

Les hormones « de défense » telles que le SA (Spoel and Dong, 2024; Peng *et al.*, 2021; Butselaar and Ackerveken, 2020), le JA (Huang *et al.*, 2017; Guo *et al.*, 2018; Bao *et al.*, 2024; Gasperini and Howe, 2024) et l'ET (Binder, 2020; Iqbal *et al.*, 2017) jouent un rôle important dans la régulation des réponses immunitaires des plantes à la fois localement et systémiquement pour coordonner la défense des plantes contre différents types d'agents pathogènes et dans différentes parties de la plante (Huot *et al.*, 2014). La signalisation du SA est principalement induite par et impliquée dans la défense contre les agents pathogènes biotrophes, tandis que la signalisation du JA est principalement induite par et impliquée dans la défense contre les insectes herbivores et, en conjonction avec l'ET, contre les agents pathogènes nécrotrophes (Zhou *et al.*, 2022). Les voies de signalisation SA et JA sont généralement antagonistes l'une de l'autre (Pieterse *et al.*, 2012).

Par exemple, une signalisation SA élevée en réponse à des agents pathogènes biotrophes est souvent corrélée à une réduction de la signalisation JA et à une diminution de la résistance aux agents pathogènes nécrotrophes (Spoel and Dong, 2008). Cet antagonisme SA/JA n'est pas retrouvé chez tous les pathosystèmes, il est notamment absent chez le peuplier lors de son interaction avec le champignon responsable de la rouille *Melampsora larici-populina* (Ullah *et al.*, 2022). Chez le pommier inoculé avec *Erwinia amylovora*, une accumulation de SA est observée chez un génotype résistant comme chez un génotype sensible, tandis qu'une baisse de JA n'est observée que chez le génotype sensible, suggérant un rôle discriminant pour le JA sans suspicion d'antagonisme avec le SA (Dugé De Bernonville *et al.*, 2012).

SA et JA, qui sont classiquement définies comme des hormones de « défense », régulent également les processus de développement en interagissant avec les voies de signalisation d'autres phytohormones. En effet, des interactions entre hormones de « croissance » et de « défense » existent et sous-tendent le compromis croissance–défense (figure 6) (Zhou *et al.*, 2022). Prenons l'exemple de l'interaction entre le SA et l'auxine (Huot *et al.*, 2014; Butselaar and Ackerveken, 2020; Peng *et al.*, 2021). Chez Arabidopsis, l'application exogène de SA (Groszmann *et al.*, 2015; Pasternak *et al.*, 2019) ou d'ASM, analogue fonctionnel du SA (Canet *et al.*, 2010; Tripathi *et al.*, 2010), entraine une induction des voies de défenses mais également une réduction de la croissance des plantes. De même, les plantes d'Arabidopsis qui accumulent du SA, comme le double mutant SA-hydroxylase *dmr6 dlo1* sont plus petites que le type sauvage (Zeilmaker *et al.*, 2015), tandis que celles appauvries en SA, comme le double mutant pour l'isochorismate synthase *ics1 ics2* (nécessaire à la biosynthèse de SA), sont plus grandes (Garcion *et al.*, 2008). Ceci s'explique notamment par le fait que le SA affecte différents processus liés à l'auxine. Le traitement au SA inhibe la perception de l'auxine et l'expression des gènes (par exemple, en inhibant l'expression du gène du récepteur de l'auxine TIR1/AFB)(Wang *et al.*, 2007). Réciproquement, la défense médiée par le SA est affectée par l'auxine, car la surexpression transgénique du gène *AFB1* récepteur de l'auxine, qui améliore la signalisation de l'auxine, entraîne une réduction de la biosynthèse du SA induite par la perception d'agents pathogènes par rapport aux plantes de type sauvage (Robert-Seilaniantz *et al.*, 2011). L'effet négatif du SA sur la croissance, bien décrit chez Arabidopsis, n'est cependant pas observé de manière universelle. Par exemple, des effets positifs du SA sur la croissance ont été rapportés chez le soja, le blé, le maïs ou la camomille (Rivas-San Vicente and Plasencia, 2011). A notre connaissance, cela n'a pas été étudié sur le pommier.

Au bilan, de nombreux travaux ont mis en évidence des interactions hormonales justifiant non seulement le compromis croissance–défense au niveau moléculaire, mais aussi sa sensibilité aux facteurs abiotiques (Huot *et al.*, 2014).

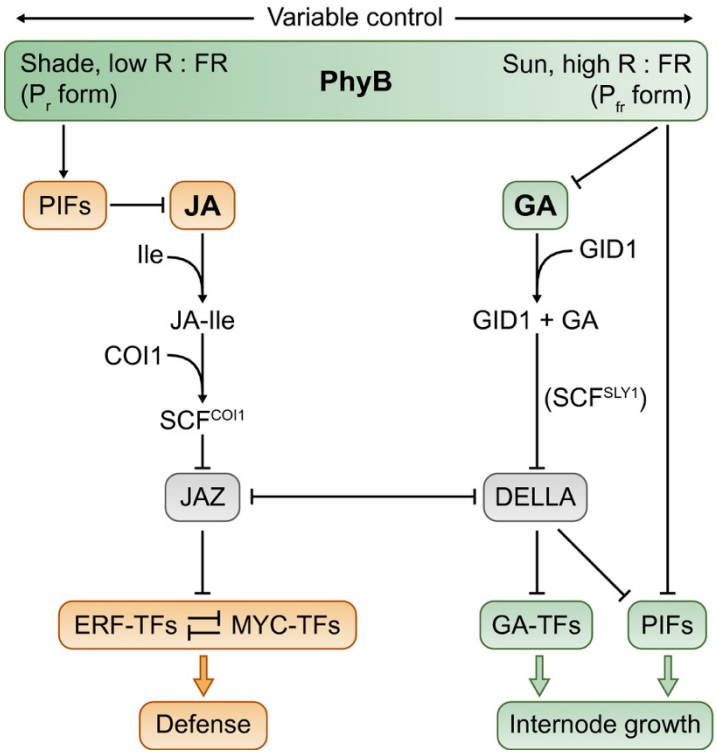


Figure 10 : La qualité et la quantité de lumière régulent le compromis « croissance-défense » par l'intermédiaire de PhyB

Le phytchrome B (PhyB) se déplace entre deux isoformes (Pfr à la lumière du soleil et Pr à l'ombre), qui interagissent avec les facteurs de transcription interagissant avec les phytochromes (PIF) pour activer la croissance ou inactiver la promotion de la défense par l'acide jasmonique (JA). La liaison entre les effecteurs de transcription DELLA et JAZ participe au contrôle indirect du compromis croissance-défense. Les flèches pointues indiquent les effets positifs d'un facteur sur un autre, tandis que les flèches émoussées indiquent les effets négatifs. GA, acide gibbérellique ; R : FR, red : far-red. (Monson *et al.*, 2022).

4°) La lumière comme modulateur du compromis « croissance–défense »

Différents facteurs environnementaux, dont la qualité et la quantité de lumière (Ballaré, 2014; Campos *et al.*, 2016; Liu *et al.*, 2020; Hou *et al.*, 2021; Pierik and Ballaré, 2021; Lajeunesse *et al.*, 2023) se branchent sur ces régulations hormonales et modifient les termes du compromis. Une grande partie de la coordination associée aux compromis croissance-défense est attribuée aux interactions entre trois pôles de régulation DELLA, JAZ et phyB faisant intervenir JA et GA (Karasov *et al.*, 2017; Guo *et al.*, 2018; Ballaré and Austin, 2019; Aerts *et al.*, 2021; Monson *et al.*, 2022) (Ballaré and Austin, 2019) (figure 7). Les protéines DELLA agissent comme un « frein » constitutif à la croissance cellulaire qui doit être désactivé par la signalisation GA avant que les plantes puissent répondre à des conditions environnementales favorables. Un groupe de facteurs de transcription contrôlés en partie par les DELLA et qui permettent l'interaction entre les voies des GA et du phytochrome B (phyB) (Legris *et al.*, 2019) sont les PIF (*Phytochrome Interacting Factors*) (Rockwell *et al.*, 2006). Les PIF activent le syndrome d'évitement de l'ombre (SAS), une série de caractères typiques des faibles lumières comprenant l'allongement des entre-nœuds, la réduction de la ramification et la floraison précoce (Ballaré, 2014; Ballaré and Austin, 2019; Buti *et al.*, 2020). Les chromoprotéines phyB basculent de manière réversible entre deux isomères selon la qualité du rayonnement dans le rouge –la lumière rouge R (600-700 nm) génère la forme active Pfr, tandis que la lumière rouge lointaine FR (700-800 nm) génère la forme inactive Pr (Legris *et al.*, 2016; Ballaré and Pierik, 2017). Chez les plantes intolérantes à l'ombre poussant dans des habitats ensoleillés, où le rapport R:FR est élevé, la forme Pfr est la plus abondante. Pfr supprime l'expression des caractères SAS, en partie par la signalisation qui conduit à la dégradation des PIF (Lorrain *et al.*, 2008) et en partie par des interactions avec les DELLA (de Lucas *et al.*, 2008).

Les changements associés à phyB participe à réguler le compromis croissance-défense (Campos *et al.*, 2016; Ballaré, 2014). Cette forme de compromis n'est pas motivée par la compétition pour les ressources, mais est plutôt le résultat d'une régulation coordonnée à l'échelle cellulaire (Campos *et al.*, 2016; Ballaré and Austin, 2019; Fernández-Milmanda *et al.*, 2020). Comme les DELLA, les protéines JAZ agissent comme des répresseurs constitutifs qui doivent être désactivés pour permettre l'expression des gènes associés à JA (Howe *et al.*, 2018). Les protéines JAZ se lient à des facteurs de transcription spécifiques, en particulier de la famille MYC, et les empêchent ainsi de favoriser la transcription.

Il existe un crosstalk entre les DELLA et les JAZ, qui fournit un moyen indirect de contrôler le compromis croissance-défense (Yang *et al.*, 2012; Campos *et al.*, 2016). Les DELLA se lient aux JAZ d'une manière qui exclut leurs interactions mutuelles avec les facteurs de transcription

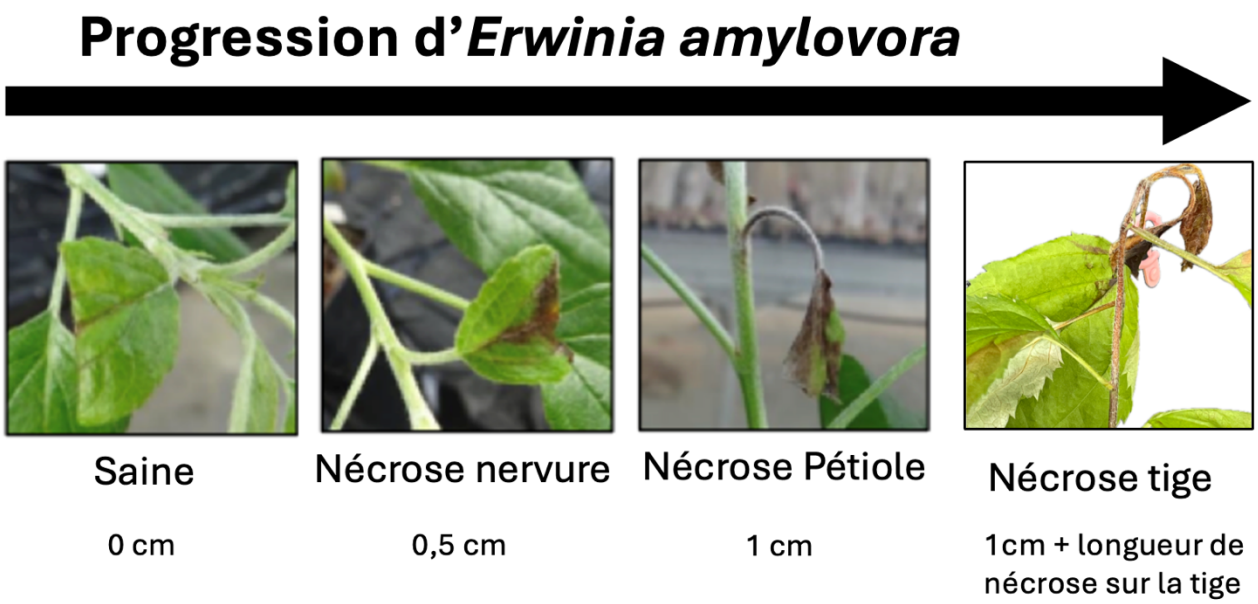
(Hou *et al.*, 2010). Ainsi, en présence d'une signalisation JA induite et d'une dégradation concomitante de JAZ, la fraction de DELLA libres est augmentée, ce qui augmente à son tour la probabilité de se lier et de supprimer les facteurs de transcription associés à GA. Ainsi, l'expression accrue de la défense associée à JA entraîne donc une diminution de l'expression de la croissance associée à GA. Ces réseaux de signalisation hormonale interconnectés permettent d'affiner les réponses des plantes aux signaux environnementaux et développementaux.

5°) Problématique et objectifs du stage

L'objectif global de mon stage est d'explorer le compromis entre la croissance et la défense chez des plantules de pommier lors de son interaction avec la bactérie *Erwinia amylovora*.

Dans une première expérimentation, nous utiliserons un robot de phénotypage « Phenobean 2 ». Notre objectif sera de manipuler les termes du compromis entre croissance et défense en jouant sur deux paramètres : les conditions lumineuses (réduction du rouge lointain) et l'utilisation d'un SDP (le Bion®, ou ASM formulé). Nous ne connaissons pas les effets sur la croissance du pommier de ces deux modifications, et nous ne savons pas si le ratio R:FR modifie l'immunité du pommier. En parallèle de ces analyses inter-conditions, nous tirerons parti de la variabilité intra-condition pour étudier la corrélation entre vitesse de croissance et sévérité des symptômes à différents pas de temps. Cette variabilité étant essentiellement attribuable au fond génétique hétérogène des individus – les plantules de pommier utilisées étant issues de graines obtenues par pollinisation libre du cultivar sensible Golden Delicious, matériel fortement hétérozygote. Des prélèvements foliaires pour chaque plante inoculée ont également été réalisés pour une analyse de la transcription des principaux gènes de défenses (via qPFD) mais les analyses moléculaires n'ont pas encore été réalisées et ne pourront donc pas être corrélés aux analyses phénotypiques présentées dans ce rapport. Une partie non négligeable de mon travail a consisté en la prise en main du robot et l'optimisation des paramètres de culture, d'acquisition et de traitement des données qui seront utiles pour de futures expérimentations et permettront de faire progresser les capacités de phénotypage de l'équipe ResPom.

Dans une seconde série d'expérimentations réalisées en serre, nous avons cherché à cribler différentes hormones pour évaluer leur effet sur la croissance et la protection dans notre pathosystème d'intérêt. Ainsi, nous avons utilisé des hormones, analogues hormonaux ou inhibiteurs des voies suivantes : acide salicylique, auxine, cytokinine, acide gibbérellique, méthyl-jasmonate, acide abscissique, acide férulique. Par souci de concision, nous ne présentons ici que les résultats obtenus sur les effectifs les plus robustes : auxine, cytokinine, acide salicylique. Le but de ce criblage était d'identifier les produits les plus à même de modifier l'équilibre croissance-défense, avant d'examiner plus précisément leur effet dans une expérimentation ultérieure avec le robot Phenobean.



(Partie ayant perdu sa rigidité)

Figure 11 : Échelle de notation pour la mesure de l'incidence et la sévérité du feu bactérien sur semis de pommier (modifié de Nguyen, 2023)

L'incidence correspond au pourcentage de plantes qui présentent des symptômes de la maladie, à savoir la nécrose des différents organes. Parmi les plantes malades, on peut différencier celles atteintes uniquement au niveau de la nervure centrale celles dont la nécrose s'arrête au niveau du pétiole conduisant parfois à l'abscission de la feuille infectée, et celles dont la nécrose a commencé à se propager le long de la tige et donc à infecter le reste de la plante. Les plantes ne présentant aucune nécrose sont considérées comme saines. La sévérité correspond à la gravité de la progression de la maladie sur la plante. Les plantes pour lesquels *Erwinia amylovora* a progressé jusqu'à la nervure se voient attribuer une longueur de nécrose de 0,5cm, celles dont la nécrose s'arrête au niveau du pétiole se voient attribuer une longueur de nécrose de 0,5cm+0,5cm soit 1cm, celles dont la nécrose a commencé à se propager le long de la tige on mesure la longueur de nécrose sur la tige auquel on ajoute 1cm.

Matériel et Méthodes

1°) Matériel biologique et culture des plantes

Pour l'étude du compromis « croissance-défense », le pathogène modèle est la bactérie *Erwinia amylovora*, souche CFBP 1430 (une souche sauvage isolée de l'aubépine). L'inoculum (10^8 CFU/mL) est préparé par mise en suspension des bactéries dans de l'eau stérile à partir d'une culture en phase exponentielle de croissance (repiquée la veille sur milieu King B solide et incubée à 26°C). Pour le matériel végétal, le choix a été d'utiliser des plantules de pommier. Ceux-ci proviennent de pépins issus de pollinisation libre de la variété « Golden Delicious » (sensible à *Erwinia amylovora*) du verger de l'Unité Expérimentale Horticole (UE 449 HORTI, INRAE Angers). Après vernalisation à 4°C pendant 3 mois dans un mélange vermiculite/sable humidifié, les graines sont semées dans du terreau. Les plantules obtenues sont cultivées en conditions semi-contrôlées en serre (T°C diurne : 21-25°C ; T°C nocturne : 15-17°C ; lumière naturelle complémentée par un éclairage d'appoint). Une semaine après le semis, les plantules sont repiquées dans des godets individuels (7x7x8cm). Pour la première expérimentation les plantes ont été transférées à ce stade dans le module Phenobean 2. Pour l'autre série d'expérimentations en serres, les plantes ont été transférées dans un module d'expérimentation deux semaines après le repiquage en godet dans le module d'élevage. Sept jours avant ce transfert, après un traitement préventif contre l'oïdium est appliqué.

2°) Échelle de notation des symptômes

Pour les différentes expérimentations réalisées, les symptômes ont été mesurés jusqu'à trois semaines après inoculation. Deux méthodes d'évaluation de la maladie ont été utilisées : L'incidence correspond au pourcentage de plantes qui présentent des symptômes de la maladie, à savoir la nécrose des différents organes. Parmi les plantes malades, on peut différencier celles atteintes uniquement au niveau de la nervure centrale, celles dont la nécrose s'arrête au niveau du pétiole conduisant parfois à l'abscission de la feuille infectée, et celles dont la nécrose a commencé à se propager le long de la tige et donc à infecter le reste de la plante (compromettant sa survie). Les plantes ne présentant aucune nécrose sont considérées comme saines. La sévérité correspond à la gravité de la progression de la maladie sur la plante. Les plantes dont *Erwinia amylovora* a progressé jusqu'à la nervure se voient attribuer une longueur de nécrose de 0,5 cm, celles dont la nécrose s'arrête au niveau du pétiole se voient attribuer une longueur de nécrose de 1 cm, et pour celles dont la nécrose a commencé à se propager le long de la tige on mesure la longueur de nécrose sur la tige, à laquelle on ajoute la longueur

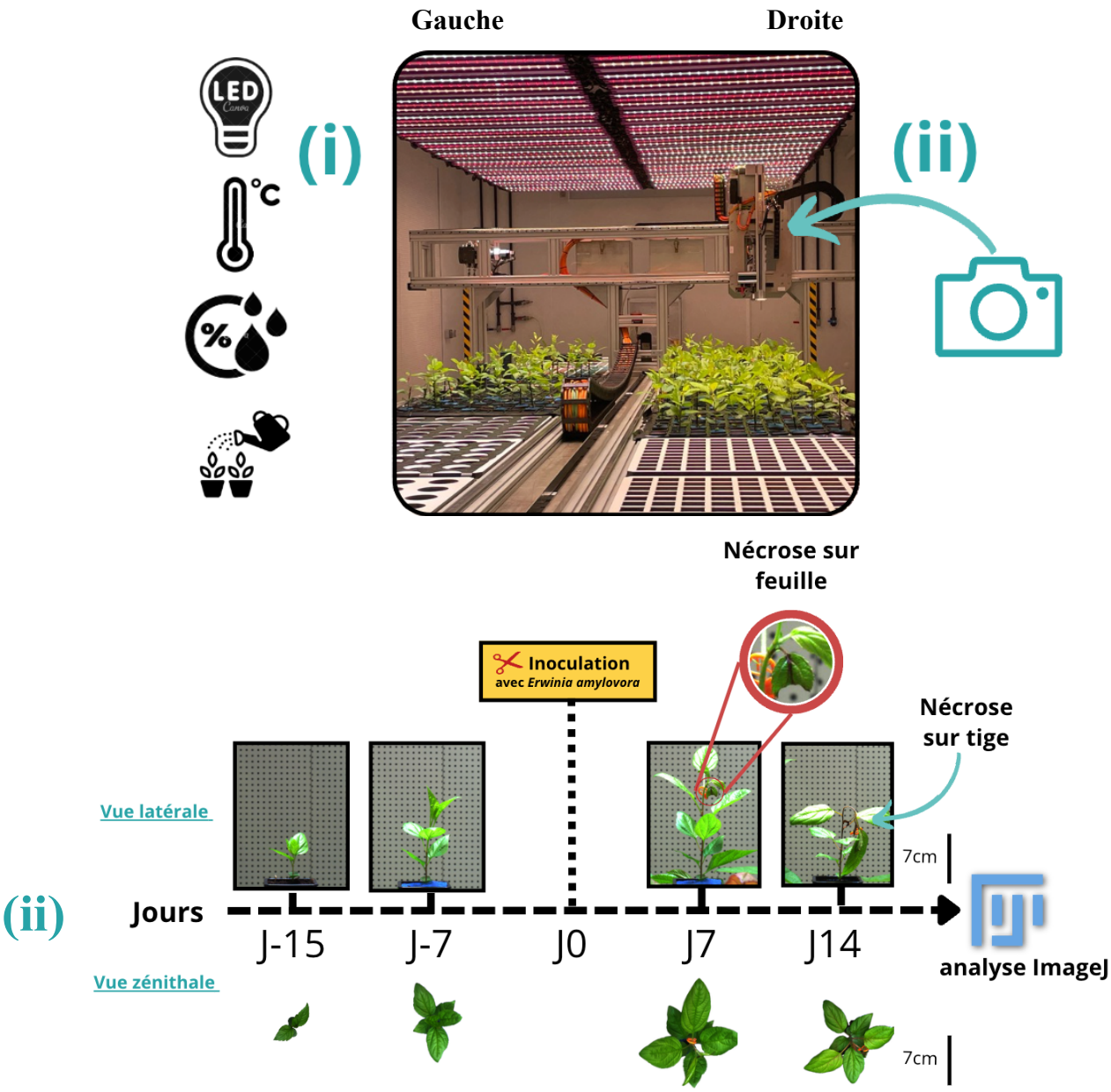


Figure 14 : Utilisation du robot Phenobean 2 pour la caractérisation du compromis croissance-défense

i) Ce robot permet de cultiver des plantules de pommier dans des conditions environnementales finement contrôlées. Outre le contrôle de la température, arrosage, de l'hygrométrie, cette enceinte est équipée de projecteurs LED multispectraux qui permettent la modulation du spectre lumineux incident, ainsi que de l'intensité afin de proposer des "recettes climatiques" adéquates pour la croissance des plantes et l'obtention de symptômes. Les projecteurs situés à gauche peuvent être contrôlés de manière indépendante de ceux situés à droite de la pièce afin de tester plusieurs conditions lumineuses différentes.

ii) Ce robot facilite également les analyses phénotypiques des parties aériennes de la plante via un système d'imagerie RGB qui permet d'obtenir des vues latérales et zénithales des individus pour suivre leur croissance et le développement des symptômes au cours du temps.

de nécrose attribuée au pétiole (1 cm). Les nécroses sur tige ne sont pas toujours faciles à mesurer selon les individus examinés. En effet le critère principal est la rigidité de la tige évaluée par application d'une légère flexion, tandis que le brunissement du tissu peut également être pris en compte. Or certaines plantes possèdent une nécrose marron sur la totalité de tige mais seule la partie ayant perdu sa rigidité est considéré dans l'échelle denotation. Pour chaque individu, ces mesures sont utilisées pour calculer l'AUDPC (Area Under the Disease Progress Curve), qui quantifie la gravité et l'étendue des symptômes en intégrant à la fois la durée et l'intensité de la maladie. Sa formule correspond à l'aire sous la courbe : **AUDPC = 7*(Longueur de Nécrose à J7+ Longueur de Nécrose à J14) /2 + 7*(Longueur de Nécrose à J14+ Longueur de Nécrose à J21) /2)**

3°) Utilisation d'un robot de phénotypage pour examiner l'effet du ratio R : FR ou du Bion sur le compromis « croissance-défense »

Dans une première expérimentation, le robot de Phenobean 2 de la plateforme Phenotic a été utilisé (figure 10). Ce robot permet de cultiver des plantules de pommier dans des conditions environnementales finement contrôlées : outre le contrôle de la température, hygrométrie et irrigation, cette enceinte est équipée de projecteurs LED multispectraux qui permettent la modulation du spectre lumineux incident, ainsi que de l'intensité afin de proposer des "recettes lumineuses" adéquates pour la croissance des plantes et de l'agent pathogène. Les projecteurs situés à gauche de l'axe longitudinal peuvent être contrôlés de manière indépendante de ceux situés à droite, offrant la possibilité de tester deux conditions lumineuses dans la même expérience. Ce robot facilite également les analyses phénotypiques des parties aériennes de la plante via un système d'imagerie RGB qui permet d'obtenir des vues latérales et zénithales des individus pour suivre leur croissance et le développement des symptômes au cours du temps.

Pour notre expérimentation, nous avons utilisé 150 plantes que nous avons transférées dans le robot au stade 2 à 4 feuilles (à J-24 avant l'inoculation) (figure 10). Le module a été placé à température (22°C) et humidité relative (70%) constantes, avec un rayonnement photosynthétiquement actif (PAR) de 300 µmol/s/m² et une photopériode neutre (12 h jour/ 12h nuit). Les paramètres initiaux du robot sont les suivants : UVA380 : 5%, White 6500K : 80% ; White 3000K : 64% ; **660-Red : 59% ; 735-Far-Red : 68%** ; 840 IR : 0%. A partir de J-3, les plantes ont été séparées en trois lots distinct de 50 plantes : le lot témoin, uniquement traité à l'eau osmosée et ne subissant pas de changement de spectre lumineux (lot RL68+Eau) ; le lot traité avec le Bion ne subissant pas de changement de spectre lumineux (lot RL68+Bion) ; et le lot placé à droite du module qui est traité à l'eau et subit un changement de spectre où **735-Far-Red de 68% à 0%** (lot RL00+Eau) afin de fortement augmenter le ratio R/FR par rapport aux deux autres modalités mais sans modifier le PAR – ce changement

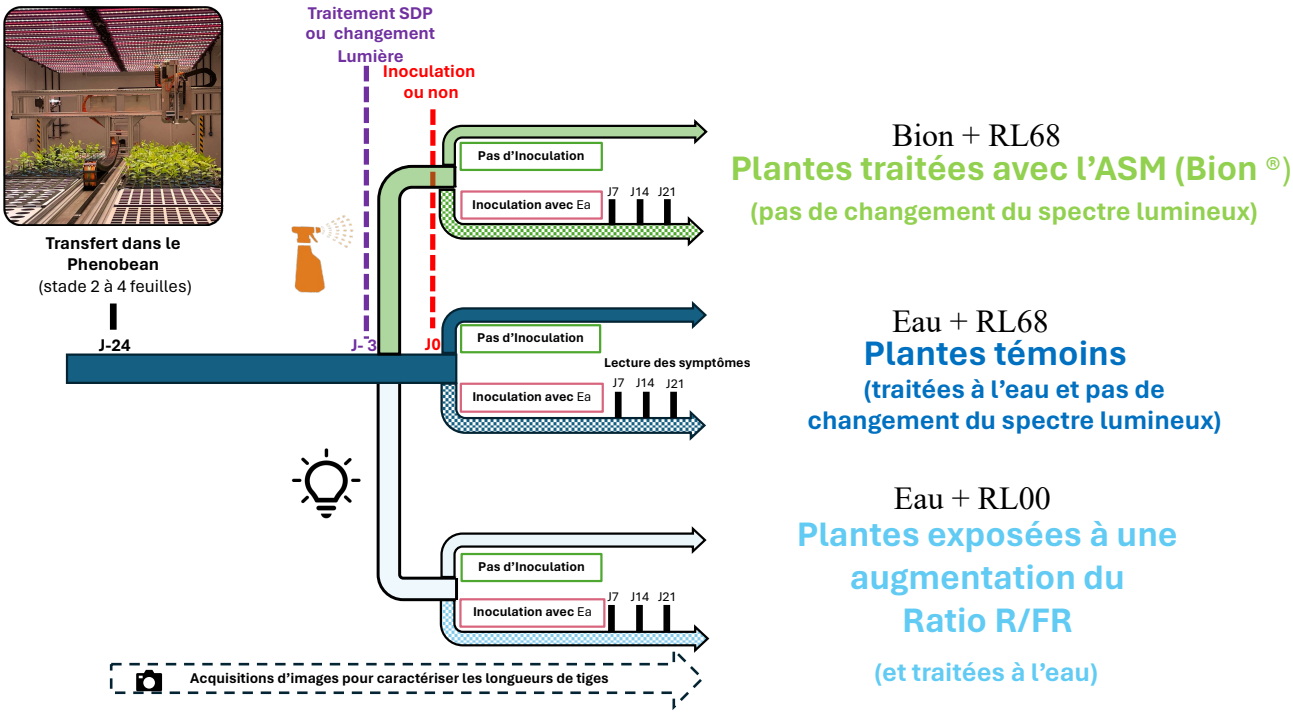


Figure 16 : Protocole expérimental dans le robot Phenobean 2 permettant d'évaluer l'effet potentiel du Bion ou de l'augmentation du ratio R : FR pour modifier le compromis croissance-défense de semis de pommiers (Golden Delicious) inoculés avec *Erwinia amylovora*

Les détails du protocole sont donnés dans le Matériels et Méthodes, partie 3

lumineux étant effectif jusqu'à la fin de l'expérimentation . Le Bion® est préparé à la concentration de 0,4 g/L, (soit 0,95 mM d'ASM) en diluant la poudre commerciale dans de l'eau osmosée. La solution est pulvérisée sur le feuillage des plantes jusqu'en limite de ruissellement à l'aide d'un asperseur manuel. Trois jours après l'application de ces trois conditions (lumière/traitement), pour chacun des traitements, une partie des plantes est inoculée avec *Erwinia amylovora* (10^8 CFU/mL) en coupant la plus jeune feuille déployée. L'autre partie des plantes n'est pas inoculée, avec une moitié sur laquelle on effectue une coupure similaire à l'inoculation, et une autre moitié qui est laissée intacte. Des prélèvements foliaires sont effectués pour une analyse qPFD ultérieure, qui n'a pas encore été réalisée dans le cadre de ce stage. Des lectures manuelles des symptômes et des mesures de longueur de la tige principale sont réalisées 1, 2, et 3 semaines après l'inoculation. Des acquisitions d'images zénithales et latérales sont réalisées (figure 9) pour les jours : -21, -17, -15, -11, -10, -9, -8, -7, -4, -3, -2, -1, 0, 3, 4, 5, 6, 7, 10, 11, 12, 13, 14, 19, 21. Après une première série d'essais, les images latérales ont été prises sous trois angles différents pour chaque pot afin d'obtenir une meilleure visualisation de la tige. En raison du temps limité, seules les images latérales ont été analysées dans le cadre de ce stage. Une macro ImageJ a été développée pour faciliter la gestion des fichiers et des mesures de longueur de tige sur le logiciel d'analyse d'images. Ce script permet d'afficher, par ordre chronologique, les trois points de vue côte à côte pour chaque individu. Pour chaque jour, la longueur de la tige est mesurée en utilisant la meilleure des trois vues.

4°) Criblage de phytohormones pour l'étude du compromis croissance-défense

Parallèlement à cette première expérience, une seconde série d'expériences est menée en serre. L'objectif de cette étude est à la fois d'évaluer l'impact potentiel de diverses phytohormones (ou analogue, ou inhibiteurs) sur la croissance des semis de pommier, puis d'examiner leur influence sur la résistance à *Erwinia amylovora*. Dans cette expérimentation, le criblage est purement phénotypique. Nous avons mené une première expérience (non présentée) avec 7 produits (acide salicylique, auxine, cytokinine, acide gibbérellique, méthyl-jasmonate, acide abscissique, acide férulique) et un effectif limité (10 plantes pour la croissance et 10 pour la protection), afin de sélectionner les molécules les plus prometteuses en vue d'une seconde expérimentation avec un effectif plus large. Dans cette seconde expérimentation, nous avons utilisé 280 plantes que nous avons transférées dans le module d'expérimentation au stade 4 à 6 feuilles (à J-8 avant l'inoculation). Pour cette expérimentation, six traitements différents (plus le traitement témoin) sont analysés (Tableau 1). Le premier produit est le Bion® qui contient de l'ASM à une concentration de 0,95 mM comme pour l'expérimentation dans Phenobean. Deux concentrations de SA sont également testées, la

Tableau I : Liste des analogues hormonaux choisis pour le criblage et les concentrations utilisés pour les traitements par application foliaire.

Produit	Molécule active	Caractéristique	Concentration en molécules actives
Témoin eau + 0,005% de Tween	/	/	/
Bion®	**acibenzolar-S-methyl** (ASM)	Analogue fonctionnel de l'acide salicylique	0,95 mM
Acide salicylique + 0,005% de Tween	**Acide salicylique** (SA)	Acide salicylique	0,95 mM 1,9 mM
Rhodofix®	**Acide 1-naphthalène acétique** (NAA)	Auxine synthétique	40 µM 80 µM
6-benzylaminopurine + 0,005% de Tween	**6-benzylaminopurine** (BAP)	Cytokinine synthétique	0.44 mM

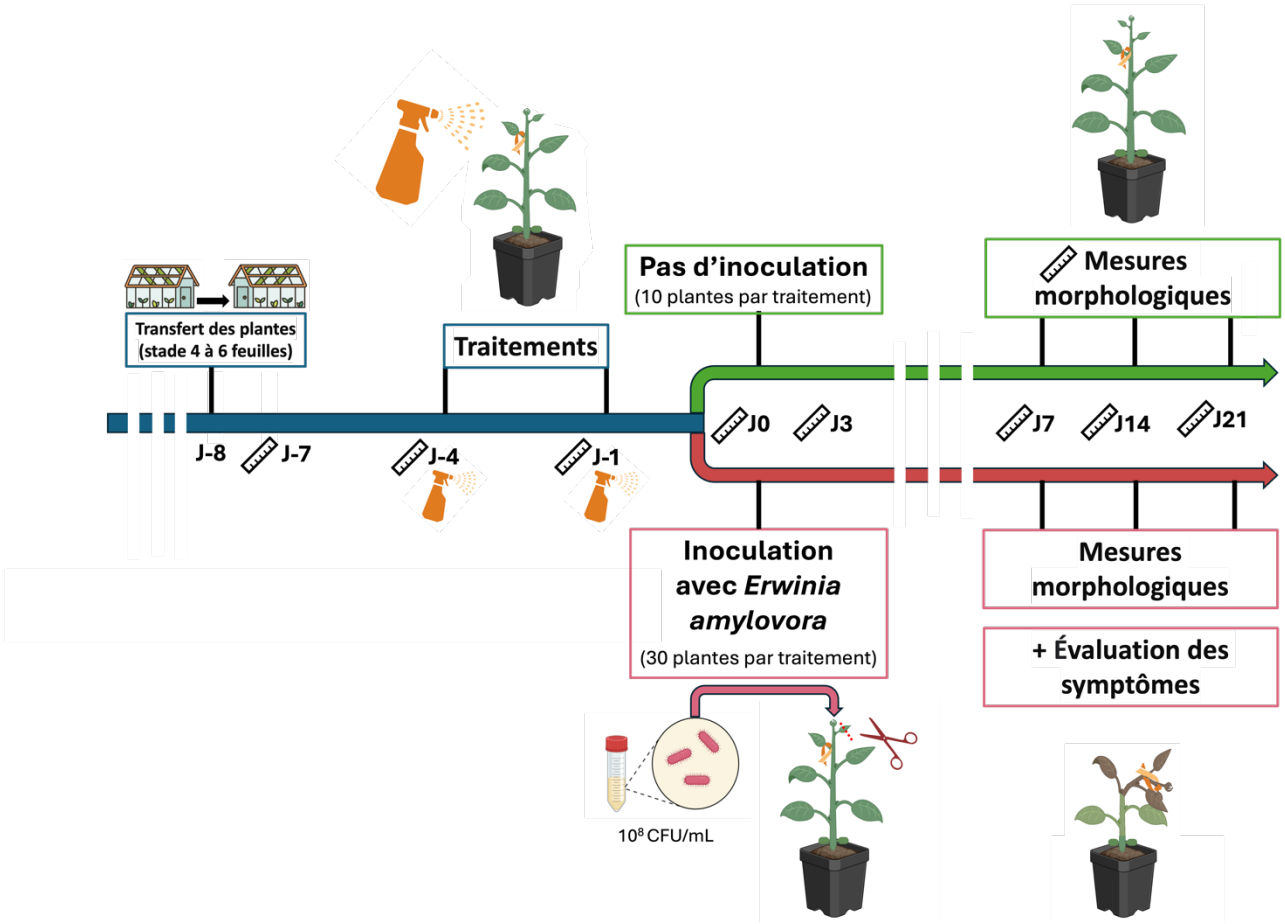


Figure 18 : Protocole expérimental réalisé en serre pour évaluer le potentiel de phytohormones à modifier le compromis croissance-défense de semis de pommiers (Golden Delicious) inoculés avec *Erwinia amylovora*

Les détails du protocole sont donnés dans le Matériels et Méthodes, partie 4

première est la même que pour le traitement en ASM et la seconde est deux fois plus concentrée (soit 1,95 mM). Deux autres traitements consistent en l'application de Rhodofix® qui contient de l'acide 1-naphthalène acétique (NAA), une auxine synthétique. Le choix s'est porté sur l'utilisation de concentrations en NAA à 40 et 80 µM. Enfin, le dernier produit est le 6-benzylaminopurine (BAP), une cytokinine synthétique à une concentration de 0,44 mM. Un agent mouillant, le Tween a été ajouté dans la solution (0,005%) des produits non formulés afin de faciliter leur contact avec les tissus lors de l'application par aspersion foliaire. Une solution d'eau osmosée contenant 0,005% de Tween a été utilisée afin de servir de témoin. Ne connaissant pas la rémanence des possibles effets des différentes phytohormones pouvant possiblement aller de quelques heures à quelques jours, nous avons fait le choix d'appliquer deux traitements à J-4 et J-1 avant inoculation (figure 11). A J0, pour chaque modalité, 10 individus ne sont pas inoculés et 30 autres le sont. Comme pour la précédente expérimentation, l'inoculation a été réalisée sur la plus jeune déployée à l'aide de ciseaux trempés dans l'inoculum d'*Erwinia amylovora* (10^8 CFU/mL) en coupant 2/3 de la feuille perpendiculairement à la nervure centrale. Les symptômes sont évalués 1, 2 et 3 semaines après inoculation. Différentes mesures morphologiques tel que le nombre de feuilles, le débourrement de bourgeons axillaires et la longueur de tiges ont été réalisées à : J-7, J-4, J-1, J0, J3, J7, J14, J14, J21.

5°) Analyse des données

L'ensemble des données est collecté sur le logiciel Excel et traité statistiquement à l'aide du logiciel R. Les postulats de l'analyse de la variance sont évalués : la normalité des résidus est évaluée par un test de Shapiro et des graphiques de type qqplot : l'homoscédasticité par le test de Levene et des graphiques de type boxplot. Lorsque les postulats sont vérifiés, une ANOVA à 1 ou 2 facteurs selon les expériences permet de valider la significativité des différences entre modalités et un test post-hoc de Tukey HSD est réalisé. Sinon un test non-paramétrique de Kruskal-Wallis est appliqué. Les tests post-hoc appliqués sont un test Wilcoxon qui permet de réaliser des comparaisons par paires (avec correction de Bonferroni). Les moyennes significativement différentes entre elles sont représentées par des astérisques sur les graphiques. Les hypothèses H0 sont rejetées à partir d'un seuil de risque de 5%.

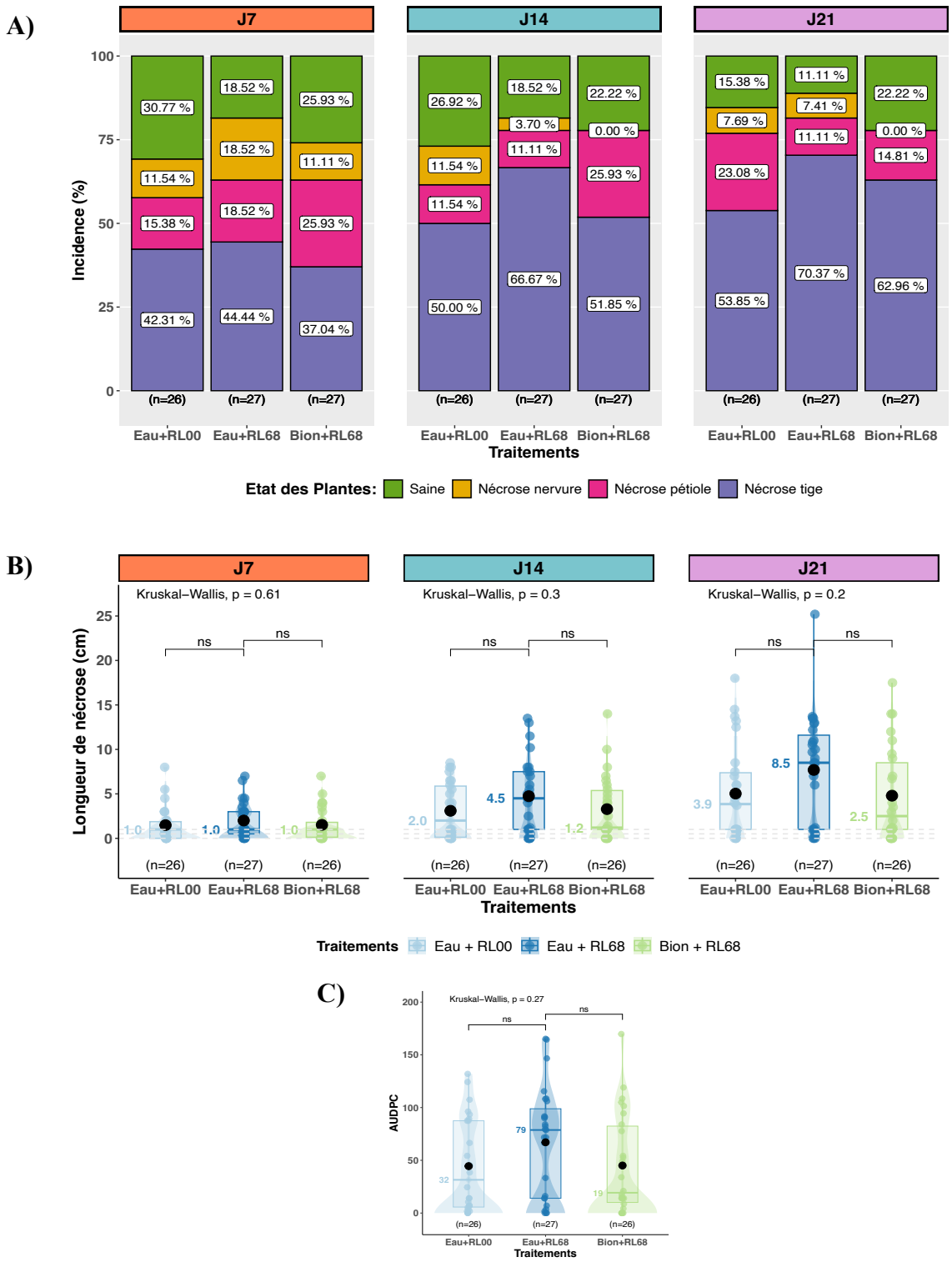


Figure 19 : Effet du Bion ou d'un appauvrissement en rouge lointain sur la résistance de semis de pommier Golden delicious inoculés avec *Erwinia amylovora*

A) Incidence (Pourcentage d'individu par classe de symptômes) du feu bactérien mesurée 7, 14 et 21 jours après l'inoculation (J0) de la bactérie sur différents lots de semis de pommier soit traités via application foliaire avec du Bion à J-3 ou bien ayant subi un appauvrissement en rouge lointain (lot RL00) à partir de cette même date.
B) Longueur de nécrose d'Ea (cm) mesuré sur ces différents lots de plantes aux mêmes jours que les mesures d'incidences (J7, J14, J21). (sain = 0 cm ; nécrose nervure = 0,5 cm ; nécrose pétiole = 1cm ; nécrose tige = 1cm + longueur nécrose sur la tige) Les lignes en pointillés gris correspondent aux valeurs des 3 premières classes (0 ; 0,5 ; 1 cm).
C) AUDPC (Area Under Disease Progress Curve) calculé à partir des mesures de longueurs de nécroses 7, 14 et 21 jours après l'inoculation de la bactérie. Sur chaque boxplot le point en noir correspond à la moyenne et la valeur de la médiane est indiqué à gauche.

Résultats

1°) Utilisation d'un robot de phénotypage pour examiner l'effet du ratio R : FR ou du Bion sur le compromis « croissance-défense »

Dans une première expérience, nous avons utilisé le robot PhenoBean pour phénotyper la croissance de plantules de pommier infectées ou non par *Erwinia amylovora*.

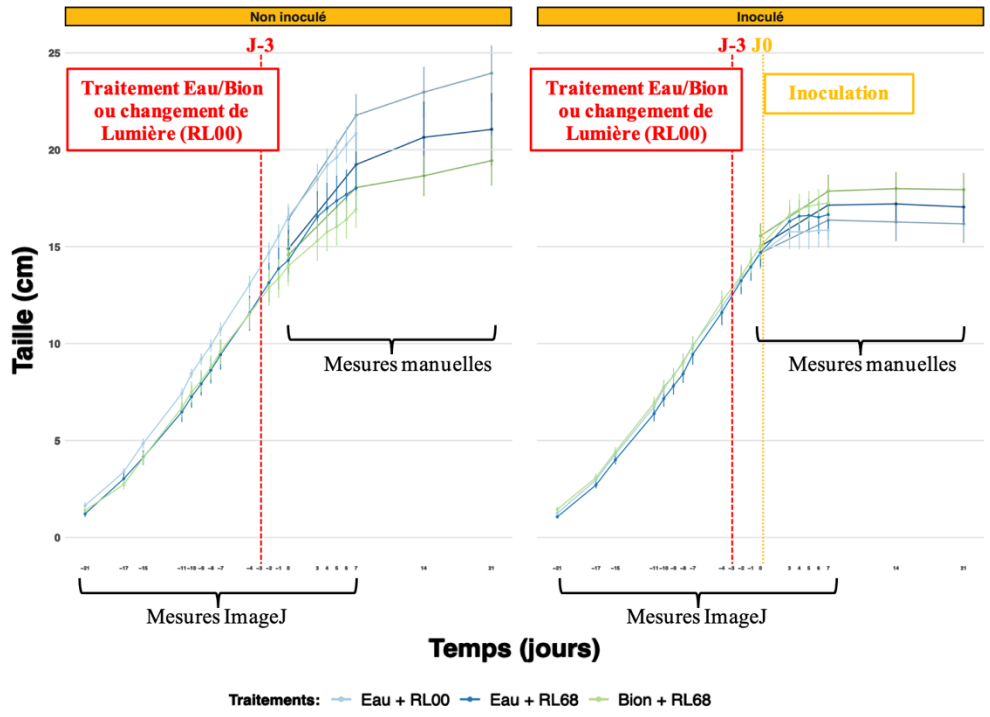
Analyse des symptômes du feu bactérien

Nous avons d'abord examiné la distribution des symptômes, évalués manuellement en passant dans le robot. En effet l'utilisation de l'imagerie pour quantifier les symptômes, si séduisante fusse-t-elle, était hors de portée dans le cadre de ce stage. L'effet du Bion ou d'un appauvrissement en rouge lointain (RL00) sur l'incidence et la sévérité de la maladie a été évalué 7, 14 et 21 jours après l'inoculation avec *Erwinia amylovora* (figure 12).

Une semaine après l'inoculation, seul le traitement avec une augmentation de R/FR (RL00) semble avoir un effet possible sur l'incidence de la maladie, avec près de 31 % d'individus sains contre 19 % pour le témoin (Eau + RL68) (figure 12A). Quatorze jours après l'inoculation, les plantes traitées au Bion ou exposées à une lumière appauvrie en rouge lointain montrent une plus faible proportion de nécroses sur tige, avec environ 50 % des individus dans cette catégorie contre 67 % chez le témoin. Trois semaines après l'inoculation, l'augmentation du ratio R/FR (RL00) continue de réduire la proportion d'individus présentant des nécroses sur tige (53 %) par rapport au groupe témoin (70 %). Cependant, cet effet semble moins marqué avec le traitement Bion (63 %). Il est toutefois important de noter que les plantes traitées au Bion possèdent une plus grande proportion de plantes saines (22 %) par rapport au lot témoin (11 %) à la fin de l'expérimentation. Un test exact de Fisher, que nous n'avons pas eu le temps d'implémenter dans ce rapport, permettrait de vérifier la significativité de ces différences de distribution entre modalités.

Ensuite, en considérant la sévérité de la maladie (figure 12B), estimée par la longueur des nécroses, aucune différence significative n'a été observée entre le groupe témoin et les deux traitements sept jours après l'inoculation, avec une longueur moyenne de nécrose de 1 cm pour les trois conditions. Quatorze jours après l'inoculation, les longueurs de nécroses ont continué d'augmenter : la longueur médiane de nécrose était de 4,5 cm dans le groupe témoin (Eau + RL68), contre 2 cm pour le traitement lumière (Eau + RL00) et 1,2 cm pour le groupe traité au Bion. Trois semaines après l'inoculation, la même tendance a été observée : la longueur médiane de nécrose était de 8,5 cm dans le groupe témoin, contre 3,9 cm pour le traitement lumière et 1,2 cm pour le groupe traité au Bion. La sévérité de la maladie, estimée par les longueurs de nécroses, montre des tendances similaires aux

A)



B)

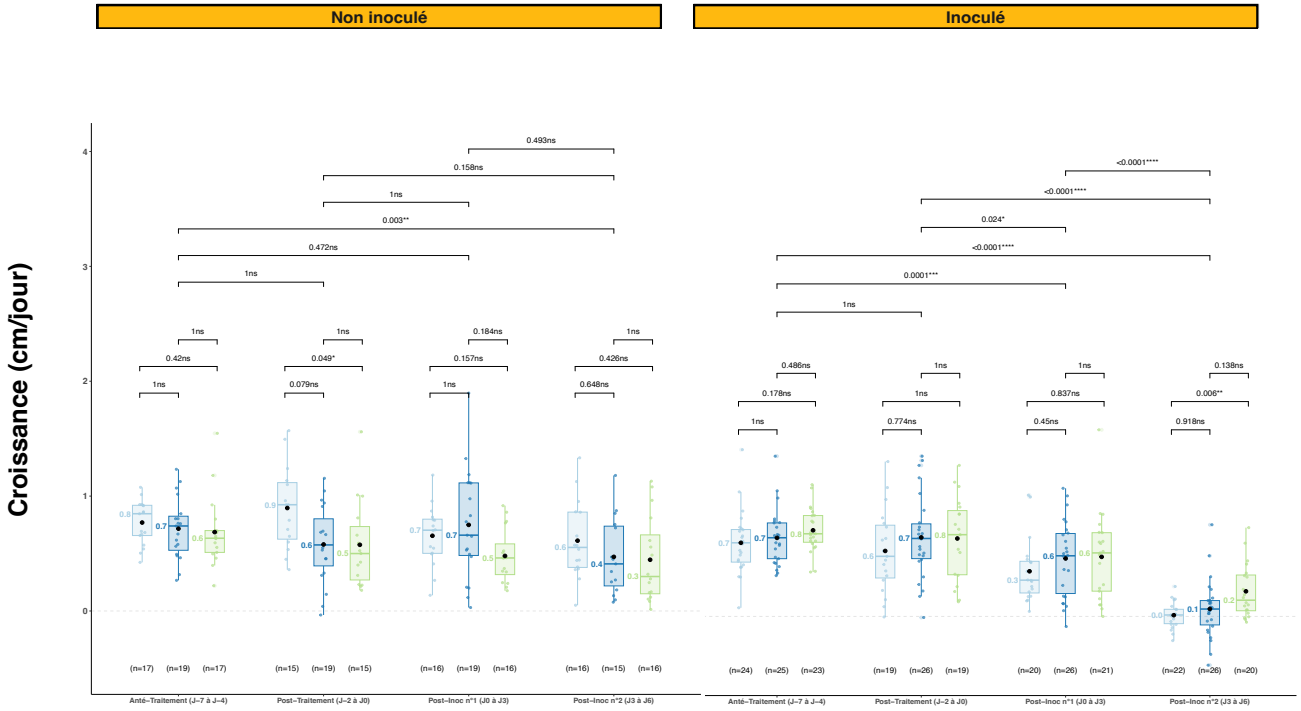


Figure 21 : Effet du Bion ou d'un ratio R/FR élevé sur la croissance en hauteur de semis de pommier Golden delicious inoculés ou non avec *Erwinia amylovora*

A) Évolution de la hauteur des plantes (cm) de J-21 à J21
B) Vitesse de croissance (cm/jour) des plantes mesurées sur plusieurs intervalles : J-7 à J-4 (Anté-Traitement) ; J-2 à J0 (Post-Traitement) ; J0 à J3 (Post-Inoc n°1); J3 à J6 (Post-Inoc n°2)

résultats de l'incidence avec une réduction par le Bion ou le traitement RL00. Cependant, ces tendances ne sont pas significatives. Nous avons utilisé un test non paramétrique car la distribution des données était plutôt bimodale, en lien avec les individus sains, les nécroses sur nervure et sur pétiole respectivement assignées à 0, 0,5 et 1 cm. Il conviendrait de refaire ces tests en s'intéressant uniquement aux nécroses sur tige et en utilisant un test paramétrique.

Enfin, l'AUDPC a également révélé une tendance similaire, sans significativité démontrée. Les valeurs médianes de l'AUDPC pour le groupe témoin, le lot RL00 et le groupe traité au Bion sont respectivement de 79, 32 et 19 (Figure 12C).

Analyse de la croissance

Nous avons ensuite effectué des analyses de croissance. Une comparaison des mesures à la règle et avec ImageJ a montré d'excellents niveaux de corrélation, supérieurs à 0.96 à J0 et J7 (Annexe I).

La figure 13A illustre l'évolution de la hauteur moyenne de la tige des plantes, qu'elles soient inoculées ou non, de J-21 à J21, pour les différentes modalités. Les mesures après J7 ont été réalisées uniquement manuellement avec une règle, et non avec le logiciel ImageJ, car certaines plantes, en particulier les plantes non inoculées, sortaient du champ de la caméra. Les dynamiques de croissance des plantes inoculées et non inoculées apparaissent similaires, quel que soit le traitement, avec une évolution de type sigmoïde. Les plantes non inoculées montrent un fort ralentissement de leur croissance après J14. Cela peut être causé par plusieurs facteurs, tels que le stade physiologique avancé des plantes, entraînant un ralentissement de la croissance de la tige principale au profit des rameaux secondaires (déjà observés dès J3 sur certaines plantes). Les plantes inoculées présentent également ce ralentissement de croissance mais de manière beaucoup plus marquée. Ceci s'explique par le fait qu'un grand nombre de plantes sont déjà gravement atteintes par le feu bactérien à ce stade de l'expérimentation (Figure 12A).

Pour les plantes inoculées ou non, il n'y a pas de différence significative de hauteur de tige avant l'application des traitements ce qui est rassurant sur le dispositif expérimental (Figure 13A). Néanmoins, le groupe RL00 non inoculé montre une tendance à une hauteur de tige plus élevée (+ 2 cm) par rapport aux autres groupes juste avant le traitement à J-3, ce qui incite à la prudence dans la comparaison de la taille finale. Il semble que l'augmentation du ratio R/FR (lot RL00) entraîne une augmentation de la hauteur moyenne des plantes à J21, atteignant environ 24 cm contre seulement 21 cm pour le lot témoin. Or ce phénotype est au contraire habituellement rencontré lors d'une diminution du ratio R/FR. Les plantes non inoculés et traités avec le Bion présentent une hauteur plus faible que le lot témoin avec une hauteur moyenne de seulement 19 cm soit un écart de moins de

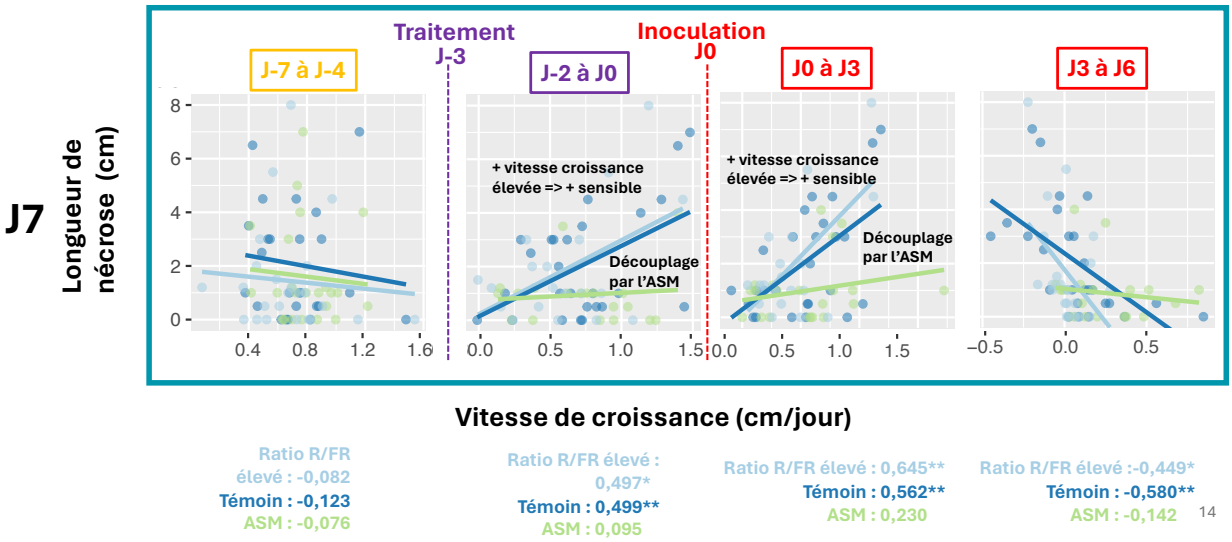


Figure 22 : Corrélation entre la vitesse de croissance des plantules de pommiers et la longueur de nécrose à J7 pour les trois traitements : lot témoin (Eau+RL68), lot avec un ratio R/FR élevé (Eau+RL68), lot traité au Bion (Bion+RL68)

Les vitesse de croissance (cm/jour) des plantes sont mesurées sur plusieurs intervalles : J-7 à J-4 (Anté-Traitement) ; J-2 à J0 (Post-Traitement) ; J0 à J3 (Post-Inoc n°1); J3 à J6 (Post-Inoc n°2). Chaque point correspond à un individu. Les individus témoins (Eau+RL68) sont en bleu foncé, les individus exposés à un ratio R/FR élevé en bleu clair, et ceux traités au Bion (Bion+RL68) (ASM) en vert.

2 cm. Ces résultats sont à prendre avec du recul en raison du nombre relativement faible d'individus par condition (n ≈ 20), sachant que la population de plantules issus de semis est génétiquement hétérogène. Concernant les lots inoculés, les différents traitements n'induisent pas de variation significative de hauteur de tige à J21 avec une hauteur moyenne d'environ 16,5 cm pour le lot RL00, 17,5 pour le témoin eau, et 18,5 pour le lot RL00.

Des analyses focalisées sur la vitesse de croissance de tige (s'affranchissant du biais potentiel lié à la hauteur initiale des plantes) ont également été réalisées (Figure 13B). Que ce soit pour les lots non inoculés ou inoculés, une diminution globale de la vitesse de croissance des trois conditions est observée entre les mesures effectuées avant le traitement (J-7 à J-4) et celles calculées dans l'intervalle J3 à J6 : par exemple, le témoin eau passe d'une vitesse de croissance médiane de 0,7 cm/jour à seulement à 0,3 cm/jour pour le lot non inoculé et 0,1 cm/jour pour le lot inoculé. L'inoculation réduit la vitesse de croissance de l'ensemble des 3 conditions.

Si l'on regarde les lots inoculés, ni le Bion ni la réduction du rouge lointain n'induisent de variation dans la vitesse de croissance de tige par rapport au témoin juste après le traitement (Post-Traitement, J-2 à J0). La même observation est effectuée juste après l'inoculation (Post-Inoc n°1, J0 à J3) pour le traitement au Bion, mais pas pour le lot RL00 chez lequel on retrouve une diminution de la vitesse de croissance qui est de 0,3 cm/ jour contre 0,6 cm/ jour chez le témoin. Bien que cette observation ne soit pas significative, il semblerait y avoir une interaction entre l'inoculation et l'application d'un faible ratio FR/R puisqu'il n'induit cette réduction de la croissance que lorsque les plantes sont inoculées. Sur l'intervalle Post-Inoc n°2, J3 à J6, certaines vitesses de croissance apparaissent légèrement négatives, en lien avec le flétrissement de la plante sous l'effet de la bactérie. Il est intéressant de mentionner que les individus possèdent une variabilité de vitesse intra-groupe assez importante allant d'environ 0,4 cm/jour à près de 1,2 cm/jour avant tout contact avec la bactérie. Nous allons tirer parti de cette variabilité dans la partie suivante.

Analyse comparée de la vitesse de croissance et de la sévérité des symptômes

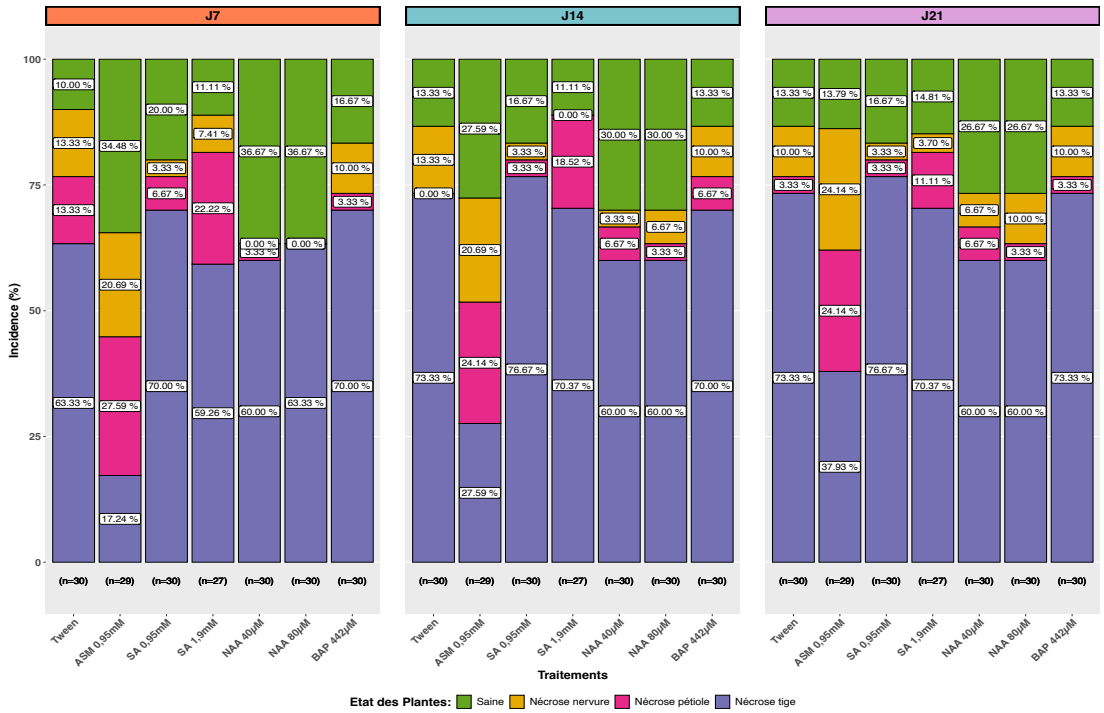
Dans un troisième temps, nous sommes passés à l'échelle de la plante individuelle pour tester les corrélations entre les différentes variables de croissance : Antérieur au Traitement (J-7 à J-4) ; Post Traitement (J-4 à J0) ; Post Inoculation n°1 (J0 à J3) et Post Inoculation n°2 de (J3 à J6) et de sévérité des symptômes (taille de nécrose) de chacun de ces individus à J7 pour chacun des 3 lots de plantes : lot appauvri en RL (eau + RL00), lot témoin (eau + RL68) et lot traité au bion (bion + RL68) (figure 14).

Nous pouvons voir que la croissance des plantes Anté-traitement (de J-7 à J-4) n'est pas corrélée à la sévérité des symptômes 7 jours après l'inoculation (corrélation proche de 0 dans chacun des lots de plantes). Cela signifie que la vitesse à ce stade n'est pas un bon estimateur de la sévérité 7 jours après l'inoculation. Au contraire à un intervalle de temps plus proche de l'inoculation (post-traitement, de J-4 à J0) nous pouvons voir que la vitesse de croissance post-traitement est fortement corrélé avec la sévérité pour les individus témoins traité à l'eau et les individus exposés au RL (environ 0,5), tandis que pour les plantes traitées au bion cela n'est pas significatif (avec une corrélation de 0,1). Ceci signifie que les plantes ayant une vitesse de croissance la plus rapide juste avant l'inoculation sont celles qui sont les plus sévèrement atteintes, illustrant un compromis croissance-défense, sauf en présence de bion qui découple cette relation. La même observation peut être faite entre la croissance post-inoculation et la sévérité à J7. Ces résultats ne sont plus observés à J14 et J21 (données non présentées), suggérant que la sévérité des symptômes à mesure que l'infection progresse est de moins en moins liée aux conditions initiales.

2°) Criblage de phytohormones pour l'étude du compromis croissance-défense

Dans une seconde expérience, nous avons voulu tester la capacité de différents analogues hormonaux pour moduler la croissance et la défense de semis de pommier lors de leur interaction avec *Erwinia amylovora*. Nous avons sélectionné différents produits dont des analogues de phytohormones de croissances tel que le NAA (analogue de l'auxine), le BAP (analogue de cytokinine) ainsi que l'acide salicylique, l'hormone majeure de la défense. Deux concentrations ont été testées pour le NAA et le SA, afin d'évaluer un potentiel effet dose. Il aurait été bien évidemment intéressant d'effectuer des gammes de concentration plus larges et cela avec l'ensemble des molécules, mais cela n'aurait pas été réalisable dans le cadre d'un stage de 6 mois. Le Bion contenant de l'ASM, analogue fonctionnel du SA, a été utilisé comme témoin positif. Il nous a ainsi paru intéressant de comparer l'effet de ces deux produits à concentration similaire, soit à 0,95mM : concentration recommandée pour un effet de protection du Bion (la même concentration a été utilisé pour la première expérimentation). Le Bion étant un produit déjà formulé, nous avons également souhaité tester l'effet du SA à une dose deux fois plus importante, soit 1,9mM. A noter que contrairement à la première expérimentation deux applications ont été réalisées : à J-4 et J-1 (contre une seule application du Bion à J-3 pour l'expérimentation dans PhenoBean). En effet, en l'absence de connaissances préalables sur la dynamique des effets de ces différentes molécules sur des semis de pommier, nous avons souhaité optimiser nos chances d'observer des phénotypes de croissance et/ou de protection en procédant à deux applications pré-inoculation. Nous avons travaillé en conditions de serre, l'utilisation de PhenoBean n'étant pas adaptée à ce criblage.

A)



B)

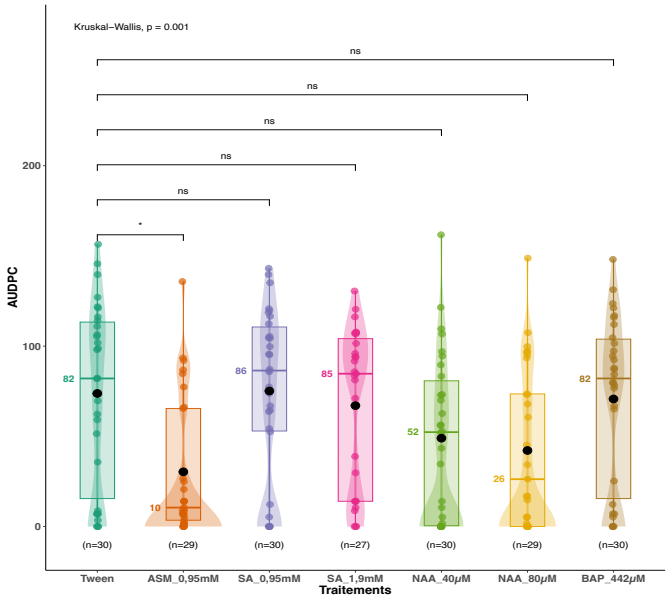


Figure 23 : Effet de l'application de différents analogues hormonaux sur la résistance de semis de pommier Golden delicious inoculés avec *Erwinia amylovora.*

A) Incidence du feu bactérien mesurée 7, 14 et 21 jours après l'inoculation d'*Erwinia amylovora* sur différents lots de semis de pommier Golden Delicious traités par applications foliaires avec des analogues hormonaux à 4 et 1 jours avant l'inoculation.

B) AUDPC du feu bactérien sur semis de pommier traités par applications foliaires avec des analogues hormonaux. L'AUDPC a été calculé à partir des mesures de longueurs de nécroses 7, 14 et 21 jours après l'inoculation de la bactérie

Analyse des symptômes du feu bactérien

Comme pour la première expérimentation, nous avons testé l'effet des différents traitements sur la résistance face à Erwinia amylovora 7, 14 et 21 jours après l'inoculation (figure 15). Une semaine après l'inoculation nous pouvons remarquer que le témoin Tween ne possède déjà plus que 10 % d'individus sain, avec déjà près de 60% des plantes qui présentent des nécroses ayant progressé jusqu'à la tige. Le traitement au Bion (ASM) possède quant à lui plus 34% d'individus sains et uniquement 17% d'individus avec des nécroses sur la tige. Nous pouvons remarquer que le traitement de SA à 0,95 mM bien qu'appliqué à la même concentration que son analogue fonctionnel l'ASM, ne possède pas le même effet protecteur. En effet, bien qu'il semble augmenter la proportion d'individus sains (20%) par rapport au Tween (10%), celui-ci n'atteint pas les 30% du traitement au Bion. Par ailleurs, ce traitement avec le SA à 0,95 mM possède près de 70% d'individus avec 70% de nécrose sur tige contre 17% pour le traitement contenant de l'ASM. Contrairement à la dose de 0,95 mM, le traitement avec du SA à une concentration deux fois plus importante (1,9 mM) ne semble pas augmenter la proportion d'individus sains à J7 (uniquement 11%). En revanche, pour les deux traitements avec le NAA (à 40 µM et 80 µM) que malgré la non-diminution d'individu présentant des nécroses sur tiges (≈ 60%) par rapport au témoin tween (60%), ceux-ci augmentent drastiquement le taux d'individus sains avec près de 36%, un niveau similaire au traitement Bion (34%). Enfin, toujours 7 jours après l'inoculation, nous remarquons que le BAP à la concentration testée de 442 µM ne semble globalement pas avoir de protection puisqu'il possède 16% d'individus sain et 70% de nécrose sur tige. Deux et trois semaines après l'inoculation d'Ea, les symptômes continuent d'augmenter pour les différents lots. La plus faible concentration de SA ne semble plus avoir d'effet visible sur l'incidence à J14 et J21 par rapport au témoin Tween. A J21 le lot traité au Bion possède un taux similaire d'individus présentant des symptômes (nécrose nervure, pétiole ou tige), soit près de 86% mais avec uniquement 38% de passage sur tige contre 73 % pour le témoin Tween. Le NAA montre un effet protecteur différent, avec 26% d'individus sains contre 13% pour le témoin tween ou le Bion. Ces résultats sont en concordance avec ceux de l'AUDPC. La valeur médiane de l'AUDPC du témoin Tween est de 82 contre seulement 10 pour le traitement au Bion. La plus forte concentration de NAA (80 µM) possède une AUDPC qui descend à 26 contre 52 pour la concentration à 40 µM, malgré le fait qu'elle n'apparaisse pas statiquement différente du témoin. Les deux concentrations de SA et le BAP ne montrent quant à eux aucun effet significatif.

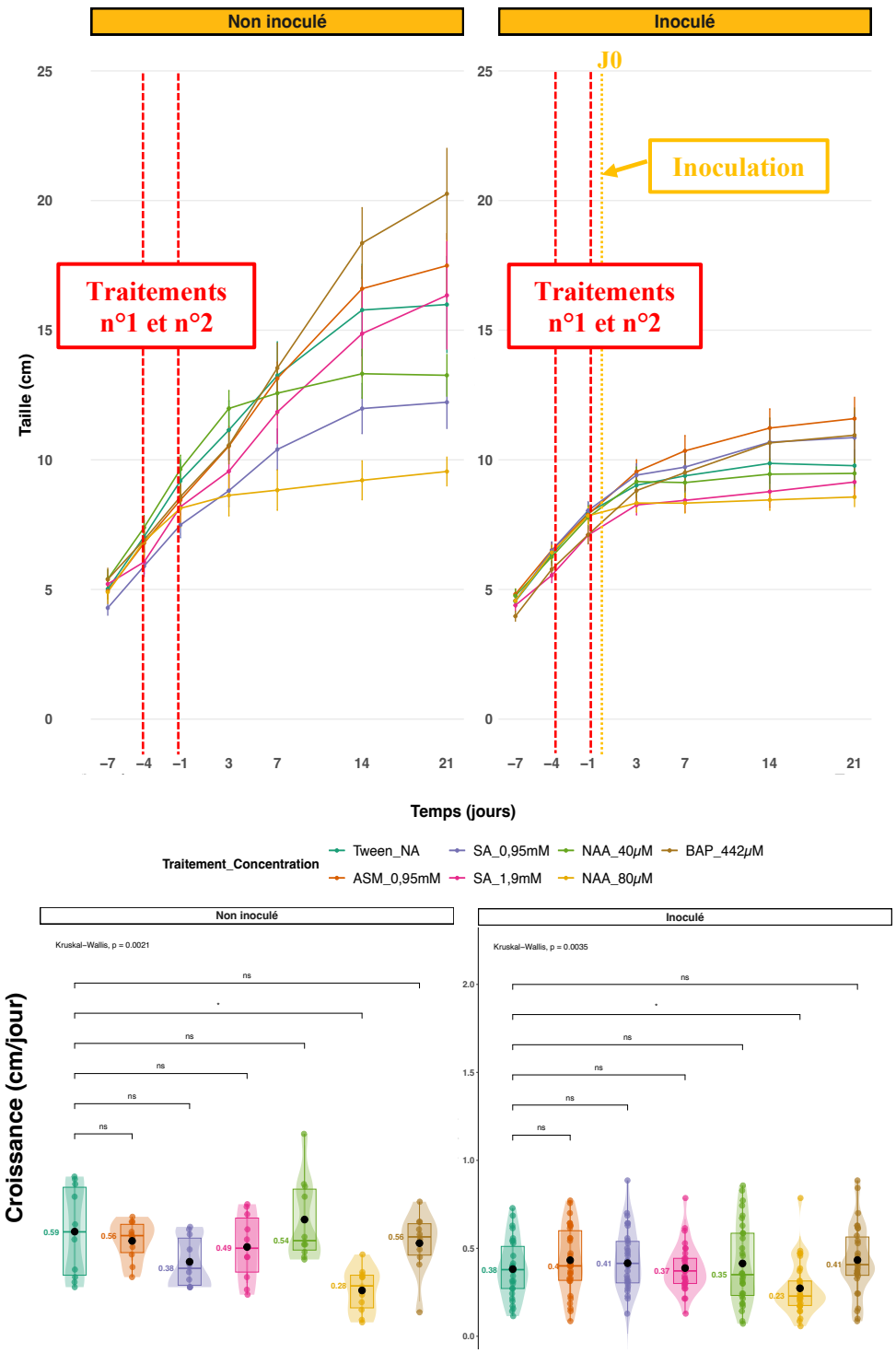


Figure 24 : Effet de différents analogues hormonaux sur la croissance de semis de pommier Golden Delicious inoculés ou non avec *Erwinia amylovora*

A) Suivi temporel de la hauteur de la tige principale de semis de pommiers traités par applications foliaires à J-4 et J-1 avec différents analogues hormonaux, puis inoculés ou non avec *Erwinia amylovora* à J0. Les points représentent la hauteur moyenne d'environ 10 individus pour les plantes non inoculées contre 30 pour les plantes inoculées. Les barres d'erreurs sont également représentées.

B) Vitesse de croissance de la tige principale (cm/jour) calculé sur la période J-4 à J3 de lots de pommier inoculés ou non avec *Erwinia amylovora* à J0, et ayant subi des traitements d'analogues hormonaux par applications foliaires à J-4 et J-1.

Analyse de la croissance

Si l'on s'intéresse désormais à l'effet des différents analogues hormonaux sur la croissance des plantes non inoculées, plusieurs observations se dégagent (figure 16A). Au début de l'expérimentation, la taille des plantes est relativement similaire entre les groupes non inoculés, variant entre 4 et 5,5 cm. À J21, les plantes témoin atteignent environ 16 cm, sans croissance notable de la tige principale au cours de la dernière semaine. Le traitement Bion semble légèrement augmenter la croissance, avec une taille finale moyenne d'environ 17,5 cm. En revanche, la plus faible concentration de SA semble réduire la croissance, avec une taille moyenne d'environ 13 cm, bien que ces plantes aient commencé avec une taille légèrement inférieure à celle des autres groupes. La plus forte concentration de SA ne semble pas différente du témoin. Les deux concentrations de NAA réduisent la croissance de manière dose-dépendante, avec une taille finale de seulement 9,5 cm pour la concentration la plus forte et 13,5 cm pour la plus faible. Le BAP, en revanche, accélère la croissance, avec une taille finale d'environ 20 cm.
En examinant la taille finale des plantes inoculées, le traitement Bion montre la plus grande taille, tandis que la plus forte concentration de NAA présente la plus faible taille.

Lors de l'examen de la vitesse de croissance encadrant les traitements (figure 16B) (des plantes inoculées ou non), parmi l'ensemble des traitements nous constatons que seule la concentration de 80 µM de NAA réduit la croissance.

Analyse comparée de la vitesse de croissance et de la sévérité des symptômes

Enfin, nous avons cherché à regarder si la corrélation entre la croissance pré-inoculation et la sévérité des symptômes précoces, obtenue dans l'expérimentation PhenoBean et découplée par le Bion, était également observée en serre. Nous nous sommes donc intéressés à la corrélation entre la sévérité des symptômes à J7 et la croissance pendant la période encadrant les deux traitements et la phase immédiatement consécutive à l'inoculation (J-4 à J3). De manière décevante, nous n'avons pas retrouvé de corrélation positive chez le témoin, et aucune des hormones n'induisait une réponse notablement différente (figure 17).

Notons toutefois que dans cette expérience, l'environnement n'est pas totalement contrôlé, et que la taille des plantes au moment de l'inoculation est d'environ 7,5 cm, alors que dans l'expérience avec PhenoBean, elle était de 15cm (figure 16A). Ces conditions expérimentales différentes ont pu concourir à l'hétérogénéité des résultats entre les deux expérimentations.

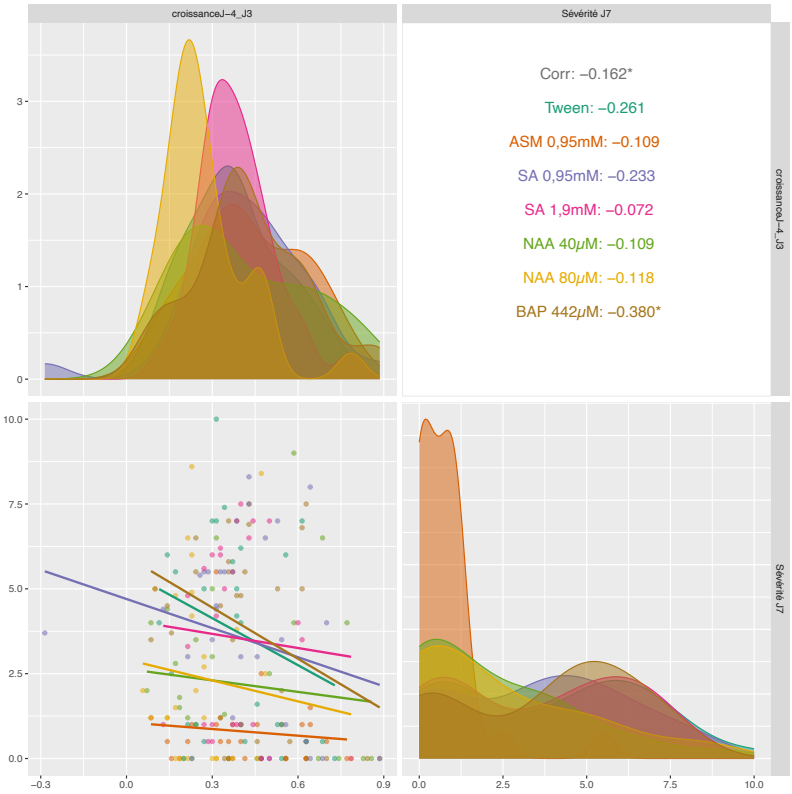


Figure 26 : Distributions et corrélation de la longueur de nécrose 7 jours après l'inoculation avec *Erwinia amylovora* et la croissance de longueur de tige entre J-4 et J3 des différents lots de semis de pommier traités avec des analogues hormonaux à J4 et J-1

Les vitesse de croissance (cm/jour) des plantes mesurées sur plusieurs intervalles : J-7 à J-4 (Anté-Traitement) ; J-2 à J0 (Post-Traitement) ; J0 à J3 (Post-Inoc n°1); J3 à J6 (Post-Inoc n°2).
La sévérité des symptômes correspond à la longueur de nécrose (cm)

Discussion

1°) Vers un phénotypage du compromis croissance-défense dans l'automate PhenoBean

L'utilisation d'un robot pour suivre avec précision la croissance des plantes s'est avérée une avancée prometteuse, permettant un meilleur contrôle de la croissance par rapport aux conditions de serre soumises à des variations environnementales. Cependant, cette technologie n'est pas sans défis. Lors de cette expérimentation test dans PhenoBean, plusieurs limites techniques ont été identifiées.

Au début de l'expérimentation, une seule face de chaque pommier était photographiée, posant des problèmes de mesure liés à la nature tridimensionnelle de la croissance du pommier, i.e. lorsque la plante s'éloignait du plan imagé ou lorsque la plus jeune feuille déployée cachait l'apex suivi pour la mesure de hauteur de tige. Pour pallier ce problème, nous avons décidé de prendre trois vues par pot. Ces paramètres caméras n'existant pas encore dans le robot, il a fallu les définir manuellement. Ce changement a augmenté la probabilité d'avoir une vue où l'apex est correctement visible, permettant une mesure plus précise de la hauteur des plantes. De plus, la croissance rapide des plantes dans le robot a parfois compliqué le suivi et l'analyse des données, avec des plantes qui sortaient du champ de la caméra. La multiplicité des problèmes techniques initiaux nous a forcés à réaliser l'inoculation sur des plantes à un stade physiologique plus avancé qu'habituellement dans l'équipe. Un autre défi rencontré était que certaines plantes avaient tendance à ployer sous l'effet de l'application des traitements, ce qui compliquait le suivi de la croissance le jour du traitement (J-3). Par conséquent, nous avons décidé d'ignorer les mesures réalisées ce jour-là. Des tuteurs ont alors été placés sur ces plantes dès le lendemain. Enfin les plantes les plus grandes voisines d'une plante focale tendaient à masquer notre champ en vue latérale, empêchant l'exploitation de certaines images. L'ensemble de ces données incite à travailler sur des stades plus précoces à l'avenir. En résolvant les problèmes de capture d'image, de gestion des données et de croissance des plantes, nous pourrions maximiser l'efficacité et la précision de cette technologie innovante pour la caractérisation de la croissance du pommier.

Ainsi malgré ces difficultés rencontrées, nous avons tout de même réussi à caractériser la hauteur des plantes en utilisant le logiciel ImageJ – uniquement pour faciliter la gestion des images et l'enregistrement des données (i.e. pas pour faire de la segmentation automatique). Pour notre expérimentation, nous avons réalisé plus de 2700 mesures pour 150 individus, ce qui a pris plus de 30 heures. Cette approche reste intéressante pour des intervalles proches de l'inoculation. Cependant, il serait avantageux de développer ou d'adapter un système automatisé, par exemple, basé sur des algorithmes de détection d'objets, comme cela a déjà été réalisé par (Hu *et al.*, 2023) pour mesurer la hauteur des plantes et même la longueur des entre-nœuds. Il est encourageant d'observer des

différences phénotypiques entre les différentes conditions de traitement en se concentrant uniquement sur la hauteur globale des plantes. Néanmoins, il pourrait être encore plus intéressant de se focaliser sur les derniers phytomères pour obtenir des informations supplémentaires. A terme, on aimerait pouvoir reconstruire la croissance de plante en 3D grâce à la caméra de profondeur et la robotique disponible dans PhenoBean, comme d'autres auteurs l'ont fait chez le maïs à partir d'un cylindre d'images RGB (Daviet *et al.*, 2022)

Il serait également pertinent de ne pas seulement suivre la vitesse de croissance des plantes, mais aussi la progression des symptômes. L'exploitation des vues zénithales pour les symptômes précoces le long de la nervure centrale, puis des vues latérales pour la progression de la nécrose sur tige, pourrait se montrer intéressantes. Néanmoins, nous n'avons pas eu le temps dans ce stage d'évaluer la possibilité de la faire ne serait-ce que manuellement en notant les images.

Au bilan, le développement d'un pipeline autour du robot PhenoBean permettrait de prendre en considération la dynamique des caractères d'intérêt, ce qui serait intéressant pour l'analyse du compromis croissance-défense.

2°) La biologie du compromis croissance-défense

Ce qu'on entend par compromis croissance-défense n'est pas toujours clair. Il existe une certaine ambiguïté quant aux enchaînements temporels des deux variables étudiées : la vitesse de croissance des plantes et leur sensibilité aux infections. Plusieurs scénarios sont possibles :

- 1. la vitesse de croissance est-elle un facteur de sensibilité a priori ?
- 2. les plantes freinent-elles leur croissance en réponse simultanée à une infection ?
- 3. la réduction de la croissance est-elle due à la maladie, a posteriori ?

Il est possible que ces trois processus se succèdent et se chevauchent pour mener à ce que l'on appelle le "compromis croissance-défense". Aussi les approches expérimentales pour mettre en évidence ces différentes options sont délicates à implémenter.

Dans cette étude, nous nous sommes principalement intéressés à caractériser le compromis entre deux variables : la vitesse de croissance des tiges des semis de pommier et la résistance à *Erwinia amylovora* afin de vérifier le premier point. A l'aide du robot, nous avons observé une corrélation suggérant un "compromis croissance-défense" dans lequel la croissance pré-inoculation serait un facteur de sensibilité. Le Bion, connu pour activer les défenses, découple cette relation, ce qui suggère que quand les défenses sont enclenchées, le facteur de sensibilité "croissance" passe au

second plan. Nous n'avons pas observé ces résultats dans notre seconde expérimentation en serre, où les conditions (environnement, stade phénologique) ont pu faire varier l'état physiologique de la plante et le stade physiologique n'est pas le même. Ces conditions expérimentales différentes ont pu concourir à l'hétérogénéité des résultats entre les deux expérimentations. Il conviendra de consolider cette relation grâce à de nouvelles expérimentations dans PhenoBean.

Comme attendu, le traitement au Bion (ASM), analogue fonctionnel du SA, a induit une protection en réduisant la propagation du pathogène sur la tige. Il était globalement plus efficace dans la seconde expérimentation que dans la première, suggérant un effet des facteurs environnementaux dans l'efficacité du Bion. Cette interaction entre facteurs abiotiques et efficacité du Bion a déjà été observée dans l'équipe en réponse à la température et à la fertilisation azotée, et fait l'objet de deux thèses actuellement. Au-delà de son rôle sur les défenses, le Bion est également connu modifier la croissance de différents organes chez certaines espèces. Chez *Arabidopsis thaliana*, quatre applications successives de Bion à 35 µM en 10 jours induisent une diminution de la croissance de rosette de 50% (Canet *et al.*, 2010). Dans nos deux expérimentations, nous n'avons pas observé de modification de croissance par une ou deux applications de Bion à concentration beaucoup plus forte (0,95 mM). Il conviendrait d'effectuer des courbes de réponse en faisant varier la concentration et le nombre d'applications. Notons que dans les essais en verger conduit à l'UEH, le Bion est pulvérisé en cadence hebdomadaire sur toute la saison à risque de contamination par la tavelure.

Le SA est connu pour induire également cette réduction de croissance. Dans nos différentes expérimentations nous n'avons pas réussi à mettre en évidence ce phénomène. Par ailleurs, seule la plus forte dose de SA, deux fois plus concentré que l'ASM a permis d'induire un effet de protection contre *Erwinia amylovora* et cela uniquement durant la semaine qui suit l'infection. Ces molécules bien que très proches structurellement pourraient ne pas agir exactement sur les mêmes voies de signalisation chez le pommier. De plus, il ne faut pas oublier que le Bion contenant de l'ASM est un produit formulé, pouvant expliquer sa meilleure efficacité apparente par rapport au SA.

Parmi les produits étudiés dans la seconde expérimentation, seul le BAP, analogue fonctionnel de cytokinine, a eu un effet positif sur la croissance (et le débourrement axillaire) des plantes non inoculées, confirmant les résultats d'une expérimentation préliminaire au cours de laquelle nous avions également identifié un rôle promoteur de croissance pour GA (non-montré). Nos observations sont cohérentes avec le rôle positif des CK sur la croissance aérienne et la ramification(Kieber and Schaller, 2018; Li *et al.*, 2021). Il semble néanmoins que l'effet du BAP ne soit pas instantané puisqu'il a fallu une dizaine de jours après le premier traitement pour voir un effet sur la croissance. Cela suggère que l'application du BAP devra se faire bien en amont du traitement si l'on souhaite jouer sur cette molécule pour augmenter la croissance des plantes peut avant ou après l'inoculation

et ainsi modifier potentiellement le compromis croissance-défense (BAP ne modifiant pas la résistance des plantules de pommier à *Erwinia amylovora*).

L'autre analogue d'hormone de croissance testé est le NAA, analogue fonctionnel de l'auxine qui contenu dans le Rhodofix, produit habituellement utilisé comme éclaircisseur dans les vergers. Celui-ci ne montre pas d'augmentation de la croissance des plantes comme cela pourrait être attendu. Mais au contraire celui-ci induit une réduction de la croissance des tiges avec un effet dose : plus la concentration est importante plus on observe une réduction de la taille des plantes. A noter que celui-ci entraine un phénotype présentant un enroulement des feuilles, et les nouvelles feuilles apparues après le traitement sont de plus petite taille (non montré). Peut-être que la concentration utilisée est trop importante pour la plante devenant ainsi « phytotoxique ». Par ailleurs, les plantes traitées au NAA présente une plus forte résistance face à *Erwinia amylovora* en augmentant significativement la proportion d'individus sains. Cette observation avait déjà été fait dans l'équipe (Dugé de Bernonville *et al.*, 2014; Marolleau *et al.*, 2017). Mais contrairement au Bion qui induit une résistance accrue en induisant un ralentissement de la progression de la bactérie, le traitement NAA semble plutôt limiter les phases précoces d'installation de la bactérie. Ce produit qui agit à la fois sur la croissance et la défense apparaît comme le meilleur candidat pour un phénotypage plus approfondi dans le robot.

L'augmentation du ratio R/FR a des effets similaires à celui du Bion, en cohérence avec la littérature (Ballaré, 2014). Il a induit une augmentation de la résistance des plantes face à *Erwinia amylovora*. Bien qu'une réduction de taille fût également attendue en l'absence de FR, notre traitement ne semble pas avoir influencé la croissance des plantes non inoculées, En revanche, lorsque les plantes étaient inoculées, une chute rapide de la croissance a été observée sous ce traitement, suggérant une possible interaction entre la perception du pathogène et l'appauvrissement en rouge lointain. Ceci pourrait faire écho à notre deuxième point du compromis croissance-défense qui pourrait être une capacité des plantes à freiner leur croissance en réponse simultanée à une infection. Pour vérifier ces hypothèses, il serait pertinent de réaliser des analyses transcriptionnelles des voies de défense du pommier avec les échantillons prélevés le jour de l'inoculation (J0), mais également réaliser une nouvelle expérimentation pour une analyse pendant la période post-inoculation (J0-J3) pour observer les mécanismes de reconnaissance et de défense induite. Tester les conditions inverses en enrichissant en FR pour mimer un couvert dense et voir si cela augmente la sensibilité des plantes serait également intéressant.

Ces résultats soulignent l'importance de continuer à explorer les interactions complexes entre les conditions environnementales, les traitements appliqués et les mécanismes de défense des plantes.

Conclusion et perspectives

L'expérimentation avec le robot PhenoBean a révélé des défis techniques tout en démontrant le potentiel de cette technologie pour le suivi précis du compromis entre croissance et défense. L'étude a montré que la croissance rapide des plantules de pommier avant l'inoculation est un facteur de sensibilité à *Erwinia amylovora*, ce qui suggère un compromis entre croissance et défense. Bien que le traitement au Bion n'ait pas offert une protection réellement efficace aux plantes, probablement en raison des conditions environnementales et du stade de développement de ces dernières, il semble avoir permis de dissocier ce compromis. Un criblage en serre avec différents analogues hormonaux a révélé que l'application foliaire d'un analogue de l'auxine (NAA), une hormone de croissance, est le meilleur candidat pour un phénotypage plus approfondi avec le robot PhenoBean afin de manipuler ce compromis. En effet, l'utilisation de NAA à 40 et 80 µM a induit une réduction de la croissance tout en augmentant la résistance à *Erwinia amylovora*. De plus, l'augmentation du ratio R/FR semble avoir amélioré la résistance des plantes, bien que cette amélioration ne soit pas significative. Il paraît donc intéressant de poursuivre l'étude de l'effet de la qualité et de la quantité de lumière sur le compromis croissance-défense. À terme, il serait bénéfique de développer un système automatisé pour la mesure de la hauteur des plantules et d'explorer des approches tridimensionnelles pour reconstruire la croissance des plantes. De plus, il est pertinent de suivre non seulement la croissance des plantes mais aussi la progression des symptômes pour une compréhension plus complète du compromis croissance-défense. En conclusion, cette étude met en lumière la complexité du compromis croissance-défense et l'importance d'une approche intégrative, combinant des techniques de phénotypage innovantes et des analyses détaillées des interactions environnementales et physiologiques. La poursuite de ces recherches pourrait offrir des stratégies efficaces pour améliorer la résistance des cultures tout en optimisant leur croissance.

BIBLIOGRAPHIE

Aerts, N., Pereira Mendes, M. and Van Wees, S.C.M. (2021) Multiple levels of crosstalk in hormone networks regulating plant defense. *The Plant Journal*, **105**, 489–504.

Ballaré, C.L. (2014) Light Regulation of Plant Defense. *Annual Review of Plant Biology*, **65**, 335–363.

Ballaré, C.L. and Austin, A.T. (2019) Recalculating growth and defense strategies under competition: key roles of photoreceptors and jasmonates. *Journal of Experimental Botany*, **70**, 3425–3434.

Ballaré, C.L. and Pierik, R. (2017) The shade-avoidance syndrome: multiple signals and ecological consequences. *Plant, Cell & Environment*, **40**, 2530–2543.

Bao, Y.-J., Chen, J.-X., Zhang, Y., Fernie, A.R., Zhang, J., Huang, B.-X., Zhu, F.-Y. and Cao, F.-L. (2024) Emerging role of jasmonic acid in woody plant development. *Advanced Agrochem*, **3**, 26–38.

Berens, M.L., Berry, H.M., Mine, A., Argueso, C.T. and Tsuda, K. (2017) Evolution of Hormone Signaling Networks in Plant Defense. *Annual Review of Phytopathology*, **55**, 401–425.

Binder, B.M. (2020) Ethylene signaling in plants. *Journal of Biological Chemistry*, **295**, 7710–7725.

Boyer, J.S. (1982) Plant Productivity and Environment. *Science*, **218**, 443–448.

Brisset, M.-N., Cesbron, S., Thomson, S.V. and Paulin, J.-P. (2000) Acibenzolar-S-methyl Induces the Accumulation of Defense-related Enzymes in Apple and Protects from Fire Blight. *European Journal of Plant Pathology*, **106**, 529–536.

Buti, S., Pantazopoulou, C.K., Gelderen, K. van, Hoogers, V., Reinen, E. and Pierik, R. (2020) A Gas-and-Brake Mechanism of bHLH Proteins Modulates Shade Avoidance. *Plant Physiology*, **184**, 2137–2153.

Butselaar, T. van and Ackerveken, G.V. den (2020) Salicylic Acid Steers the Growth–Immunity Tradeoff. *Trends in Plant Science*, **25**, 566–576.

Campos, M.L., Yoshida, Y., Major, I.T., et al. (2016) Rewiring of jasmonate and phytochrome B signalling uncouples plant growth-defense tradeoffs. *Nat Commun*, **7**, 12570.

Canet, J.V., Dobón, A., Ibáñez, F., Perales, L. and Tornero, P. (2010) Resistance and biomass in Arabidopsis: a new model for Salicylic Acid perception. *Plant Biotechnology Journal*, **8**, 126–141.

Cao, H., Glazebrook, J., Clarke, J.D., Volko, S. and Dong, X. (1997) The Arabidopsis NPR1 gene that controls systemic acquired resistance encodes a novel protein containing ankyrin repeats. *Cell*, **88**, 57–63.

Chavonet, E. (2022) *Caractérisation d'un effecteur de résistance du pommier à Erwinia amylovora induit par un stimulateur de défenses des plantes (ASM), et étude de l'impact de la chaleur sur l'efficacité du traitement*. phdthesis. Université d'Angers.

Chen, J., Zhang, J., Kong, M., Freeman, A., Chen, H. and Liu, F. (2021) More stories to tell: NONEXPRESSOR OF PATHOGENESIS-RELATED GENES1, a salicylic acid receptor. *Plant,*

Cell & Environment, **44**, 1716–1727.

Cohen, J.D. and Strader, L.C. (2024) An auxin research odyssey: 1989–2023. *The Plant Cell*, **36**, 1410–1428.

Davière, J.-M. and Achard, P. (2013) Gibberellin signaling in plants. *Development*, **140**, 1147–1151.

Daviet, B., Fernandez, R., Cabrera-Bosquet, L., Pradal, C. and Fournier, C. (2022) PhenoTrack3D: an automatic high-throughput phenotyping pipeline to track maize organs over time. *Plant Methods*, **18**, 130.

Depuydt, S. and Hardtke, C.S. (2011) Hormone signalling crosstalk in plant growth regulation. *Curr Biol*, **21**, R365-373.

Dugé De Bernonville, T., Gaucher, M., Flors, V., Gaillard, S., Paulin, J.-P., Dat, J.F. and Brisset, M.-N. (2012) T3SS-dependent differential modulations of the jasmonic acid pathway in susceptible and resistant genotypes of *Malus* spp. challenged with *Erwinia amylovora*. *Plant Science*, **188–189**, 1–9.

Dugé de Bernonville, T., Marolleau, B., Staub, J., Gaucher, M. and Brisset, M.-N. (2014) Using Molecular Tools To Decipher the Complex World of Plant Resistance Inducers: An Apple Case Study. *J. Agric. Food Chem.*, **62**, 11403–11411.

Fernández-Milmanda, G.L., Crocco, C.D., Reichelt, M., et al. (2020) A light-dependent molecular link between competition cues and defence responses in plants. *Nat. Plants*, **6**, 223–230.

Figueroa-Macías, J.P., García, Y.C., Núñez, M., Díaz, K., Olea, A.F. and Espinoza, L. (2021) Plant Growth-Defense Trade-Offs: Molecular Processes Leading to Physiological Changes. *Int J Mol Sci*, **22**, 693.

Garcion, C., Lohmann, A., Lamodière, E., Catinot, J., Buchala, A., Doermann, P. and Métraux, J.-P. (2008) Characterization and Biological Function of the ISOCHORISMATE SYNTHASE2 Gene of Arabidopsis. *Plant Physiology*, **147**, 1279–1287.

Gasperini, D. and Howe, G.A. (2024) Phytohormones in a universe of regulatory metabolites: lessons from jasmonate. *Plant Physiology*, kiae045.

Groszmann, M., Gonzalez-Bayon, R., Lyons, R.L., Greaves, I.K., Kazan, K., Peacock, W.J. and Dennis, E.S. (2015) Hormone-regulated defense and stress response networks contribute to heterosis in Arabidopsis F1 hybrids. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **112**, E6397–E6406.

Guo, Q., Major, I.T. and Howe, G.A. (2018) Resolution of growth-defense conflict: mechanistic insights from jasmonate signaling. *Curr Opin Plant Biol*, **44**, 72–81.

Gupta, R. and Bar, M. (2020) Plant Immunity, Priming, and Systemic Resistance as Mechanisms for Trichoderma spp. Biocontrol. In A. K. Sharma and P. Sharma, eds. *Trichoderma: Host Pathogen Interactions and Applications*.

Heil, M. and Bostock, R.M. (2002) Induced systemic resistance (ISR) against pathogens in the context of induced plant defences. *Ann Bot*, **89**, 503–512.

Herms, D.A. and Mattson, W.J. (1992) The Dilemma of Plants: To Grow or Defend. *The Quarterly*

Review of Biology, **67**, 283–335.

Hilty, J., Muller, B., Pantin, F. and Leuzinger, S. (2021) Plant growth: the What, the How, and the Why. *New Phytologist*, **232**, 25–41.

Hönig, M., Roeber, V.M., Schmülling, T. and Cortleven, A. (2023) Chemical priming of plant defense responses to pathogen attacks. *Front. Plant Sci.*, **14**.

Hou, S., Thiergart, T., Vannier, N., Mesny, F., Ziegler, J., Pickel, B. and Hacquard, S. (2021) A microbiota–root–shoot circuit favours Arabidopsis growth over defence under suboptimal light. *Nat. Plants*, **7**, 1078–1092.

Hou, X., Lee, L.Y.C., Xia, K., Yan, Y. and Yu, H. (2010) DELLAs Modulate Jasmonate Signaling via Competitive Binding to JAZs. *Developmental Cell*, **19**, 884–894.

Howe, G.A., Major, I.T. and Koo, A.J. (2018) Modularity in Jasmonate Signaling for Multistress Resilience. *Annual Review of Plant Biology*, **69**, 387–415.

Hu, J., Li, G., Mo, H., Lv, Y., Qian, T., Chen, M. and Lu, S. (2023) Crop Node Detection and Internode Length Estimation Using an Improved YOLOv5 Model. *Agriculture*, **13**, 473.

Huang, H., Liu, B., Liu, L. and Song, S. (2017) Jasmonate action in plant growth and development. *Journal of Experimental Botany*, **68**, 1349–1359.

Huot, B., Yao, J., Montgomery, B.L. and He, S.Y. (2014) Growth–Defense Tradeoffs in Plants: A Balancing Act to Optimize Fitness. *Molecular Plant*, **7**, 1267–1287.

Iqbal, N., Khan, N.A., Ferrante, A., Trivellini, A., Francini, A. and Khan, M.I.R. (2017) Ethylene Role in Plant Growth, Development and Senescence: Interaction with Other Phytohormones. *Front. Plant Sci.*, **8**.

Jian, Y., Gong, D., Wang, Z., Liu, L., He, J., Han, X. and Tsuda, K. (2024) How plants manage pathogen infection. *EMBO reports*, **25**, 31–44.

Jones, J.D.G., Staskawicz, B.J. and Dangl, J.L. (2024) The plant immune system: From discovery to deployment. *Cell*, **187**, 2095–2116.

Karasov, T.L., Chae, E., Herman, J.J. and Bergelson, J. (2017) Mechanisms to Mitigate the Trade-Off between Growth and Defense. *The Plant Cell*, **29**, 666–680.

Kazan, K. (2013) Auxin and the integration of environmental signals into plant root development. *Annals of Botany*, **112**, 1655–1665.

Kieber, J.J. and Schaller, G.E. (2018) Cytokinin signaling in plant development. *Development*, **145**, dev149344.

Klessig, D.F., Choi, H.W. and Dempsey, D.A. (2018) Systemic Acquired Resistance and Salicylic Acid: Past, Present, and Future. *MPMI*, **31**, 871–888.

Köster, P., DeFalco, T.A. and Zipfel, C. (2022) Ca2+ signals in plant immunity. *The EMBO Journal*, **41**, e110741.

La Porta, N., Hietala, A. and Baldi, P. (2023) Bacterial diseases in forest trees. In pp. 139–166.

Lajeunesse, G., Roussin-Léveillée, C., Boutin, S., Fortin, É., Laforest-Lapointe, I. and Moffett, P. (2023) Light prevents pathogen-induced aqueous microenvironments via potentiation of salicylic acid signaling. *Nat Commun*, **14**, 713.

Legris, M., Ince, Y.Ç. and Fankhauser, C. (2019) Molecular mechanisms underlying phytochrome-controlled morphogenesis in plants. *Nat Commun*, **10**, 5219.

Legris, M., Klose, C., Burgie, E.S., et al. (2016) Phytochrome B integrates light and temperature signals in Arabidopsis. *Science*, **354**, 897–900.

Leibman-Markus, M., Schneider, A., Gupta, R., Marash, I., Rav-David, D., Carmeli-Weissberg, M., Elad, Y. and Bar, M. (2023) Immunity priming uncouples the growth–defense trade-off in tomato. *Development*, **150**, dev201158.

Li, S.-M., Zheng, H.-X., Zhang, X.-S. and Sui, N. (2021) Cytokinins as central regulators during plant growth and stress response. *Plant Cell Rep*, **40**, 271–282.

Liu, X., Xue, C., Kong, L., Li, R., Xu, Z. and Hua, J. (2020) Interactive Effects of Light Quality and Temperature on Arabidopsis Growth and Immunity. *Plant and Cell Physiology*, **61**, 933–941.

Lorrain, S., Allen, T., Duek, P.D., Whitelam, G.C. and Fankhauser, C. (2008) Phytochrome-mediated inhibition of shade avoidance involves degradation of growth-promoting bHLH transcription factors. *The Plant Journal*, **53**, 312–323.

Lu, Y. and Tsuda, K. (2021) Intimate Association of PRR- and NLR-Mediated Signaling in Plant Immunity. *Mol Plant Microbe Interact*, **34**, 3–14.

Lucas, M. de, Davière, J.-M., Rodríguez-Falcón, M., et al. (2008) A molecular framework for light and gibberellin control of cell elongation. *Nature*, **451**, 480–484.

Majda, M. and Robert, S. (2018) The Role of Auxin in Cell Wall Expansion. *Int J Mol Sci*, **19**, 951.

Marolleau, B., Gaucher, M., Heintz, C., Degrave, A., Warneys, R., Orain, G., Lemarquand, A. and Brisset, M.-N. (2017) When a Plant Resistance Inducer Leaves the Lab for the Field: Integrating ASM into Routine Apple Protection Practices. *Front. Plant Sci.*, **8**.

Mittler, R., Zandalinas, S.I., Fichman, Y. and Van Breusegem, F. (2022) Reactive oxygen species signalling in plant stress responses. *Nat Rev Mol Cell Biol*, **23**, 663–679.

Monson, R.K., Trowbridge, A.M., Lindroth, R.L. and Lerdau, M.T. (2022) Coordinated resource allocation to plant growth–defense tradeoffs. *New Phytologist*, **233**, 1051–1066.

Ngou, B.P.M., Ahn, H.-K., Ding, P. and Jones, J.D.G. (2021) Mutual potentiation of plant immunity by cell-surface and intracellular receptors. *Nature*, **592**, 110–115.

Ngou, B.P.M., Wyler, M., Schmid, M.W., Kadota, Y. and Shirasu, K. (2023) *Evolutionary Trajectory of Pattern Recognition Receptors in Plants*, Plant Biology.

Nguyen, B.-H. (2023) *Impact de la température sur l'efficacité de la stimulation de l'immunité du pommier par le Bion®*. other. Institut de recherche en horticulture et semences (IRHS), 42 rue Georges Morel, BP 60057, 49071 Beaucouzé.

Pasternak, T., Groot, E.P., Kazantsev, F.V., Teale, W., Omelyanchuk, N., Kovrizhnykh, V., Palme,

K. and Mironova, V.V. (2019) Salicylic Acid Affects Root Meristem Patterning via Auxin Distribution in a Concentration-Dependent Manner. *Plant Physiology*, **180**, 1725–1739.

Pedroncelli, A. and Puopolo, G. (2023) This tree is on fire: a review on the ecology of Erwinia amylovora, the causal agent of fire blight disease. *J Plant Pathol*.

Peng, Y., Yang, J., Li, X. and Zhang, Y. (2021) Salicylic Acid: Biosynthesis and Signaling. *Annual Review of Plant Biology*, **72**, 761–791.

Pierik, R. and Ballaré, C.L. (2021) Control of Plant Growth and Defense by Photoreceptors: From Mechanisms to Opportunities in Agriculture. *Molecular Plant*, **14**, 61–76.

Pieterse, C.M.J., Van der Does, D., Zamioudis, C., Leon-Reyes, A. and Van Wees, S.C.M. (2012) Hormonal modulation of plant immunity. *Annu Rev Cell Dev Biol*, **28**, 489–521.

Pieterse, C.M.J., Zamioudis, C., Berendsen, R.L., Weller, D.M., Wees, S.C.M.V. and Bakker, P.A.H.M. (2014) Induced Systemic Resistance by Beneficial Microbes. *Annual Review of Phytopathology*, **52**, 347–375.

Rivas-San Vicente, M. and Plasencia, J. (2011) Salicylic acid beyond defence: its role in plant growth and development. *Journal of Experimental Botany*, **62**, 3321–3338.

Robert-Seilaniantz, A., MacLean, D., Jikumaru, Y., Hill, L., Yamaguchi, S., Kamiya, Y. and Jones, J.D.G. (2011) The microRNA miR393 re-directs secondary metabolite biosynthesis away from camalexin and towards glucosinolates. *Plant J*, **67**, 218–231.

Rockwell, N.C., Su, Y.-S. and Lagarias, J.C. (2006) PHYTOCHROME STRUCTURE AND SIGNALING MECHANISMS. *Annual Review of Plant Biology*, **57**, 837–858.

Savary, S., Willocquet, L., Pethybridge, S.J., Esker, P., McRoberts, N. and Nelson, A. (2019) The global burden of pathogens and pests on major food crops. *Nat Ecol Evol*, **3**, 430–439.

Schuman, M.C. and Baldwin, I.T. (2016) The Layers of Plant Responses to Insect Herbivores. *Annu Rev Entomol*, **61**, 373–394.

Shani, E., Hedden, P. and Sun, T. (2024) Highlights in gibberellin research: A tale of the dwarf and the slender. *Plant Physiology*, **195**, 111–134.

Spoel, S.H. and Dong, X. (2008) Making Sense of Hormone Crosstalk during Plant Immune Responses. *Cell Host & Microbe*, **3**, 348–351.

Spoel, S.H. and Dong, X. (2024) Salicylic acid in plant immunity and beyond. *The Plant Cell*, **36**, 1451–1464.

Sun, T. and Zhang, Y. (2022) MAP kinase cascades in plant development and immune signaling. *EMBO reports*, **23**, e53817.

Sun, T.-P. (2011) The molecular mechanism and evolution of the GA-GID1-DELLA signaling module in plants. *Curr Biol*, **21**, R338-345.

Tripathi, D., Jiang, Y.-L. and Kumar, D. (2010) SABP2, a methyl salicylate esterase is required for the systemic acquired resistance induced by acibenzolar-*S*-methyl in plants. *FEBS Letters*, **584**, 3458–3463.

Tsuda, K. and Somssich, I.E. (2015) Transcriptional networks in plant immunity. *New Phytologist*, **206**, 932–947.

Ullah, C., Schmidt, A., Reichelt, M., Tsai, C.-J. and Gershenzon, J. (2022) Lack of antagonism between salicylic acid and jasmonate signalling pathways in poplar. *New Phytologist*, **235**, 701–717.

Vanneste, S. and Friml, J. (2009) Auxin: A Trigger for Change in Plant Development. *Cell*, **136**, 1005–1016.

Velásquez, A.C., Castroverde, C.D.M. and He, S.Y. (2018) Plant-Pathogen Warfare under Changing Climate Conditions. *Curr Biol*, **28**, R619–R634.

Vlot, A.C., Sales, J.H., Lenk, M., Bauer, K., Brambilla, A., Sommer, A., Chen, Y., Wenig, M. and Nayem, S. (2021) Systemic propagation of immunity in plants. *New Phytologist*, **229**, 1234–1250.

Walters, D. and Heil, M. (2007) Costs and trade-offs associated with induced resistance. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **71**, 3–17.

Wang, D., Pajerowska-Mukhtar, K., Culler, A.H. and Dong, X. (2007) Salicylic Acid Inhibits Pathogen Growth in Plants through Repression of the Auxin Signaling Pathway. *Current Biology*, **17**, 1784–1790.

Warneys, R., Gaucher, M., Robert, P., et al. (2018) Acibenzolar-S-Methyl Reprograms Apple Transcriptome Toward Resistance to Rosy Apple Aphid. *Front. Plant Sci.*, **9**.

Yalpani, N., Silverman, P., Wilson, T.M., Kleier, D.A. and Raskin, I. (1991) Salicylic acid is a systemic signal and an inducer of pathogenesis-related proteins in virus-infected tobacco. *The Plant Cell*, **3**, 809–818.

Yang, D.-L., Yao, J., Mei, C.-S., et al. (2012) Plant hormone jasmonate prioritizes defense over growth by interfering with gibberellin signaling cascade. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **109**, E1192–E1200.

Yuan, M., Jiang, Z., Bi, G., et al. (2021) Pattern-recognition receptors are required for NLR-mediated plant immunity. *Nature*, **592**, 105–109.

Zavagli, F., Alison, B., Ballion, S., et al. (2018) Réduire l'emploi des produits phytosanitaires en verger de pommier. Les enseignements du réseau national EXPE Ecophyto Pomme. *Innovations Agronomiques*, **70**, 55–72.

Zeilmaker, T., Ludwig, N.R., Elberse, J., Seidl, M.F., Berke, L., Van Doorn, A., Schuurink, R.C., Snel, B. and Van den Ackerveken, G. (2015) DOWNY MILDEW RESISTANT 6 and DMR6-LIKE OXYGENASE 1 are partially redundant but distinct suppressors of immunity in Arabidopsis. *The Plant Journal*, **81**, 210–222.

Zhang, J., Coaker, G., Zhou, J.-M. and Dong, X. (2020) Plant Immune Mechanisms: From Reductionistic to Holistic Points of View. *Molecular Plant*, **13**, 1358–1378.

Zhou, H., Hua, J., Zhang, J. and Luo, S. (2022) Negative Interactions Balance Growth and Defense in Plants Confronted with Herbivores or Pathogens. *J. Agric. Food Chem.*, **70**, 12723–12732.

Zhu, F., Cao, M.-Y., Zhang, Q.-P., et al. (2024) Join the green team: Inducers of plant immunity in the plant disease sustainable control toolbox. *Journal of Advanced Research*, **57**, 15–42.

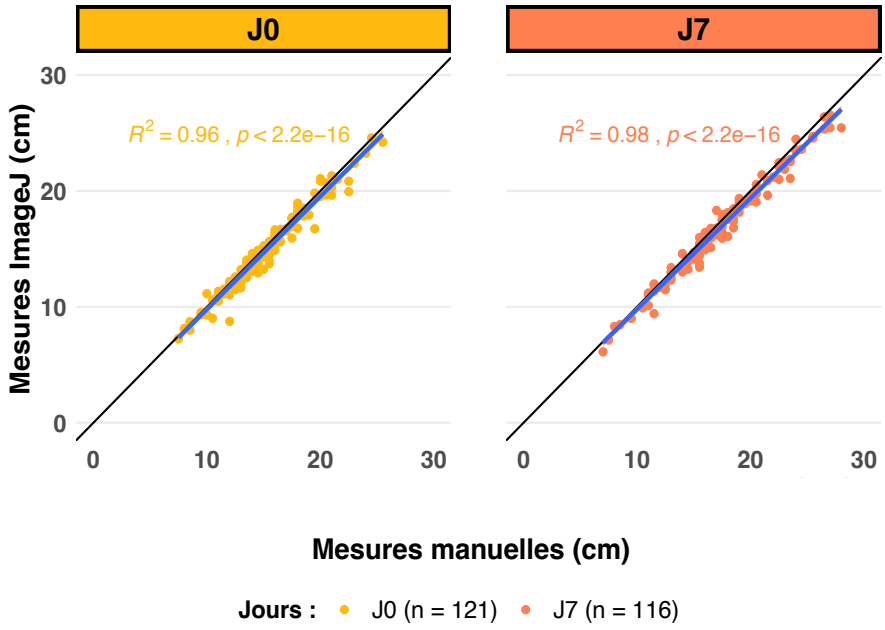
Zürcher, E., Liu, J., Donato, M. di, Geisler, M. and Müller, B. (2016) Plant development regulated by cytokinin sinks. *Science*, **353**, 1027–1030.

Züst, T. and Agrawal, A.A. (2017) Trade-Offs Between Plant Growth and Defense Against Insect Herbivory: An Emerging Mechanistic Synthesis. *Annual Review of Plant Biology*, **68**, 513–534.

SITOGRAPHIE

France AgriMer, RNM - Centres d'Angers-Tours et de Toulouse, Consulté le 27/05/2024 : https://rnm.franceagrimer.fr/bilan_campagne?menu=fruits

Annexe



Annexe I : Comparaison des longueur de plantes mesurés avec le logiciel ImageJ avec les mesures manuelles réalisé à J0 et J7.

L'INSTITUT agro Rennes Angers FACULTÉ DES SCIENCES UNIVERSITÉ D'ANGERS Nantes Université	Diplôme: Master Mention : Biologie Végétale (BV) Parcours : Santé des Plantes Plant Health and Protection (PHP)

Auteur : **Valentin GOUPILLE** Date de naissance : 28/09/2001	Organisme d'accueil : Institut de Recherche en Horticulture et Semenses (IRHS) Adresse : 42 rue Georges Morel 49070, Beaucouzé Maîtres de stage : Florent PANTIN Romain LARBAT Bao-huynh NGUYEN
Nb pages : 22 Annexe(s) : 1	
Année de soutenance : 2024	

Titre français : Phénotypage du pommier pour l'analyse du compromis croissance-défense
Titre anglais : Phenotyping apple trees for the analysis of the growth-defense trade-off

Résumé : Selon le "compromis croissance-défense", les plantes doivent équilibrer leurs ressources entre le développement et la protection contre les ravageurs. Dans cette étude financée par Gis Fruits, nous nous sommes principalement intéressés à caractériser le compromis entre deux variables : la vitesse de croissance des tiges des semis de pommier et la résistance à *Erwinia amylovora*. À l'aide du robot PhenoBean, nous avons observé une corrélation suggérant un "compromis croissance-défense" où une croissance élevée avant l'inoculation serait un facteur de sensibilité. Le Bion, connu pour activer les défenses, a permis de découpler cette relation, suggérant que lorsque les défenses sont enclenchées, le facteur de sensibilité "croissance" devient secondaire. Un criblage réalisé en serre avec différents analogues hormonaux a révélé que le NAA, un analogue de l'auxine, agit à la fois sur la croissance et la défense, apparaissant comme le meilleur candidat pour un phénotypage plus approfondi dans le robot PhenoBean afin de manipuler ce compromis.

Abstract : According to the "growth-defense trade-off", plants must balance their resources between development and protection against pests. In this Gis Fruits-funded study, we were mainly interested in characterizing the trade-off between two variables: stem growth rate of apple seedlings and resistance to *Erwinia amylovora*. Using the PhenoBean robot, we observed a correlation suggesting a "growth-defense trade-off" where high growth before inoculation would be a susceptibility factor. Bion, known to activate defenses, decoupled this relationship, suggesting that when defenses are engaged, the "growth" sensitivity factor becomes secondary. A greenhouse screening with different hormone analogues revealed that NAA, a synthetic auxin, acts on both growth and defense, appearing to be the best candidate for further phenotyping in the PhenoBean robot to manipulate this trade-off.

Mots-clés : Phytohormone, Lumière, Phénotypage, Pommier, Compromis Croissance-Défense
Key Words: Phytohormone, Light, Phenotyping, Apple tree, Growth-Defense trade-off