

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

VÉRIFICATION DE MODÈLES PHÉNOLOGIQUES DURANT LA DORMANCE
DES BOURGEONS DE POMMIER ET ANALYSE DE L'EXPRESSION DE
GÈNES POSSIBLEMENT RELIÉS À LA DORMANCE

MÉMOIRE

PRÉSENTÉ

COMME EXIGENCE PARTIELLE

DE LA MAÎTRISE EN BIOLOGIE

PAR

MARIE-PIER RICARD

JUILLET 2014

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL
Service des bibliothèques

Avertissement

La diffusion de ce mémoire se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire *Autorisation de reproduire et de diffuser un travail de recherche de cycles supérieurs* (SDU-522 – Rév.01-2006). Cette autorisation stipule que «conformément à l'article 11 du Règlement no 8 des études de cycles supérieurs, [l'auteur] concède à l'Université du Québec à Montréal une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de [son] travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, [l'auteur] autorise l'Université du Québec à Montréal à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de [son] travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de [la] part [de l'auteur] à [ses] droits moraux ni à [ses] droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, [l'auteur] conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont [il] possède un exemplaire.»

REMERCIEMENTS

Je voudrais remercier les chercheurs Gaétan Bourgeois et François Ouellet pour tous leurs judicieux conseils durant la maîtrise. Je remercie Gaétan pour son soutien financier.

Merci à l'équipe de recherche en bioclimatologie et modélisation d'Agriculture et Agroalimentaire Canada ainsi qu'à l'équipe de laboratoire du côté végétal à l'UQAM pour toute l'aide apportée durant tout ce temps.

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES FIGURES.....	v
LISTE DES TABLEAUX.....	vi
RÉSUMÉ	vii
CHAPITRE I	
REVUE DE LITTÉRATURE.....	1
1.1 Introduction.....	1
1.2 Dormance.....	3
1.3 Changements climatiques	4
1.4 Impact des changements climatiques sur la phénologie des plantes	5
1.5 Choix de l'espèce à l'étude.....	6
1.6 Les bourgeons.....	7
1.7 Les modèles	8
1.7.1 Modèles considérant seulement les unités thermiques	9
1.7.2 Modèles considérant les unités de froid et les unités thermiques.....	9
1.7.3 Les modèles utilisés en production fruitière.....	11
1.8 Physiologie du bourgeon dormant.....	12
1.8.1 Contrôle hormonal.....	12
1.8.2 État de l'eau dans le bourgeon.....	14
1.9 Expression génétique.....	14
1.10 Objectifs de la présente étude.....	20
CHAPITRE II	
ARTICLE SCIENTIFIQUE: Devrait-on utiliser un modèle intégrant la dormance pour prédire le débourrement des arbres fruitiers au Québec?	22
2.1 Résumé	24
2.2 Introduction.....	25
2.3 Matériels et méthodes	28
2.4 Résultats.....	36
2.5 Discussion.....	46

CHAPITRE III

ARTICLE SCIENTIFIQUE: Expression génétique reliée à la température durant la dormance de bourgeons floraux de pommier (<i>Malus domestica</i> Borkh.).....	53
3.1 Résumé	55
3.2 Introduction.....	56
3.3 Matériels et méthodes	60
3.4 Résultats.....	65
3.5 Discussion.....	70
CONCLUSION ET PERSPECTIVES FUTURES	75
RÉFÉRENCES.....	78

LISTE DES FIGURES

Figure	Page
1.1 Induction et levée de dormance.....	16
1.2 Arbres phylogénétiques des gènes MADS.....	18
2.1 Tendances historiques des dates de levée d'endodormance en jours juliens prédites par le modèle Dynamique pour les années 1950 à 2010 (cumul de 50 unités de froid)	41
2.2 Tendances historiques des dates de débourrement en jours juliens prédites par le modèle Dynamique suivi du modèle de degrés-jours pour les années 1950 à 2010.....	42
2.3 Tendances historiques du nombre de degrés-jours cumulés du 1 ^{er} janvier au 1 ^{er} avril pour les années 1950-2010	43
3.1 Similitudes des protéines MADS associées à la dormance chez différents arbres fruitiers avec MdMADS20 du pommier	66
3.2 Indice de levée de dormance et expression relative du gène <i>MdMADS20</i> durant la dormance du pommier	67
3.3 Expression relative du gène <i>MdDHN</i> et température moyenne quotidienne	69

LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Page
2.1 Scénarios climatiques effectués à partir de simulations régionales.	35
2.2 Scénarios climatiques effectués à partir de simulations globales	35
2.3 Statistiques comparatives sur les dates de débourrement prédites et observées pour des bourgeons de pommier McIntosh pour les années 1980 à 2013 pour les sites de Frelighsburg, Oka et Orléans combinés.....	36
2.4 Statistiques comparatives sur la date de débourrement de bourgeons de pommier McIntosh pour les années 1980 à 2013 prédites pour le site de Frelighsburg.	37
2.5 Statistiques comparatives sur la date de débourrement de bourgeons de pommier McIntosh pour les années 1980 à 2013 prédites pour le site d'Oka.....	38
2.6 Statistiques comparatives sur la date de débourrement de bourgeons de pommier McIntosh pour les années 1980 à 2013 prédites pour le site d'Orléans.....	38
2.7 Nombre moyen d'unités de froid calculés par les modèles « Chilling Hours », Utah, Utah positif, Dynamique et le modèle Utah adapté au pommier pour les hivers 1980 à 2013 du 1 ^{er} septembre au 1 ^{er} mars pour les sites de Frelighsburg, Oka et Orléans.	39
2.8 Tendances historiques du nombre de degrés-jours disponibles par mois pour les sites de Frelighsburg, Oka et Orléans.....	44
2.9 Variation d'indices de dormance entre deux fenêtres temporelles : référence (1971-2000) et futur proche (2041-2070).....	45
3.1 Oligonucléotides utilisés pour la PCR quantitative en temps réel pour l'étude de la dormance des bourgeons de pommier.....	64

RÉSUMÉ

Le débourrement des bourgeons des arbres fruitiers situés dans les régions tempérées est directement lié aux températures durant les mois précédents l'ouverture des bourgeons. Durant l'automne et l'hiver, l'arrêt de la croissance visible des bourgeons est causé par trois états de dormance dont l'endodormance et l'écodormance. Afin de lever l'état d'endodormance, les bourgeons doivent être exposés à des températures froides pendant un nombre minimal d'heures. Ensuite, ces mêmes bourgeons tombent en écodormance qui sera levée par l'accumulation d'heures à des températures plus chaudes. Des modèles prédisant le débourrement des bourgeons ont déjà été conçus dont certains intègrent les deux états de dormance. Au Québec, le débourrement est prédit avec un modèle de cumul d'unités thermiques démarrant à une date fixe qui intègre seulement l'état d'écodormance. Il se pourrait que cette date fixe du 1^{er} mars ne soit plus appropriée, particulièrement dans le contexte du réchauffement climatique. Par contre, les modèles intégrant l'état d'endodormance ne sont pas les plus performants. Ceci est dû à un manque de connaissance du processus biologique de la dormance. Dans ce travail, nous avons cherché le modèle de cumul d'unités de froid le plus approprié pour le Québec et nous avons vérifié l'évolution de la dormance au cours du passé récent (1950-2010) ainsi que les projections pour le futur proche (2041-2070). L'analyse des modèles de dormance nous a permis de trouver un modèle plus représentatif des diverses régions du Québec. De plus, l'utilisation d'une date variable pour débiter les cumuls thermiques semble être une bonne option puisque le débourrement tend à devenir plus hâtif au cours du temps dû à une augmentation du nombre d'unités thermiques à la fin de l'hiver/début du printemps. Les scénarios climatiques prédisent un devancement de la date de débourrement d'une à deux semaines pour les années 2041-2070 comparativement aux années 1971-2000. De plus, nous avons cherché des marqueurs moléculaires qui pourraient nous permettre de valider les modèles de dormance et démystifier les processus de dormance et de résistance au froid. Les analyses de qRT-PCR ont révélé que le gène *MdMADS20* semble être associé à la dormance. La variation de son expression durant l'hiver permet de distinguer l'endodormance de l'écodormance tandis que le gène *MdDHN* semble être plus associé à la résistance au froid. Ces résultats suggèrent qu'il serait approprié d'utiliser un modèle d'unités de froid. De plus, il serait très intéressant de vérifier l'expression des gènes cibles de *MdMADS20* afin de préciser la transition entre l'endodormance et l'écodormance.

Mots clés: bourgeons floraux, débourrement, déhydrine, dormance, MADS, *Malus domestica*, modélisation, réchauffement climatique, qRT-PCR

CHAPITRE I

REVUE DE LITTÉRATURE

1.1 Introduction

La pomiculture est une source de revenu importante pour le Canada. En effet, en terme économique la production de la pomme était, en 2012, la 19^e plus grande production agricole au Canada (149 000 000\$) (FAO, 2012). Cette production est principalement affectée par les dommages hivernaux (Quamme et al., 2010). La majorité des arbres fruitiers entrent en dormance au cours de l'automne afin d'éviter les dommages occasionnés par les températures froides en modifiant leur état physiologique avant l'arrivée de l'hiver. Pour lever cette dormance, les bourgeons doivent être exposés à des températures froides (0 à 7°C) durant un temps fixe (unités de froid). Les changements climatiques anticipés dans les prochaines décennies pourraient entraîner une diminution des unités de froid, ce qui empêcherait les arbres fruitiers de combler leur besoin en froid (Hansen et al., 2006).

Plusieurs chercheurs ont étudié les impacts des changements climatiques sur différentes cultures. Selon les tendances observées dans une étude réalisée au Québec entre 1960 et 2005, l'augmentation de la température serait plus importante durant la saison hivernale qu'estivale (Rochette et al., 2004). Les indices de températures suggèrent une augmentation du nombre d'événements gel/dégel en hiver qui se caractérisent par des journées avec une température maximale supérieure à, et minimale inférieure à, 0°C. De plus, les changements climatiques entraîneront une diminution de la durée de la saison de gel et une augmentation de la durée de la saison de croissance. Bien que le nombre de jours de précipitation ait augmenté depuis les dernières années, le nombre de jours avec neige ainsi que les accumulations totales de neige ont diminué au cours des 46 dernières années (Yagouti et al., 2008).

Les arbres fruitiers des régions tempérées sont exposés à des températures sous zéro durant l'hiver. Afin de survivre à ces températures, des mécanismes de dormance et de résistance au froid ont évolué. Ces processus peuvent être induits par des signaux environnementaux tels de courtes photopériodes et de basses températures. L'exposition à ces températures froides est nécessaire chez plusieurs espèces afin de reprendre la croissance au printemps. Ce phénomène se nomme les besoins en unités de froid (chilling requirements) (Garcia-Bañuelos et al., 2009). Cette période d'accumulation d'unités de froid prévient la reprise de croissance lors de redoux durant l'hiver (Welling et Palva, 2006).

La dormance est un mécanisme de survie qui assure le synchronisme entre la croissance des plantes, les conditions environnementales et les saisons. C'est un processus développemental qui inclut plusieurs étapes soit l'induction, la maintenance et la levée de dormance. Elle est aussi divisée en trois états : la paradormance (inhibition corrélative), l'endodormance (la vraie dormance) et l'écodormance (quiescence). La paradormance est contrôlée par des facteurs physiologiques exogènes à la région dormante. L'endodormance est causée par des facteurs internes provenant du tissu dormant. La levée de cet état nécessite une accumulation d'unités de froid. L'écodormance est un état d'arrêt de croissance imposé par des facteurs environnementaux. La croissance peut reprendre lorsque les conditions deviennent favorables (Dennis, 1994). Il est difficile de dissocier l'acclimatation au froid de la dormance étant donné que ces deux processus se déroulent en même temps et sont induits par les mêmes facteurs environnementaux.

Prédire la levée de la dormance des arbres fruitiers est primordial pour les producteurs. En effet, connaître la date de débourrement permet d'estimer la longueur de la saison de croissance et le risque de dommages causés par le gel. Ces facteurs influenceront la régie des cultures. De plus, le réchauffement climatique peut causer une diminution du

nombre d'unités de froid pour certaines régions. Ce changement aura un impact sur la date de débourrement (Cesaraccio et al., 2004). Un apport limité en unités de froid diminue la production fruitière (Jiménez et al., 2010b). Un manque de connaissance des processus physiologiques impliqués dans la dormance ainsi qu'une incapacité visuelle à observer le passage entre l'état d'endodormance et d'écodormance entraînent une mauvaise application des modèles d'accumulation d'unités de froid pendant l'automne et l'hiver. Pouvoir détecter ce changement d'état pendant l'hiver grâce à l'étude de l'expression génétique permettrait de vérifier les modèles existants et en proposer de plus appropriés pour le pommier.

1.2 Dormance

À nos latitudes, durant l'automne, les tissus méristématiques des plantes pérennes entrent en endodormance afin d'éviter les dommages causés par le gel. L'état d'endodormance est caractérisé par une répression endogène de la croissance. Cet état est maintenu jusqu'à l'intervention de signaux spécifiques endogènes ou environnementaux. Pour la majorité des plantes, le meilleur signal est l'exposition à des températures comprises entre 0 et 7°C (Jiménez et al., 2010b). Une fois les besoins en froid comblés, les bourgeons entrent en écodormance. Ces derniers resteront en écodormance jusqu'à ce que la température ambiante permette la croissance (Buban et Faust, 1995). La période d'endodormance ne se termine pas d'un seul coup. Il y a un passage graduel de l'état d'endodormance à l'état d'écodormance (Couvillon et Erez, 1985).

Une fois l'endodormance complétée, les unités de froid supplémentaires accélèrent le retour à la croissance (Chuine et Cour, 1999). En effet, plus l'accumulation en unités de froid est grande, moins les besoins en unités thermiques sont importants pour sortir de l'écodormance. Les unités thermiques sont souvent calculées en degrés-jours, qui

permettent d'estimer le développement des plantes en fonction de la température. Pour une accumulation d'unités de froid nettement supérieure aux besoins, la demande en unités thermiques tend vers un seuil minimum (Chuine et Cour, 1999). Le nombre d'unités de froid pour lever l'endodormance est relatif à chaque espèce. Si les conditions de levée d'endodormance ne sont pas remplies, certains composés chimiques peuvent être utilisés par les cultivateurs afin de forcer la levée de dormance tels le dinitro-ortho-crésol, le nitrate de potassium, le thiocarbamide, le benzyladénine, les gibbérellines et le thidiazuron (Wang et Faust, 1994).

Contrairement aux plantes herbacées, les arbres fruitiers ont un seul passage d'état végétatif à reproductif. Chez le pommier, ce passage s'effectue, en général, à l'âge de 4 à 8 ans (Mimida et al., 2011). Par la suite, l'arbre fruitier est considéré en état reproductif. Chez les plantes biennuelles ou vivaces, ce transfert d'état nécessite une exposition à des températures froides, un processus nommé vernalisation (Yan et al., 2004). Ce mécanisme évite le développement floral durant l'hiver tandis que chez les arbres fruitiers, la dormance est un mécanisme qui prévient tant la croissance des organes floraux que celle des organes végétatifs.

1.3 Changements climatiques

Les épisodes de gel sévère entraînent d'énormes pertes dans les cultures pérennes. Les risques de dommages hivernaux sont reliés aux froids intenses, au manque de couvert nival, à une acclimatation inadéquate au froid, à une mise à nue des racines et à l'englacement des cellules. Dans les régions tempérées, les épisodes de gel durant l'automne, l'hiver et le printemps représentent le facteur principal relié aux dommages des cultures. Les pommiers sont extrêmement vulnérables aux gels printaniers tardifs. Par exemple, à l'ouverture des bourgeons, de légers gels (température entre -10 et 0°C) vont entraîner une diminution de la qualité des fruits tandis que des gels sévères

(température inférieure à -10°C) vont diminuer la production. De plus, une fois le stade de bouton floral atteint, un seul événement sous zéro est suffisant pour tuer les boutons floraux.

L'impact des changements climatiques sur les risques de gels printaniers est mitigé. Selon plusieurs études, les changements climatiques devanceront la date de débourrement sans toutefois changer la date du dernier gel printanier (Cannell et Smith, 1986). Des dates de floraison plus hâtives tendent à augmenter le risque de dommages causés par une exposition au gel (Eccel et al., 2009). Par contre, la date du dernier gel serait devancée davantage (1,5 jours par décennie) que la date d'apparition des feuilles (1,2 jours par décennie) (Bélanger et al., 2002; Cleland et al., 2007).

Les effets des changements climatiques durant la saison hivernale sont aussi très controversés. Par exemple, plusieurs périodes de dégel résulteraient en une perte de tolérance, ce qui augmenterait le risque de dommages hivernaux. De plus, la perte de couvert nival va entraîner une augmentation des dommages causés par le gel (Bélanger et al., 2002). Par contre, des températures hivernales plus douces entraîneraient une diminution du stress occasionné par le gel (Bélanger et al., 2002).

1.4 Impact des changements climatiques sur la phénologie des plantes

La température est un facteur influençant le développement et la croissance des plantes. Les changements climatiques peuvent donc avoir un impact majeur sur la phénologie de celles-ci (Cleland et al., 2007). Des changements dans les stades phénologiques tels la date de coloration des feuilles (Menzel et Fabian, 1999) et la date de floraison (Guédon et Legave, 2008) ont déjà été observés. Le devancement de la période de croissance a été relié aux changements climatiques (Chmielewski et Rötzer, 2001).

En Californie, on observe l'impact d'une diminution des unités de froid sur le débourrement des bourgeons d'arbres fruitiers. Les pertes d'unités de froid varient entre 50 et 260 par décennie. À la fin du 21^e siècle, la Californie recevra moins de 500 unités de froid par hiver (Baldocchi et Wong, 2008). Les espèces ayant un besoin important en unités de froid auront de la difficulté avec les hivers plus doux prédits par les changements climatiques (Heide, 2003).

Les changements climatiques anticipés devraient permettre l'introduction de nouvelles variétés et espèces dans les régions où les arbres fruitiers sont cultivés et une extension nordique des zones de productions commerciales dans l'est du Canada. Le secteur de la pomme sera avantagé par les changements climatiques grâce à une augmentation de la saison de croissance et une diminution des grands froids hivernaux (Lease et al., 2009).

1.5 Choix de l'espèce à l'étude

Le pommier a été choisi pour cette étude en raison de l'importance de sa production. La culture de la pomme était la plus grande production fruitière au Canada en 2011 soit 430 301 tonnes (Statistique Canada, 2012). De plus, la culture de la pomme est établie et adaptée depuis très longtemps aux conditions du Québec. En 2010, le Québec, après l'Ontario, était le deuxième plus grand producteur de pommes au Canada pour les marchés des produits frais et de transformation. Il a produit 107 805 tonnes de pommes (Institut de la Statistique Québec, 2012). La variété 'Cortland' a été sélectionnée pour cette étude à cause de sa position importante dans la production fruitière ainsi que sa disponibilité pour l'expérimentation.

1.6 Les bourgeons

Les bourgeons sont des réservoirs de méristèmes qui permettent de remplacer les branches primaires endommagées (Olsen, 2003). Les bourgeons hivernaux sont formés au moins deux mois avant la chute des feuilles (Perry, 1971). Les premiers bourgeons apicaux et les distaux sont les premiers à débourrer au printemps tandis que les bourgeons axillaires sont les derniers à ouvrir (Brunel et al., 2002). Lorsque les besoins en unités de froid sont comblés, les températures clémentes déclenchent les processus menant au débourrement. Il a été observé que le nombre de primordia et d'écailles des bourgeons ainsi que leur longueur ne varient pas au cours de la saison hivernale (Brunel et al., 2002). La variation visible entre les divers types de bourgeons est due à la différence dans le développement des primordia qui sont formés avant la dormance (Brunel et al., 2002). Les primordia de l'inflorescence vont continuer à se développer au cours de l'hiver (Buban et Faust, 1995). Le développement des bourgeons à pépins est continu durant la dormance. La croissance sera très lente jusqu'au mois de février puis accélèrera par la suite. Ainsi, le pic de croissance se déroule durant l'écodormance (Anderson et al., 2001).

La majorité des bourgeons des arbres de climat tempéré sont protégés par des écailles. Ces écailles sont en fait de petites feuilles modifiées couvertes d'une cuticule. Les écailles sont souvent poilues. Ces poils servent de zone tampon protégeant le bourgeon des variations climatiques (Costes, 2003). Les bourgeons terminaux sont majoritairement floraux. Plus on s'éloigne de l'apex, moins la proportion de bourgeons floraux est grande (Costes, 2003).

1.7 Les modèles

Afin de modéliser le débourrement des bourgeons, il faut prendre en compte plusieurs variables : l'accumulation de températures froides durant l'automne et l'hiver, l'accumulation d'unités thermiques durant le printemps, l'interrelation entre ces deux périodes, les conditions automnales ainsi que la photopériode (Dennis, 2003). Le terme dormance peut sembler évident, par contre les auteurs ne s'entendent pas tous sur sa définition. Les modèles varient selon ces différentes définitions. Pour certains auteurs, la dormance est définie comme un seul état où l'activité est réduite voire nulle (Lang, 1987). À l'opposé, certains chercheurs séparent la dormance en deux états soit l'endodormance et l'écodormance (quiescence). L'endodormance est définie comme une période durant laquelle les bourgeons sont en dormance dû à des conditions physiologiques particulières tandis que l'écodormance est définie comme une période durant laquelle les bourgeons restent dormant à cause des conditions environnementales non favorables (Sarvas, 1974; Cannell et Smith, 1983; Hänninen, 1987).

Certaines espèces fruitières requièrent une exposition à de faibles températures afin de débourrer de façon abondante et normale. Ces températures ne seront pas efficaces tant et aussi longtemps qu'un bon nombre de feuilles ne seront pas tombées. Les températures idéales pour combler les besoins en unités de froid se situent autour de 8°C. Les températures inférieures à cette température optimale sont moins efficaces et celles supérieures à 12°C ne sont plus efficaces (Weinberger, 1950; Couvillon, 1995). Ces auteurs ont remarqué que les températures sous 0°C ont un impact sur la dormance et que l'accumulation des unités de froid est réversible par des températures plus chaudes au mois de novembre et décembre, ce qui retarde le débourrement.

1.7.1 Modèles considérant seulement les unités thermiques

Pour prédire le débourrement, le calcul des unités thermiques devrait commencer lorsque l'endodormance est levée (Differt, 2001). La date choisie au Québec est le 1^{er} mars. Selon la littérature, l'accumulation d'unités thermiques antérieures à cette date ne contribue pas au débourrement (Lease et al., 2009). Grâce à cette date, il est possible d'évaluer les dommages causés par des gels printaniers tardifs. Compte tenu du réchauffement climatique, une accumulation d'unités thermiques avant le 1^{er} mars est à considérer. Le degré-jour est généralement l'unité utilisée pour calculer les unités thermiques. Ils représentent la sommation des températures supérieures au seuil de développement pour chaque journée. Le seuil inférieur de développement, souvent nommé la température de base, est de 5°C chez le pommier. Les degrés-jours équivalent à la différence entre la température moyenne quotidienne et la température de base. Ce sont des approximations linéaires de la date de débourrement en fonction de la température. Il existe plusieurs méthodes permettant de calculer ces unités, dont les méthodes standard, triangulaire et sinusoïdale. Il existe aussi des modèles d'unités de forçage de fonction logistique comme celui de Sarvas (Sarvas, 1974). Ces modèles ont aussi été combinés à des modèles d'accumulation d'unités de froid (Differt, 2001).

1.7.2 Modèles considérant les unités de froid et les unités thermiques

Plusieurs modèles décrivent la levée de l'endodormance par l'accumulation d'unités de froid suivi d'une période d'accumulation d'unités thermiques pour combler l'écodormance. Une autre définition serait une accumulation graduelle d'unités de froid qui chevauche l'accumulation d'unités thermiques menant au débourrement. En réalité, la période d'endodormance ne se termine pas d'un seul coup. C'est un passage graduel entre deux états. À des températures favorables à la croissance, les arbres sortiront de dormance deux semaines après que les unités de froid soient accumulées.

La date de débourrement peut être influencée par des unités de froid additionnelles, l'acide gibbérellique, et artificiellement avec des agents permettant la sortie de dormance (Couvillon et Erez, 1985).

Un modèle de type parallèle est décrit par un chevauchement entre ces deux états tandis qu'un modèle de type séquentiel est décrit par un passage abrupt de l'endodormance à l'écodormance (Lang et al., 1987). Ces deux types de modèles font partie des modèles qui intègrent l'action des températures à l'accumulation thermique. D'un côté, le modèle parallèle considère que les unités thermiques peuvent être accumulées même si les besoins en froid ne sont pas comblés. Le modèle a été conçu par Cannell (Cannell et Smith, 1983). Le nombre de jours de froid et le nombre de degrés-jours sont calculés séparément à partir de deux dates fixes. La date de débourrement sera la date pour laquelle la relation est vérifiée. D'un autre côté, le modèle séquentiel considère l'endodormance et l'écodormance comme deux phases indépendantes et consécutives (Richardson et al., 1974; Sarvas, 1974; Hänninen, 1987). Il n'y a donc pas de réponse aux températures chaudes tant et aussi longtemps que les besoins en froid ne sont pas comblés. De plus, une exposition supplémentaire au froid n'a pas d'effet sur les besoins en unités thermiques (Hunter et Lechowicz, 1992).

Le modèle « chill days » est de type séquentiel : l'accumulation d'unités de froid permet de lever l'endodormance et l'accumulation d'unités thermiques permet de lever l'écodormance (Cesaraccio et al., 2004). Le modèle utilise les degrés-jours afin de déterminer les « chill days » (variable pour accumulation d'unités de froid) ainsi que les « anti-chill days » (variable pour accumulation d'unités thermiques). Selon Cesaraccio et al. (2004), le modèle « chill days » est le modèle le plus universel prédisant le débourrement le plus précisément. Une des raisons pouvant expliquer les meilleurs résultats du modèle « chill days » est que le cumul des unités de froid

commence à un stade phénologique bien précis (cueillette des fruits pour les cultures, chute des feuilles pour les arbres forestiers) tandis que les autres modèles commencent le cumul en fonction de la température. Étant donné que le modèle « chill days » divise la dormance en deux phases, c'est celui-ci qui se rapproche le plus de la réalité physiologique des bourgeons en dormance (Cesaraccio et al., 2004).

1.7.3 Les modèles utilisés en production fruitière

Les modèles parallèles et séquentiels sont complexes et peu d'information existe sur leur application en vergers (Hänninen, 1987; Kramer, 1994; Cesaraccio et al., 2004). Les modèles les plus utilisés afin de prédire le débourrement dans la production fruitière sont les modèles classiques : le modèle « Chilling hours » et le modèle « Chilling units ». Ces modèles ne séparent pas l'état d'endodormance de l'état d'écodormance (Cesaraccio et al., 2004). Le modèle « Chilling hours » a été conçu par Weinberger (Weinberger, 1950). Ce modèle accumule un « chilling hour » pour chaque heure d'exposition à des températures entre 0 et 7,2°C. Les modèles classiques incluant le « Utah », le « North Carolina », le « Low chilling » et le « Positive chill unit » ont été développés afin de prédire le débourrement (Richardson et al., 1974; Gilreath et Buchanan, 1981; Shaltout et Unrath, 1983; Linsley-Noakes et Allan, 1994). Les températures seuils sont nécessaires dans la construction d'un modèle car certaines températures contribuent à l'accumulation d'unités de froid tandis que d'autres non (Cesaraccio et al., 2004).

Le modèle « Utah » a été conçu par Richardson (Richardson et al., 1974). Ce modèle cumule les unités de froid pour des températures comprises entre 0 et 16°C et associe une valeur négative aux températures supérieures à 16°C. Le modèle « Utah » est le modèle le plus utilisé (Differt, 2001). Ce modèle est construit pour utiliser des degrés-jours fixes (indépendant des unités de froid) afin de prédire le débourrement. Par

contre, il est démontré que les besoins en unités thermiques « forcing requirements » sont dépendants des unités de froid. C'est pour cette raison que le modèle « Utah » n'est pas adapté aux hivers doux. Les arbres qui sont exposés à un faible nombre d'unités de froid requièrent plus de températures chaudes pour lever la dormance que les arbres qui subissent des hivers froids. (Couvillon et Erez, 1985).

Le modèle dynamique (modèle de type « chill units ») a été proposé par Erez et Fishman (Erez et Fishman, 1998). Ce modèle est basé sur des concepts théoriques développés par Fishman (Fishman et al., 1987). Un « chill portion » est accumulé après 28 h d'exposition à 6°C. Contrairement au modèle « Utah », une fois que le « chill portion » est accumulé, il ne peut pas être annulé par des températures chaudes. Pour les « chilling units », une valeur est donnée en fonction de la température.

Les modèles basés sur la température sont souvent utilisés afin de prédire le débourrement sans prendre en compte la spécificité des espèces et des sites. Par exemple, le modèle « Utah » ne semble pas adapté lorsqu'il est testé dans des conditions plus douces que les conditions originales. Il semble y avoir d'autres facteurs, en plus de la température, impliqués dans le processus de dormance (Cesaraccio et al., 2004).

1.8 Physiologie du bourgeon dormant

1.8.1 Contrôle hormonal

Certaines hormones, dont les auxines, les cytokinines, l'acide abscissique et les acides gibbérelliques, semblent impliquées dans le contrôle des trois états de dormance (Nooden et Weber, 1978). Des travaux ont démontré que l'acide abscissique joue un rôle très important dans le maintien de la dormance tandis que les auxines et les

cytokinines sont impliquées dans le contrôle de la dormance des bourgeons axillaires (Anderson et al., 2001). Les cytokinines semblent jouer un rôle dans l'induction de protéines (cycline D) qui sont nécessaires à la division cellulaire. Sous les conditions induisant la dormance, la communication entre les cellules du méristème apical cesse. Les différences dans le métabolisme et le statut de l'eau semblent être des conséquences plutôt que des causes de la dormance (Olsen, 2003).

Une étude a démontré que les auxines augmentent la croissance cellulaire en interagissant avec les processus contrôlant les niveaux de cyclines (Leyser et al., 1993). De plus, il a été découvert que l'acide abscissique agit comme inhibiteur de la cycline kinase afin de prévenir la division cellulaire et ainsi maintenir la dormance dans les tissus concernés (Wang et al., 1998). L'acide abscissique est aussi l'hormone qui induit la formation des écailles. La croissance du bourgeon semble être contrôlée par ces écailles. Ainsi, indirectement, l'acide abscissique contrôle la croissance du bourgeon (Perry, 1971). Le retrait des écailles à la fin de la dormance accélère le débourrement (Swartz et al., 1984). L'acide abscissique contenu dans les écailles semble être le facteur d'inhibition au débourrement. Ces résultats suggèrent que les écailles externes ainsi que des facteurs génétiques de contrôle influencent l'inhibition des bourgeons proximaux (Brunel et al., 2002).

L'action des gibbérellines est moins bien comprise. Par contre, il a été démontré que ces hormones peuvent entraîner l'activité du cycle cellulaire (Chaloupkova et Smart, 1994; Wingler et al., 1998). De plus, la participation de l'acide gibbérellique lors de la levée de dormance chez le peuplier a été démontrée par le fait que celle-ci induit une régulation positive des β -1,3-glucanases afin d'enlever la callose qui bouche les conduits pour le transport de la protéine de floraison FT (Rinne et al., 2011).

1.8.2 État de l'eau dans le bourgeon

Durant la dormance, l'eau est étroitement associée à des macromolécules. Cette association est visible par résonance magnétique. L'eau liée ne donne aucune image en résonance magnétique. Ainsi, il est possible de suivre le cheminement de la dormance puisqu'une fois les besoins en unités de froid comblés, une image est visible (Faust et Liu, 1991). Lorsque l'eau est liée, les primordia sont incapables de croître. Dans les bourgeons paradormants, les déhydrines gardent l'eau liée. Ces protéines hydrophiles sont induites durant les stress (températures froides, déshydratation ou autres). Une fois le nombre d'unités de froid accumulé, la production de déhydrines diminue. Même si cette famille de protéines est associée à la résistance au froid, cela n'exclut pas une possible implication dans la dormance du bourgeon (Faust et al., 1997). Il a été démontré que l'accumulation de déhydrines est corrélée avec la dormance et l'acclimatation au froid. La diminution de production des déhydrines due à l'exposition à de hautes températures est corrélée avec la perte de résistance au froid et la levée de dormance. Il est très difficile de distinguer les deux phénomènes puisque les conditions qui induisent le débourrement vont aussi entraîner la perte de résistance au froid (Erez et Fishman, 1998).

1.9 Expression génétique

Dans plusieurs cas, les facteurs environnementaux et développementaux contrôlent l'effet des phytohormones en régulant l'expression des gènes responsables de leur biosynthèse, leur transport, leur biodégradation, leur transduction du signal, ou par la coordination entre les différentes voies de réponses. Tout ceci peut mener à une modulation de la croissance cellulaire et à une modification de la morphologie et de l'architecture de la plante. Il est bien connu que les gènes contrôlent toutes les activités de la plante, y compris la croissance, le développement et les réponses aux stimuli

environnementaux. La régulation de leur expression est effectuée par l'intermédiaire des facteurs de transcription, qui provoquent une augmentation ou une diminution des niveaux de transcription des gènes spécifiques permettant à la plante de croître et de s'adapter à son milieu (Petri et Leite, 2004).

Dans le cas de la dormance, nous savons que la température et la photopériode ont une influence sur son induction. Par contre, les contrôles moléculaires reliés à l'endodormance sont mal compris. Un modèle hypothétique a récemment été proposé (Figure 1.1) (Horvath, 2009). Selon ce modèle, le mécanisme affectant l'induction de l'endodormance serait différent selon le facteur environnemental. Parmi les gènes impliqués dans l'induction de l'endodormance pour des espèces affectées par des températures froides, on note les gènes DAM, CBF et FT/CENL tandis que la lumière induirait l'action des gènes PHYA, CO, DAM et FT/CENL (Horvath, 2009). Les auteurs s'entendent toutefois sur l'implication de gènes MADS dans la dormance.

La famille MADS-Box regroupe des facteurs de transcription. Le nom de la famille réfère aux 4 premiers membres soit MCM1, AGRAMOUS, DEFICIENT et SRF. Une séquence de 56 acides aminés, dont 9 sont identiques, est hautement conservée entre les membres de cette famille. Cette famille regroupe des séquences similaires codant pour des protéines qui se retrouvent dans de nombreux organismes eucaryotes. Les protéines de cette famille sont impliquées dans différents processus biologiques. Chez les plantes, de nombreux gènes de cette famille ont été associés au développement floral (Shore et Sharrocks, 1995).

SHORT VEGETATIVE PHASE (SVP) et AGAMOUS-LIKE 24 (AGL24), deux classes fortement reliées des gènes MADS-box, sont impliquées dans le développement floral chez *Arabidopsis*. Les gènes SVP jouent un rôle dans le maintien végétatif alors que les gènes AGL24 favorisent le développement de

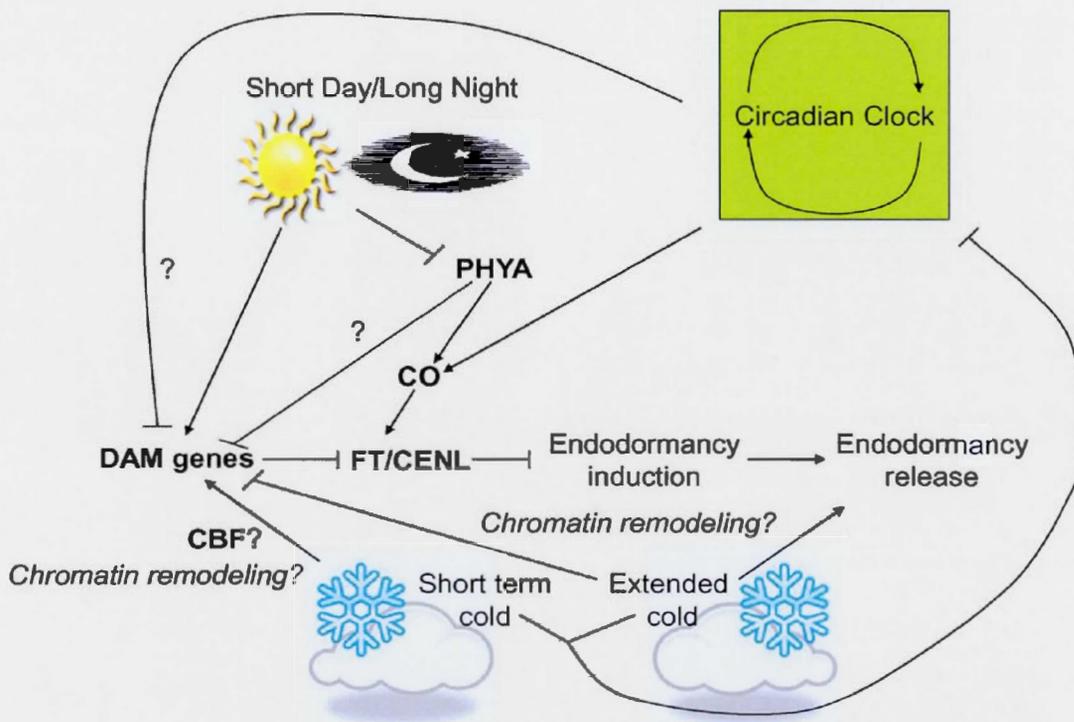


Figure 1.1. Induction et levée de dormance. Ce schéma démontre comment les températures froides et les courtes photopériodes régulent l'induction et la levée de dormance. Pour les espèces telles le pommier et le poirier, l'induction est contrôlée par des facteurs CBFs (C-REPEAT BINDING FACTORS) et possiblement par remodelage de la chromatine. Chez les plantes telles le peuplier, les courtes photopériodes vont réguler les gènes CO, DAM, FT/CENL par l'entremise de l'horloge circadienne ou même par l'intermédiaire du phytochrome A (PHYA).

l'inflorescence. Des modèles génétiques ont démontré qu'un complexe formé de SVP et AGL24 peut prévenir, avec l'aide du facteur SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS (SOC1), une différenciation prématurée du méristème floral et déterminer la synchronisation du développement des organes floraux. Les gènes SVP-like ont été associés à l'induction et/ou à la levée de l'endodormance chez le fraisier (Mazzitelli et al., 2007), l'abricot japonais (Sasaki et al., 2011; Yamane et al., 2011), l'euphorbe érule (Horvath et al., 2008), la vigne (Diaz-Riquelme et al., 2009) et le kiwi (Wu et al., 2012).

Les gènes DAM (DORMANCY ASSOCIATED MADS-BOX) font partie de la classe de facteurs de transcription MADS-box de type MIKC, qui inclut SVP et AGL24, et qui sont des régulateurs de la floraison. Ces gènes ont d'abord été identifiés comme candidats participant à la cessation de croissance et à la formation des bourgeons terminaux chez le pêcher. Chez le mutant non-dormant avec une délétion au locus EVG (evergrowing), ces gènes ne sont pas exprimés (Bielenberg et al., 2008). Les résultats suggèrent que les gènes DAM jouent un rôle crucial dans les phases de transition de la dormance et dans les besoins en « chilling units » nécessaires à la levée d'endodormance (Li et al., 2009). Ces facteurs de transcription (DAM1 à DAM6) ont été associés à la dormance. De plus, certains gènes répondent à l'accumulation d'unités de froid. Parmi ces gènes, DAM1, DAM2 et DAM4 sont surtout exprimés en association avec l'arrêt de croissance et la formation du bourgeon tandis que DAM3, DAM5 et DAM6 sont exprimés juste avant le débourrement. Certains auteurs ont rapporté que les gènes DAM sont régulés par la température (Jiménez et al., 2010a). Ces gènes sont considérés comme les principaux candidats contrôlant l'expression génétique associée à la dormance des bourgeons et à l'arrêt de croissance du méristème. DAM1 est exprimé de façon décroissante tout au long de l'hiver (Leida et al., 2010). Il est exprimé le plus fortement au mois d'octobre et le plus faiblement en janvier et février. DAM1 serait donc corrélé avec les besoins en unités de froid.

Les similarités entre les gènes DAM chez différentes espèces ont souvent été démontrées. Des nouveaux gènes SVP-like ont été récemment associés à la dormance chez le kiwi. Grâce à ces nouveaux gènes, un arbre démontrant la proximité de plusieurs gènes SVP-like chez les monocotylédones et les dicotylédones a permis de trouver de nouveaux gènes potentiellement associés à la dormance chez le pommier (Figure 1.2.a). Plus récemment, un arbre phylogénétique mettant en relation le pommier, le poirier et le pêcher a été construit grâce aux séquences complètes en

acides aminés des gènes *PpMADS13-1*, *PpMADS13-2* et *PpMADS13-3* du poirier japonais (Figure 1.2.b). Ces deux arbres présentent des ressemblances entre des gènes SVP-like associés à la dormance et des gènes MADS chez le pommier.

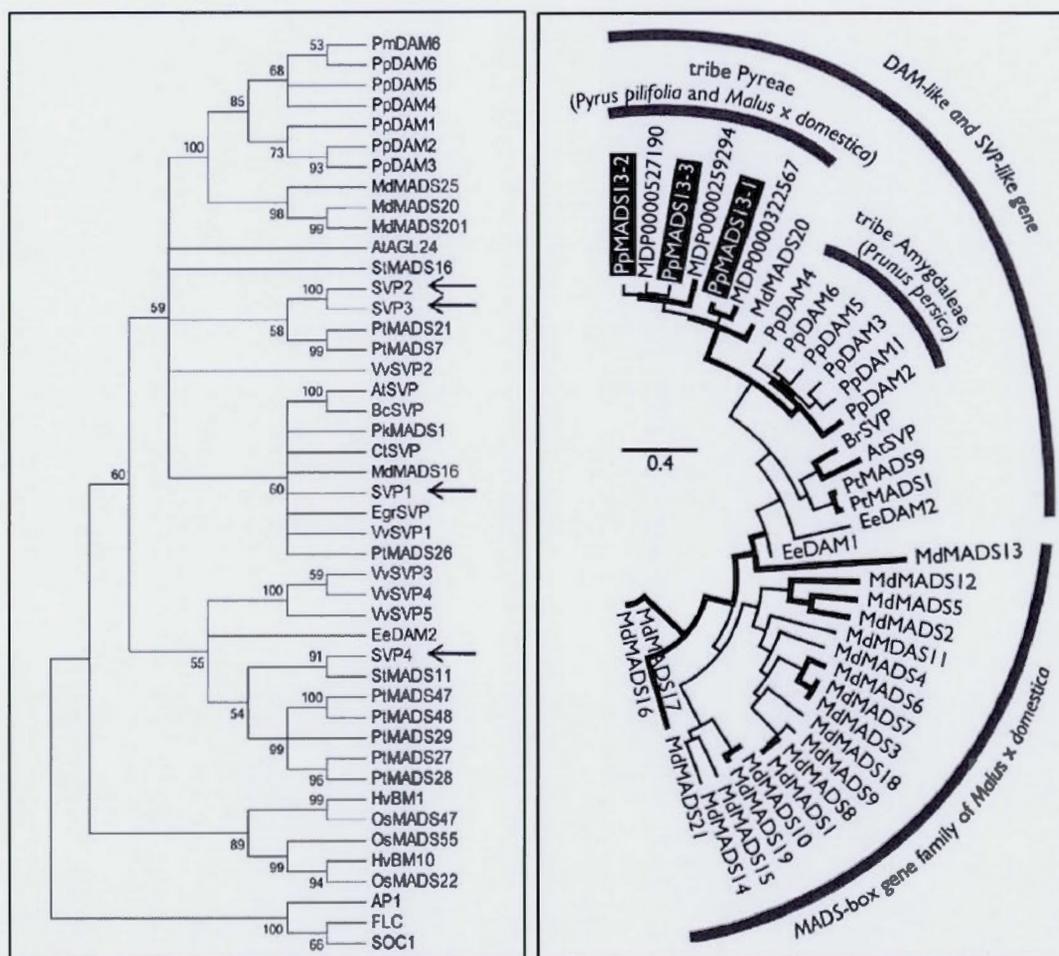


Figure 1.2. Arbres phylogénétiques des gènes MADS.

a. Un arbre phylogénétique basé sur l'alignement de séquence d'acides aminés de différentes protéines SVP-like du kiwi et autres espèces a été généré selon la méthode « Neighbor-Joining » (Wu et al., 2012). At, *Arabidopsis thaliana*; Bc, *Brassica campestris*; Ee, *Euphorbia esula*; Egr, *Eucalyptus grandis*; Hv, *Hordeum vulgare*; Os, *Oryza sativa*; Pk, *Paulownia kawakamii*; Pm, *Prunus mume*; Pp, *Prunus persica*; Ct, *Poncirus trifoliata*, syn. *Citrus trifoliata*; St, *Solanum tuberosum*; Vv, *Vitis vinifera*; Md, *Malus domestica* Borkh.; Pt, *Populus trichocarpa*. Les gènes SVP-like du kiwi sont indiqués par une flèche.

b. Un arbre phylogénétique basé sur la méthode du maximum de vraisemblance a été construit à partir des séquences d'acides aminés complètes du poirier japonais *PpMADS13-1*, *PpMADS13-2* et *PpMADS13-3* (Saito et al., 2013). Les gènes « DAM », « DAM-like », « SVP-like MADS-box »,

« apple MADS-box » proviennent de la base de données NCBI et « putative apple DAM genes » proviennent de la base de données génomiques des rosacées. At, *Arabidopsis thaliana* Heynh.; Br, *Brassica rapa* subsp. *campestris* (L.) A.R. Clapham; Ee, *Euphorbia esula* L.; Pt (MADS1), *Populus tomentosa* Carr.; Pt (MADS9), *Populus trichocarpa* Torr. & Gray.

Les gènes de la famille KNOX (Knotted-like homeobox) ont longtemps été considérés comme des gènes impliqués dans la maintenance des tissus non-différenciés. Ce sont d'importants régulateurs de fonctions méristématiques. Les gènes KNOX appartiennent à la super famille TALE (Three Amino acid Loop Extension). L'homéobox code pour une séquence de 61 acides aminés qu'on appelle l'homéodomaine (Reiser et al., 2000). Aucun transcrit de ces gènes n'est détecté dans les feuilles ou les organes floraux. Ces gènes sont exprimés dans les parties en élongation. Cette famille est divisée en deux classes. La première classe comprend les gènes qui sont exprimés dans les méristèmes apicaux des branches et non dans les organes latéraux tandis que les gènes de la deuxième classe sont exprimés dans plusieurs régions. Deux gènes similaires à *KNI* chez le pommier ont été identifiés, soit *KNAP1* et *KNAP2* (Watillon et al., 1997). L'expression de *KNAP2* est plus élevée dans les bourgeons qui restent dormants au printemps que dans les bourgeons qui débourrent. Le patron d'expression suggère que *KNAP2* est impliqué négativement dans le contrôle de la capacité des bourgeons à débourrer, et qu'il y a une variation d'expression de *KNAP2* entre les différents types de bourgeons. Les gènes *KNAP2* exprimés fortement dans les bourgeons proximaux pourraient contribuer à la différenciation méristématique des cellules en primordia qui finiront par débourrer. *KNAP2* semble donc être un bon marqueur du potentiel de croissance des bourgeons végétatifs.

Le terme déhydrine est synonyme de la famille LEA D-11 (Close, 1996). Ces protéines hydrophiles sont en général caractérisées par trois séquences conservées : Y, S et K. Par exemple, le segment K représente une séquence de 15 acides aminés (EKKGIMDKIKEKLP). Le nombre de segments K peut varier entre les différentes

protéines de la famille chez une même espèce, et entre les espèces. Le segment S, qui n'est pas obligatoirement présent, est caractérisé par une série de résidus sérine tandis que le segment Y contient les séquences d'acides aminés responsables des sites de liaison avec les protéines chaperonnes (Close, 1996). Un nouveau gène de la famille des déhydrines a été découvert chez le pommier, nommé *MdDHN*. Il est exprimé dans l'écorce et les tissus des bourgeons lorsque la plante est dormante et résistante au froid, mais n'est pas exprimé au début du printemps lors du débourrement (Garcia-Bañuelos et al., 2009).

1.10 Objectifs de la présente étude

Dans cette étude, nous avons comparé les dates de débourrement observées pour trois régions du Québec de 1980-2013 avec les dates de débourrement prédites par l'utilisation de quatre modèles de cumul d'unités de froid suivi d'un modèle de cumul d'unités thermiques, ainsi que par l'utilisation seule du modèle de cumul d'unité thermique démarrant à une date fixe. De plus, nous avons regardé plusieurs indices de dormance pour la tendance historique (1950-2010) et nous avons comparé ces indices entre deux fenêtres temporelles (1971-2000) et (2041-2070) afin de vérifier l'impact que pourrait avoir le réchauffement climatique sur le processus de dormance.

De plus, nous pensons que l'expression génétique pourrait permettre de vérifier l'état de dormance des bourgeons de pommier entre leur formation à l'automne et leur débourrement au printemps. Pour ce faire, nous avons cherché dans la littérature des gènes associés à la dormance chez d'autres espèces afin de trouver chez le pommier un gène similaire. Ensuite, nous avons regardé le profil d'expression de ce gène de la famille MADS dans les bourgeons au cours de l'hiver dans le but de distinguer l'état d'endodormance de l'état d'écodormance. Finalement, nous avons comparé le profil d'expression du gène MADS potentiellement associé à la dormance avec le profil

d'expression d'une déhydrine afin d'essayer de séparer le processus de dormance au processus de résistance au froid.

CHAPITRE II
ARTICLE SCIENTIFIQUE

DEVRAIT-ON UTILISER UN MODÈLE INTÉGRANT LA DORMANCE POUR
PRÉDIRE LE DÉBOURREMENT DES ARBRES FRUITIERS AU QUÉBEC?

Marie-Pier Ricard, François Ouellet et Gaétan Bourgeois

Manuscrit en préparation pour soumission à la revue *Journal of the American Society for Horticultural Science*

J'ai été impliquée dans toutes les facettes des travaux associés à cet article. J'ai participé à l'élaboration du protocole expérimental, j'ai effectué toutes les récoltes de bourgeons et toutes les manipulations au laboratoire, ainsi que toutes les analyses. J'ai finalement rédigé la première version du manuscrit et conçu les figures. François Ouellet a participé à l'élaboration du projet et au protocole expérimental. Gaétan Bourgeois a participé à l'élaboration du projet et au protocole expérimental, et a de plus supervisé et complété la rédaction du manuscrit.

DEVRAIT-ON UTILISER UN MODÈLE INTÉGRANT LA DORMANCE POUR
PRÉDIRE LE DÉBOURREMENT DES ARBRES FRUITIERS AU QUÉBEC?

Marie-Pier Ricard^{1,2}, François Ouellet² et Gaétan Bourgeois¹

Affiliations:

¹Agriculture et Agroalimentaire Canada
Centre de recherche et de développement en horticulture
430, Boul. Gouin
Saint-Jean-sur-Richelieu (Québec) J3B 3E6
Canada

²Université du Québec à Montréal
Département des Sciences biologiques
Case Postale 8888, Succursale Centre-ville
Montréal Québec H3C 3P8
Canada

Adresses courriel:

MPR: ricard.marie-pier@courrier.uqam.ca
FO: ouellet.francois@uqam.ca
GB: gaetan.bourgeois@agr.gc.ca

Auteur de correspondance:

Gaétan Bourgeois
Agriculture et Agroalimentaire Canada
Centre de recherche et de développement en horticulture
430, Boul. Gouin
Saint-Jean-sur-Richelieu (Québec) J3B 3E6
Canada
Courriel: gaetan.bourgeois@agr.gc.ca
Téléphone: 450-515-2017
Télécopieur: 450-346-7740

2.1 Résumé

La dormance hivernale des bourgeons des arbres fruitiers se divisent en deux états : l'endodormance et l'écodormance. Les bourgeons doivent être exposés à des températures froides (entre -2°C et 13°C) pour lever l'endodormance. Ensuite, ils doivent être exposés à des températures chaudes (supérieures à 5°C) pour lever l'écodormance et permettre aux bourgeons de se développer (débourrement). Le modèle prédisant le débourrement au Québec est un modèle qui incorpore seulement l'écodormance. Il cumule le nombre d'unités thermiques (degrés-jours) à partir d'une date fixe, soit le 1^{er} mars. Compte tenu du réchauffement climatique, ce modèle pourrait ne plus être adapté car le cumul de degrés-jours pourrait débuter avant cette date. Il est donc nécessaire de modéliser le phénomène de dormance au complet, soit de l'automne au printemps. Une comparaison de modèles de cumul d'unités de froid (« Chilling Hours », Utah, Utah positif, Dynamique) a été effectuée afin de déterminer le modèle le mieux adapté au climat du Québec. Pour y arriver, des données météorologiques ont été mesurées de 1980 à 2013 sur 3 sites, soit Frelighsburg, Oka et Orléans. Ensuite, les dates de débourrement observées pour ces 33 années ont été comparées aux dates prédites par les différents modèles ainsi qu'avec le modèle utilisé au Québec. Les résultats ont démontré qu'en utilisant un modèle d'unités de froid suivi d'un modèle de degrés-jours, une amélioration allant jusqu'à 2 jours dans la prédiction des dates de débourrement a été obtenue pour certains sites. Le modèle Dynamique a été sélectionné parmi les différents modèles testés pour sa précision qui est globalement bonne au Québec et pour chaque site considéré séparément. Ainsi, afin d'évaluer l'impact des changements climatiques, le modèle Dynamique a été utilisé pour vérifier les tendances historiques (1950-2010) dans les dates de fin d'endodormance et de fin d'écodormance, et pour comparer les fenêtres temporelles du passé récent (1971-2000) et du futur proche (2041-2070). Au cours des années 1950 à 2010, la date de débourrement tend à devancer sans pour autant que le nombre d'unités de froid change. Pour le futur proche, on prédit un devancement du débourrement d'une à deux semaines selon les sites. Ce devancement serait majoritairement causé par une augmentation du nombre de degrés-jours au mois de mars. Finalement, contrairement à d'autres régions du monde, les régions pomicoles du Québec ne souffriraient pas d'un manque d'unités de froid, mais seront possiblement affectées par une augmentation des risques de gel printanier.

Mots clés: bourgeons floraux, changements climatiques, débourrement, dormance, *Malus domestica*, modélisation, température

2.2 Introduction

Chez la majorité des arbres fruitiers, les bourgeons sont en période de dormance durant l'hiver. La dormance est un mécanisme de protection contre les températures hivernales extrêmes et prévient la reprise de croissance lors de redoux hivernaux (Naor et al., 2003). Elle est définie comme une suspension temporaire de la croissance visible (Lang, 1987). La dormance est divisée en trois états : la paradormance, l'endodormance et l'écodormance. La paradormance s'installe à la formation des bourgeons au mois de juillet et provient d'un contrôle interne à la plante mais externe à la région dormante. L'endodormance est une inhibition de la croissance contrôlée par des mécanismes qui résident à l'intérieur de la structure dormante. Il a été démontré que la plupart des cultivars de pommiers démontrent une intensité de dormance significative au 1^{er} septembre (Hauagge et Cummins, 1991c). La croissance reprendra une fois que les bourgeons auront été exposés à des températures froides durant un nombre minimum d'heures. Cette exposition à de faibles températures entre -2 et 5,5°C durant l'état d'endodormance est nécessaire à la production de fruits chez les arbres fruitiers des régions tempérées (Anderson et Richardson, 1987; Guak et Neilsen, 2013). Une période hivernale insuffisante entraîne trois conséquences majeures reliées au débourrement : un débourrement retardé, un taux de débourrement faible et/ou un manque d'uniformité dans la floraison et la feuillaison (Campoy et al., 2011). L'état d'écodormance est contrôlé par des facteurs environnementaux et peut être levé lorsque les conditions sont favorables à la croissance (Lang et al., 1987). Les bourgeons doivent accumuler un certain nombre d'unités de chaleur (unités thermiques, degrés-jours) afin de débourrer. Pour la majorité des arbres fruitiers, une augmentation des unités de froid entraîne une réduction du besoin en degrés-jours nécessaires au débourrement des bourgeons (Couvillon et Erez, 1985).

Afin de modéliser le débourrement des bourgeons, il faut tenir compte de plusieurs variables, soit l'accumulation d'unités de froid durant l'automne et l'hiver, l'accumulation d'unités thermiques durant le printemps, l'interrelation entre ces deux périodes, les températures automnales et la photopériode. Les quatre modèles les plus utilisés afin de prédire le débourrement dans la production fruitière sont : le « Chilling Hours » (Weinberger, 1950), le modèle « Dynamique » (Fishman et al., 1987), le « Utah » (Richardson et al., 1974) et le « Utah positif » (Linsley-Noakes et Allan, 1994; Differt, 2001). Le modèle « Chilling Hours » cumule une unité de froid pour chaque heure d'exposition à des températures entre 0 et 7,2°C. Le modèle « Dynamique » cumule un « chill portion » après 28 h d'exposition à 6°C. Contrairement aux autres modèles, une fois que le « chill portion » est accumulé, il ne peut pas être annulé par des températures chaudes. Le modèle « Utah » cumule les unités de froid pour des températures comprises entre 0 et 16°C et associe une valeur négative aux températures au-dessus de 16°C. De plus, contrairement aux autres modèles débutant au 1^{er} septembre, ce modèle commence le cumul d'unités de froid lorsque les températures ont réellement un effet sur la dormance. Ce modèle est construit pour utiliser des unités thermiques (indépendamment des unités de froid cumulées) afin de prédire le débourrement. Par contre, il a été démontré que les besoins en unités thermiques « forcing requirements » sont dépendants des unités de froid reçues. C'est pour cette raison que le modèle « Utah » n'est pas adapté aux hivers doux. Pour les régions plus froides, il n'y a aucun problème car les unités de froid sont amplement comblées (Couvillon et Erez, 1985). Récemment, un nouveau modèle de cumul d'unités de froid construit pour le pommier variété 'Gala' a été publié (Guak et Neilsen, 2013). Ce modèle « Utah adapté au pommier » est très similaire au modèle « Utah », mais intègre les températures optimales propres à cette variété. L'Université de Californie a calculé que les besoins en unités de froid pour le pommier variété 'McIntosh' sont de 900 pour les modèles « Chilling Hours », « Utah » et « Positive Utah » et de 50 pour le modèle « Dynamic ». Certains auteurs croient qu'une

accumulation d'unités thermiques est possible avant que l'endormance soit levée (Couvillon et Erez, 1985). La fin de l'état d'endormance et le début de l'état d'écodormance se dérouleraient donc de manière parallèle. Dû à un manque de connaissance sur la transition entre ces deux états, nous ne sommes toujours pas en mesure de modéliser adéquatement ce transfert.

Ainsi, afin de prédire le débourrement, plusieurs modèles débutent le calcul des unités thermiques lorsque l'endormance est levée. La date choisie au Québec est le 1^{er} mars. Selon la littérature, l'accumulation d'unités thermiques antérieures à cette date ne contribue pas au débourrement (Lease et al., 2009). Compte tenu du réchauffement climatique, une accumulation d'unités thermiques avant le 1^{er} mars serait à considérer. Le degré-jour est généralement l'unité utilisée pour calculer les unités thermiques. Ils représentent la sommation des températures au-dessus du seuil de développement pour chaque journée. L'intégration d'un modèle de cumul d'unités de froid au modèle de cumul thermique permettrait de lancer le modèle de cumul thermique à la date où l'endormance serait levée.

L'objectif de cette étude visait à déterminer le modèle de cumul d'unités de froid le mieux adapté au climat québécois afin de l'intégrer au modèle de cumul d'unités thermiques. Cette intégration a permis de prédire adéquatement le débourrement et ainsi vérifier les tendances historiques (1950-2010) de l'évolution de la dormance et les projections futures en comparant le passé récent (1971-2000) et le futur proche (2041-2070) au Québec.

2.3 Matériels et méthodes

Données météorologiques

L'analyse des modèles de cumul d'unités de froid a été effectuée pour les années 1980 à 2013 pour la variété 'McIntosh'. Les trois sites sélectionnés sont Frelighsburg (45°03'14N, 72°51'42O), Oka (45°30'28N, 74°03'48O) et Orléans (46°53'19N, 70°57'58O). Ils appartiennent aux vergers pilotes du réseau pommier du Québec (www.agrireseau.qc.ca/reseau_pommier). Ces sites représentent les trois principales régions productrices de la pomme au Québec (MAPAQ, 2008). Frelighsburg est le site le plus hâtif tandis qu'Orléans est le site le plus tardif dans les stades phénologiques. Les données météorologiques sont mesurées à des stations automatisées appartenant au réseau pommier et gérées par l'Institut de recherche et de développement en agroenvironnement (IRDA). Afin de compléter les données manquantes, des jeux de données météorologiques quotidiennes canadiennes maillées aux 10 km pour les années 1950 à 2010 ont été utilisés. Les données météorologiques utilisées pour créer ces fichiers proviennent des archives climatiques nationales d'Environnement Canada. Elles ont été traitées par les modèles ANUSPLIN créés par l'« Australian National University » et ensuite appliquées aux données canadiennes de Ressources Naturelles Canada (Hutchinson, 2004). Le logiciel MétéoQuotHoraire, développé par l'équipe de recherche en bioclimatologie et modélisation d'Agriculture et Agroalimentaire Canada (AAC), a été utilisé afin de transformer les températures minimales et maximales quotidiennes en températures horaires en utilisant la latitude et la longitude des sites (Bourgeois, 1989). Les températures moyennes horaires ont été utilisées pour le cumul des unités de froid.

Modèles d'unités de froid

Les unités des différents modèles sont « Chilling Hours » (CH) pour le modèle « Chilling Hours », « Utah Chill Units » (UCU) pour le modèle Utah, « Utah Chill Units Positive » (UCU+) pour le modèle Utah positif, « Chill Portions » (CP) pour le modèle Dynamique et T pour température horaire. Pour ces quatre modèles, le cumul des unités est déterminé au temps t pour chaque heure, selon les équations suivantes:

Modèle « Chilling Hours » (CH): unités de froid

$$CH_{tot} = \sum_{i=1}^t T_{7,2}, \quad \text{with } T_{7,2} = \begin{cases} 0^\circ\text{C} < T < 7.2^\circ\text{C} & : 1 \\ \text{else} & : 0 \end{cases}$$

Modèle Utah (UCU): unités de froid

$$UCU_{tot} = \sum_{i=1}^t T_U \quad \text{with } T_U = \begin{cases} T \leq 1.4^\circ\text{C} & : 0.0 \\ 1.4^\circ\text{C} < T \leq 2.4^\circ\text{C} & : 0.5 \\ 2.4^\circ\text{C} < T \leq 9.1^\circ\text{C} & : 1 \\ 9.1^\circ\text{C} < T \leq 12.4^\circ\text{C} & : 0.5 \\ 12.4^\circ\text{C} < T \leq 15.9^\circ\text{C} & : 0 \\ 15.9^\circ\text{C} < T \leq 18.0^\circ\text{C} & : -0.5 \\ T > 18.0^\circ\text{C} & : -1 \end{cases}$$

Modèle Utah positif (UCU+): unités de froid

$$UCU_{+tot} = \sum_{i=1}^t T_{U+}, \quad \text{with } T_{U+} = \begin{cases} T \leq 1.4^\circ\text{C} & : 0 \\ 1.4^\circ\text{C} < T \leq 2.4^\circ\text{C} & : 0.5 \\ 2.4^\circ\text{C} < T \leq 9.1^\circ\text{C} & : 1.0 \\ 9.1^\circ\text{C} < T \leq 12.4^\circ\text{C} & : 0.5 \\ T > 12.4^\circ\text{C} & : 0 \end{cases}$$

Modèle Dynamique (CP): « Chill Portions »

$$x_i = \frac{e^{\frac{slp * tetmlt * (T_K - tetmlt)}{T_K}}}{1 + e^{\frac{slp * tetmlt * (T_K - tetmlt)}{T_K}}}$$

$$x_s = \frac{a_0}{a_1} e^{\frac{e_1 - e_0}{T_K}}$$

$$ak_1 = a_1 e^{\frac{e_1}{T_K}}$$

$$inter_E = x_s - (x_s - inter_s) e^{-ak_1}$$

$$inter_s = \begin{cases} t = t_0 & : 0 \\ t > t_0 \wedge inter_{E_{t-1}} < 1 & : inter_{E_{t-1}} \\ t > t_0 \wedge inter_{E_{t-1}} \geq 1 & : inter_{E_{t-1}} (1 - x_i) \end{cases}$$

$$delt = \begin{cases} t = t_0 & : 0 \\ t > t_0 \wedge inter_E < 1 & : 0 \\ t > t_0 \wedge inter_E \geq 1 & : xi * inter_E \end{cases}$$

$$CP_{tot} = \begin{cases} t = t_0 & : delt \\ t \geq t_0 & : delt + CP_{t-1} \end{cases}$$

$$slp = 1.6$$

$$tetmlt = 277$$

$$a_0 = 139\,500$$

$$a_1 = 2.567 * 10^{18}$$

$$e_0 = 4153.5$$

$$e_1 = 12888.8$$

Pour la variété de pommier 'McIntosh', les unités de froid sont comblées lorsque le cumul atteint 900 unités de froid pour les modèles « Chilling Hours », Utah et Utah positif, ou 50 « chill portions » pour le modèle Dynamique. Dans le but de caractériser le profil hivernal propre à la dormance du pommier pour chaque site (nombre d'unités de froid disponibles durant l'hiver), le nombre d'unités de froid a été calculé avec chaque modèle pour les données de chaque hiver. Par contre, étant donné que les modèles à l'étude ont été conçus à partir de températures optimales pour le pêcher, un

modèle provenant d'une adaptation entre le modèle Utah et un modèle phénologique développé pour le pommier variété 'Gala', « Utah adapté au pommier » (UAP), a été conçu (Guak et Neilsen, 2013). Ce modèle permet de calculer le nombre d'unités de froid disponibles chaque hiver spécifiquement pour le pommier. Par contre, ce modèle ne pourra pas être utilisé pour prédire le débourrement puisque nous ne connaissons pas les besoins en unités de froid du pommier 'McIntosh' avec ce modèle. Le modèle UAP cumule au temps t pour chaque heure de la façon suivante, où T est la température:

$$UAP_{tot} = \sum_{i=1}^t T_{UAP}, \quad \text{with } T_{UAP} = \begin{cases} T \leq -2.1^{\circ}\text{C} & : 0 \\ -2,1^{\circ}\text{C} < T \leq 5.5^{\circ}\text{C} & : 1.0 \\ 5.5^{\circ}\text{C} < T \leq 7.0^{\circ}\text{C} & : 0.75 \\ 7.0^{\circ}\text{C} < T \leq 9.0^{\circ}\text{C} & : 0.5 \\ 9.0^{\circ}\text{C} < T \leq 13.0^{\circ}\text{C} & : 0.25 \\ 13.0^{\circ}\text{C} < T \leq 16.0^{\circ}\text{C} & : 0 \\ 16.0^{\circ}\text{C} < T \leq 18.0^{\circ}\text{C} & : -0.5 \\ T > 18.0^{\circ}\text{C} & : -1 \end{cases}$$

Modèle d'unités thermiques

Lorsque le cumul d'unités de froid est comblé, le cumul d'unités thermiques (degrés-jours) peut commencer. Pour calculer le nombre d'unités thermiques nécessaires au débourrement, la méthode de calcul des degrés-jours sinus simple de Baskerville a été utilisée (Baskerville et Emin, 1969). Les degrés-jours se calculent avec les températures maximales et minimales quotidiennes ainsi qu'avec la température seuil inférieure (température de base) de croissance chez le pommier qui est de 5°C . Ainsi, pour les trois sites, la période d'endormance a été calculée à partir du 1^{er} septembre jusqu'à l'accumulation de 900 unités hivernales pour les modèles « Chilling Hours », Utah et Utah positif ou 50 « chill portions » pour le modèle Dynamique. Ensuite, la période d'écodormance a été calculée jusqu'à l'accumulation de 79 degrés-jours, correspondant au débourrement.

Les dates de débourrement prédites par les cumuls d'unités thermiques précédés des cumuls d'unités de froid pour les quatre modèles («Chilling Hours», Utah, Utah positif et Dynamique) ont été comparées avec la méthode du cumul d'unités thermiques à partir du 1^{er} mars utilisée par les pomiculteurs québécois.

Observations phénologiques

Pour comparer les dates de débourrement prédites par les modèles avec les dates de débourrement observées (observations phénologiques), les dates de débourrement ont été notées pour des pommiers de variété 'McIntosh' pour les années 1981 à 2013 sur les trois sites (Frelighsburg, Oka, Orléans). Les données ont été recueillies par le réseau pommier du Québec.

Calcul du nombre d'unités de froid moyen disponible

Des moyennes ont été effectuées sur le nombre d'unités de froid calculé du 1^{er} septembre au 1^{er} mars de 1980 à 2013 pour les trois sites avec les quatre modèles. De plus, les températures optimales décrites dans l'étude de Guak et Neilson (2013) ont été incorporées au modèle Utah (modèle « Utah adapté au pommier ») afin de calculer le nombre d'unités de froid disponible dans la période 1980-2013 pour les trois sites à l'étude, avec des constantes propres au pommier.

Analyses statistiques

Des statistiques comparatives ont été effectuées afin de comparer la précision de chaque modèle. L'erreur quadratique moyenne, qui donne une mesure sur l'amplitude de la différence entre les dates observées et prédites (équation 1), l'efficience du modèle, qui donne une mesure de précision (équation 2), le test t, qui donne la

probabilité d'une différence significative entre les dates observées et prédites (équation 3) et l'erreur moyenne, qui donne une mesure de la direction de la différence entre les dates observées et prédites (équation 4), ont été calculés pour les années 1980 à 2013 pour les différents modèles et les différents sites (Yang et al., 2000).

$$\text{Équation 1 : RMSE} = \{[\sum(O_i - P_i)^2]/n\}^{0,5}$$

$$\text{Équation 2 : EF} = 1 - [\sum(O_i - P_i)^2]/[\sum(O_i - \bar{O})^2]$$

$$\text{Équation 3 : Test-t} = E/S_E$$

$$\text{Équation 4 : E} = [\sum(O_i - P_i)]/n$$

Changements climatiques

Afin d'évaluer l'effet des changements climatiques sur la dormance des bourgeons de pommiers, 5 indices climatiques ont été vérifiés durant la période 1950 à 2010 (tendances historiques) et les périodes du passé récent (1971-2000) et du futur proche (2041-2070). Ce sont : 1) la date de levée d'endodormance, 2) le cumul d'unités de froid du 1^{er} septembre au 1^{er} mars, 3) la date de levée d'écodormance (débourrement), 4) le cumul de degrés-jours du 1^{er} janvier au 1^{er} avril et 5) les cumuls de degrés-jours pour chaque mois de janvier à mars. Les indices ont été programmés en MS Visual Basic et intégrés dans un outil de modélisation spatio-temporelle développé par l'équipe de recherche en bioclimatologie et modélisation d'AAC.

Le modèle choisi pour calculer les unités de froid pour la partie changement climatique est le modèle Dynamique. Ce modèle a été sélectionné, suite à l'analyse de comparaison de modèles d'unités de froid, pour son rang global dans le Québec et sa bonne position pour chaque site étudié. Le modèle de degrés-jours a été utilisé pour calculer les unités thermiques. La levée d'endodormance survient lorsque le cumul d'unités de froid a atteint 50 alors que la levée de l'écodormance survient lorsque

séquentiellement le modèle Dynamique a atteint 50 et le modèle de degrés-jours a atteint 79. Pour la période « tendance historique », les données météorologiques provenant des jeux de données météorologiques quotidiennes canadiennes maillées aux 10 km pour les années 1950 à 2010 ont été utilisées pour exécuter le modèle Dynamique et le modèle de cumul de degrés-jours afin de calculer les indices. Des régressions linéaires ont été effectuées afin de vérifier la tendance historique des indices associés à la dormance.

Pour les périodes associées aux changements climatiques, la période de référence ou passé récent (1971 à 2000) utilise les données météorologiques provenant des jeux de données météorologiques quotidiennes canadiennes maillées aux 10 km tandis que la période du futur proche (2041 à 2070) utilise 14 scénarios climatiques prédisant les températures et les précipitations quotidiennes pour cette période. Ces scénarios climatiques ont été fournis par le Consortium sur la climatologie régionale et l'adaptation aux changements climatiques Ouranos (Montréal, Qc). Les scénarios climatiques sont présentés dans les tableaux 2.1 et 2.2. Les indices analysés sont les mêmes que pour les tendances historiques. Les 14 scénarios climatiques fournis par Ouranos ont servi aux projections. La moyenne pondérée 1 a été calculée à partir des 14 scénarios climatiques en fonction des indices de pondération basée sur les pilotes globaux utilisés (Tableau 2.1). La moyenne pondérée 2 a été calculée à partir des 14 scénarios en fonction des indices de pondération basée sur les scénarios d'émissions utilisés (Tableau 2.1). Par le fait même, les centiles 10 et 90% ont aussi été calculés. Ces centiles permettent de mieux caractériser les incertitudes associées aux différents scénarios climatiques du futur.

Tableau 2.1. Scénarios climatiques effectués à partir de simulations régionales.

Scénarios	Code de simulation MRCC4.2.3 à Ouranos (historique/futur)	Pilote	Scénarios d'émissions	Indice de pondération (pilote global)	Indice de pondération (scénario d'émissions)
R1	aez/afb	CCCMA-CG CM v3.1 #1	A2	0,0417	0,0417
R2	aez/afc	CCCMA-CG CM v3.1 #2	A2	0,0417	0,0417
R3	afa/afd	CCCMA-CG CM v3.1 #3	A2	0,0417	0,0417
R4	aet/aet	CCCMA-CG CM v3.1 #4	A2	0,0417	0,0417
R5	aev/aev	CCCMA-CG CM v3.1 #5	A2	0,0417	0,0417
R6	agx/agx	MPI-ECHAM v5 #1	A2	0,0833	0,0417
R7	ahi/ahk	MPI-ECHAM v5 #2	A2	0,0833	0,0417
R8	ahj/ahw	MPI-ECHAM v5 #3	A2	0,0833	0,0417

Tableau 2.2. Scénarios climatiques effectués à partir de simulations globales

Scénarios	Centre	MCG	Résolution	Scénarios d'émissions	Indice de pondération (pilote global)	Indice de pondération (scénario d'émissions)
G1	CCCMA	CGCM_ v3.1 #3	~ 280 km	B1	0,0417	0,1111
G2	CCCMA	CGCM_ v3.1 #4	~ 280 km	A1b	0,0417	0,1110
G3	CCCMA	CGCM_ v3.1 #4	~ 280 km	B1	0,0417	0,1111
G4	CSIRO	MK_ v3.5 #1	~ 140 km	A1b	0,1666	0,1111
G5	CSIRO	MK_ v3.5 #1	~ 140 km	B1	0,1666	0,1110
G6	MPI	ECHAM v5 #4	~ 140 km	A1b	0,0833	0,1111

2.4 Résultats

Comparaison des dates prédites par les différents modèles avec les dates observées

L'analyse des statistiques comparatives a été effectuée afin de comparer la précision moyenne des modèles de cumul hivernal et du modèle de cumul de degrés-jours pour les 3 sites du Québec (Frelighsburg, Oka, Orléans) réunis (Tableau 2.3). Le modèle Utah positif est le modèle avec la plus faible erreur quadratique moyenne (RMSE) soit 4,29 et une efficacité du modèle (EF) de 0,73, suivi par le modèle Dynamique (RMSE : 4,30 et EF : 0,74), le Utah et le « Chilling Hours ». Le modèle de cumul de degrés-jours est le modèle avec la plus haute RMSE soit 4,72 et la plus faible EF soit 0,69. Il est donc le modèle le moins performant pour les 3 sites réunis. Les erreurs moyennes (E) démontrent que tous les modèles prédisent un débourrement plus tardif que la réalité. En moyenne, les modèles prédisent de 0,4 à 2,2 jours en retard par rapport aux dates observées.

Tableau 2.3. Statistiques comparatives sur les dates de débourrement prédites et observées pour des bourgeons de pommier McIntosh pour les années 1980 à 2013 pour les sites de Frelighsburg, Oka et Orléans combinés. Ces statistiques comparatives sont calculées à partir des dates prédites par les différents modèles de cumul d'unités de froid suivi d'un cumul de degrés-jours. Le calcul des unités de froid commence le 1^{er} septembre et se termine lorsque qu'il atteint 900, ou 50 pour le modèle dynamique. Le « Cumul de degrés-jours » est calculé à partir d'une date fixe, soit le 1^{er} mars, jusqu'à la date de débourrement.

Modèles	RMSE ^a	EF ^b	Test-t ^c	E ^d
Utah positif	4,29	0,73	-0,946	-0,4
Dynamique	4,30	0,74	-3,634	-1,5
Utah	4,47	0,72	-4,866	-2
« Chilling Hours »	4,59	0,71	-4,051	-1,8
Cumul degrés-jours	4,72	0,69	-5,042	-2,2

^a Erreur quadratique moyenne

^b Efficacité du modèle

^c Test de Student

^d Erreur moyenne

Des comparaisons entre les dates prédites et observées ont aussi été effectuées pour chacun des sites. Les résultats divergent entre les régions. Pour le site de Frelighsburg, aucun modèle de cumul d'unités de froid n'améliore la précision de la date de débournement du modèle de cumul de degrés-jours. Par contre, les précisions des autres modèles sont aussi bonnes. De plus, les RMSE sont plus faibles et les EF plus élevés pour les modèles de cumul de degrés-jours, Utah et Dynamique que les deux autres modèles (Tableau 2.4). Selon les erreurs moyennes, le modèle Utah positif et le modèle Dynamique prédisent des dates plus hâtives tandis que les autres modèles prédisent des dates plus tardives que les dates observées.

Tableau 2.4. Statistiques comparatives sur la date de débournement de bourgeons de pommier McIntosh pour les années 1980 à 2013 prédites pour le site de Frelighsburg. Ces statistiques comparatives sont calculées à partir des dates prédites par les différents modèles de cumul d'unités de suivi d'un cumul de degrés-jours. Le calcul des unités de froid commence le 1er septembre et se termine lorsque qu'il atteint 900, ou 50 pour le modèle dynamique. Le « Cumul de degrés-jours » est calculé à partir d'une date fixe, soit le 1^{er} mars, jusqu'à la date de débournement.

Modèles	RMSE ^a	EF ^b	Test-t ^c	E ^d
Cumul degrés-jours	3,56	0,83	-0,841	-0,5
Utah	3,69	0,82	-0,236	-0,2
Dynamique	3,91	0,80	0,447	0,31
« Chilling Hours »	4,50	0,73	-0,077	-0,1
Utah positif	4,89	0,70	2,498	2

^a Erreur quadratique moyenne

^b Efficience du modèle

^c Test de Student

^d Erreur moyenne

Pour le site d'Oka, le modèle Utah positif est le modèle avec la plus faible RMSE soit 3,52 et une EF de 0,68, suivi du modèle de cumul de degrés-jours (RMSE : 3,69 et EF : 0,67), du Dynamique (RMSE : 4,05 et EF : 0,59), du « Chilling Hours » (RMSE 4,06 et EF : 0,59) et finalement du Utah (RMSE : 4,46 et EF : 0,53) (Tableau 2.5). Selon les erreurs moyennes, tous les modèles prédisent des dates plus tardives que les dates observées.

Tableau 2.5. Statistiques comparatives sur la date de débournement de bourgeons de pommier McIntosh pour les années 1980 à 2013 prédites pour le site d'Oka. Ces statistiques comparatives sont calculées à partir des dates prédites par les différents modèles de cumul d'unités de froid suivi d'un cumul de degrés-jours. Le calcul des unités de froid commence le 1^{er} septembre et se termine lorsque qu'il atteint 900, ou 50 pour le modèle dynamique. Le « Cumul de degrés-jours » est calculé à partir d'une date fixe, soit le 1er mars, jusqu'à la date de débournement.

Modèles	RMSE ^a	EF ^b	Test-t ^c	E ^d
Utah positif	3,52	0,68	-0,416	-0,3
Cumul degrés-jours	3,69	0,67	-2,523	-1,6
Dynamique	4,05	0,59	-1,758	-1,3
« Chilling Hours »	4,06	0,59	-1,855	-1,3
Utah	4,46	0,53	-2,887	-2,1

^a Erreur quadratique moyenne

^b Efficience du modèle

^c Test de Student

^d Erreur moyenne

Pour le site d'Orléans, le modèle avec la plus petite RMSE est le Utah positif (RMSE : 4,30; EF : 0,61) suivi du Dynamique (RMSE : 4,89 ; EF : 0,53). Le cumul de degrés-jours est le moins performant (RMSE : 6,36 ; EF : 0,30 (Tableau 2.6). Selon les erreurs moyennes, tous les modèles prédisent des dates plus tardives que les dates observées.

Tableau 2.6. Statistiques comparatives sur la date de débournement de bourgeons de pommier McIntosh pour les années 1980 à 2013 prédites pour le site d'Orléans. Ces statistiques comparatives sont calculées à partir des dates prédites par les différents modèles de cumul d'unités de froid suivi d'un cumul de degrés-jours. Le calcul des unités de froid commence le 1^{er} septembre et se termine lorsque qu'il atteint 900, ou 50 pour le modèle dynamique. Le « Cumul de degrés-jours » est calculé à partir d'une date fixe, soit le 1er mars, jusqu'à la date de débournement.

Modèles	RMSE	EF	Test-t	E
Utah positif	4,30	0,61	-5,566	-3,1
Dynamique	4,89	0,53	-6,242	-3,7
« Chilling Hours »	5,11	0,51	-6,884	-4
Utah	5,17	0,49	-6,192	-3,9
Cumul Degrés-jours	6,36	0,30	-5,532	-4,5

^a Erreur quadratique moyenne

^b Efficience du modèle

^c Test de Student

^d Erreur moyenne

Étant donné que l'accumulation de degrés-jours est possible avant que l'endormance soit levée, les mêmes analyses ont été répétées avec un plus petit nombre d'unités de froid. Ainsi, le nombre de 800 unités de froid a été utilisé pour les modèles « Chilling Hours », Utah et Utah positif, et le nombre de 40 pour le modèle Dynamique. Les résultats sont présentés en annexe. Cette analyse améliore particulièrement la précision pour les sites avec moins d'unités de froid disponibles.

Le nombre d'unités de froid disponibles calculé pour les années 1980-2013 pour chaque site varie entre les modèles (Tableau 2.7). Le site de Frelighsburg est le site avec le plus d'unités de froid disponibles suivi du site d'Oka et du site d'Orléans et ce pour tous les modèles sauf Utah. La différence dans le nombre d'unités de froid est plus faible entre Oka et Orléans qu'entre Frelighsburg et Oka. Au site de Frelighsburg, les modèles Utah (940) et Dynamique (64) atteignent le nombre optimal d'unités de froid contrairement aux sites d'Oka (980 et 58) et Orléans (940 et 58). Pour les modèles « Chilling Hours » et Utah positif, le nombre d'unités de froid disponibles est toujours supérieur au nombre optimal (900 ou 50). Le modèle Utah adapté au pommier calcule plus d'unités de froid que les autres modèles (1302-1399). Pour ce modèle, la proportion d'unités de froid disponibles à chaque site est similaire aux autres modèles. Le nombre d'unités de froid calculé par mois est disponible en annexe.

Tableau 2.7. Nombre moyen d'unités de froid calculés par les modèles « Chilling Hours », Utah, Utah positif, Dynamique et le modèle Utah adapté au pommier pour les hivers 1980 à 2013 du 1^{er} septembre au 1^{er} mars pour les sites de Frelighsburg, Oka et Orléans.

Sites	C.U.	Utah	Utah +	Dynamique	Utah adapté au pommier
Frelighsburg	1031	940	1094	64	1399
Oka	980	880	1023	58	1336
Orléans	940	898	1017	58	1302

Selon ces résultats, le modèle Dynamique est le modèle qui varie le moins entre les sites. Ce modèle a donc été utilisé afin de calculer les unités de froid et la date de débourrement pour les analyses effectuées sur les tendances historiques et les comparaisons de fenêtres temporelles associées aux changements climatiques. De plus, le modèle Dynamique est le modèle le mieux adapté au climat du Québec puisqu'il s'est bien classé globalement et à chacun des sites considérés séparément.

Tendances historiques et changements climatiques

La date de levée d'endormance pour les sites de Frelighsburg, Oka et Orléans a été calculée de 1950 à 2010. Des régressions linéaires simples ont été effectuées pour les trois sites. Aucune tendance significative n'est observable (Figure 2.1). Par contre, pour le site de Frelighsburg, une légère diminution de la date de levée d'endormance est observable. Les différences entre les dates de levée d'endormance les plus hâtives et les plus tardives pour les années 1950 à 2010 est de 101, 109 et 132 jours pour Frelighsburg, Oka et Orléans, respectivement. Le nombre d'unités de froid a aussi été vérifié pour cette même période. Entre les années 1950 à 2010, ce nombre varie de 45 à 65 unités pour le site de Frelighsburg, de 40 à 67 unités pour le site d'Oka et de 35 à 62 unités pour le site d'Orléans. La date de levée d'endormance et le nombre d'unités de froid disponibles chaque hiver (janvier à mars) sont des indices très variables dans le temps. Il n'y a donc aucune relation observable pour ces deux indices.

Les tendances historiques de la date de débourrement ont aussi été vérifiées par régressions linéaires pour les années 1950 à 2010 pour les sites de Frelighsburg, Oka et Orléans. La date de débourrement devient en moyenne plus hâtive au cours des années 1950 à 2010 pour le site de Frelighsburg (pente= -0,185; $p = 0,001$) et d'Oka (pente = -0,123; $p = 0,02$). Pour le site d'Orléans, on observe une légère tendance

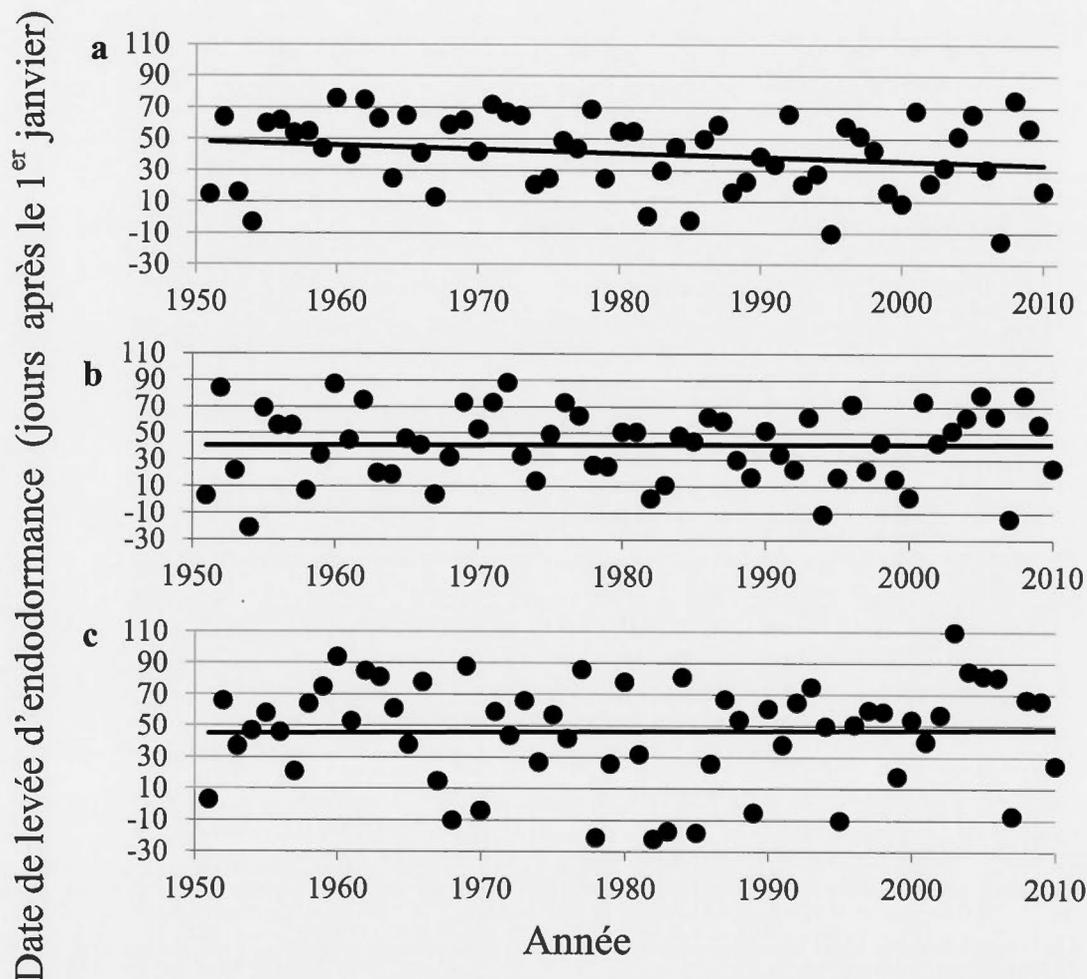


Figure 2.1. Tendances historiques des dates de levée d'endodormance en jours juliens prédites par le modèle Dynamique pour les années 1950 à 2010 (cumul de 50 unités de froid). Les jours du mois de décembre ont été transformés en valeurs correspondantes négatives. Les données météorologiques utilisées proviennent des jeux de données climatiques quotidiennes canadiennes à un maillage aux 10 km pour les années 1950 à 2010 (grille de point Anusplin). (a) Frelighsburg (b) Oka (c) Orléans

mais non-significative (pente = -0,245; $p = 0,06$).

Les tendances historiques du nombre de degrés-jours disponibles du 1^{er} janvier au 1^{er} avril ont été vérifiées pour le site de Frelighsburg, Oka et Orléans (Figure 2.3). Pour le site de Frelighsburg, on observe une hausse du nombre de degrés-jours entre les années 1950 à 2010 (pente = 0,347; $p = 0,001$) de même que pour le site d'Oka

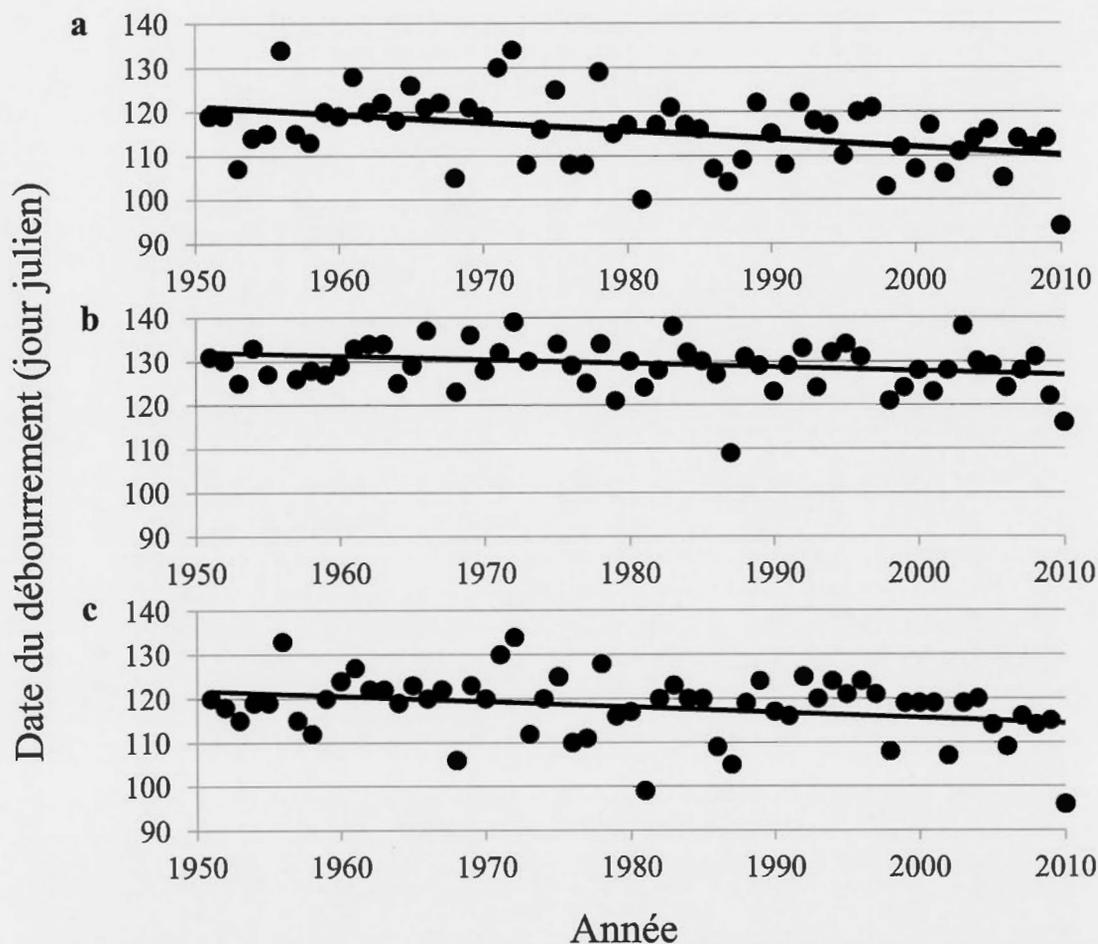


Figure 2.2. Tendances historiques des dates de débournement en jours juliens prédites par le modèle Dynamique suivi du modèle de degrés-jours pour les années 1950 à 2010. Le modèle de degrés-jours démarre lorsque le modèle Dynamique a atteint 50 unités de froid. La date de débournement prédite correspond à 79 degrés-jours. Les données météorologiques utilisées proviennent des jeux de données climatiques quotidiennes canadiennes à maillage aux 10 km pour les années 1950 à 2010 (grille de point Anusplin). (a) Frelighsburg (b) Oka (c) Orléans

(pente= 0,174; $p = 0,007$). Pour le site d'Orléans, aucune tendance n'est observable (pente= 0,044; $p = 0,173$). Afin d'établir si cette hausse de degrés-jours est proportionnelle pour chacun des mois à l'étude, les tendances du nombre de degrés-jours disponibles pour chaque mois ont aussi été vérifiées (Tableau 2.8). Cette hausse de degrés-jours est seulement observable pour le mois de mars pour chacun des sites.

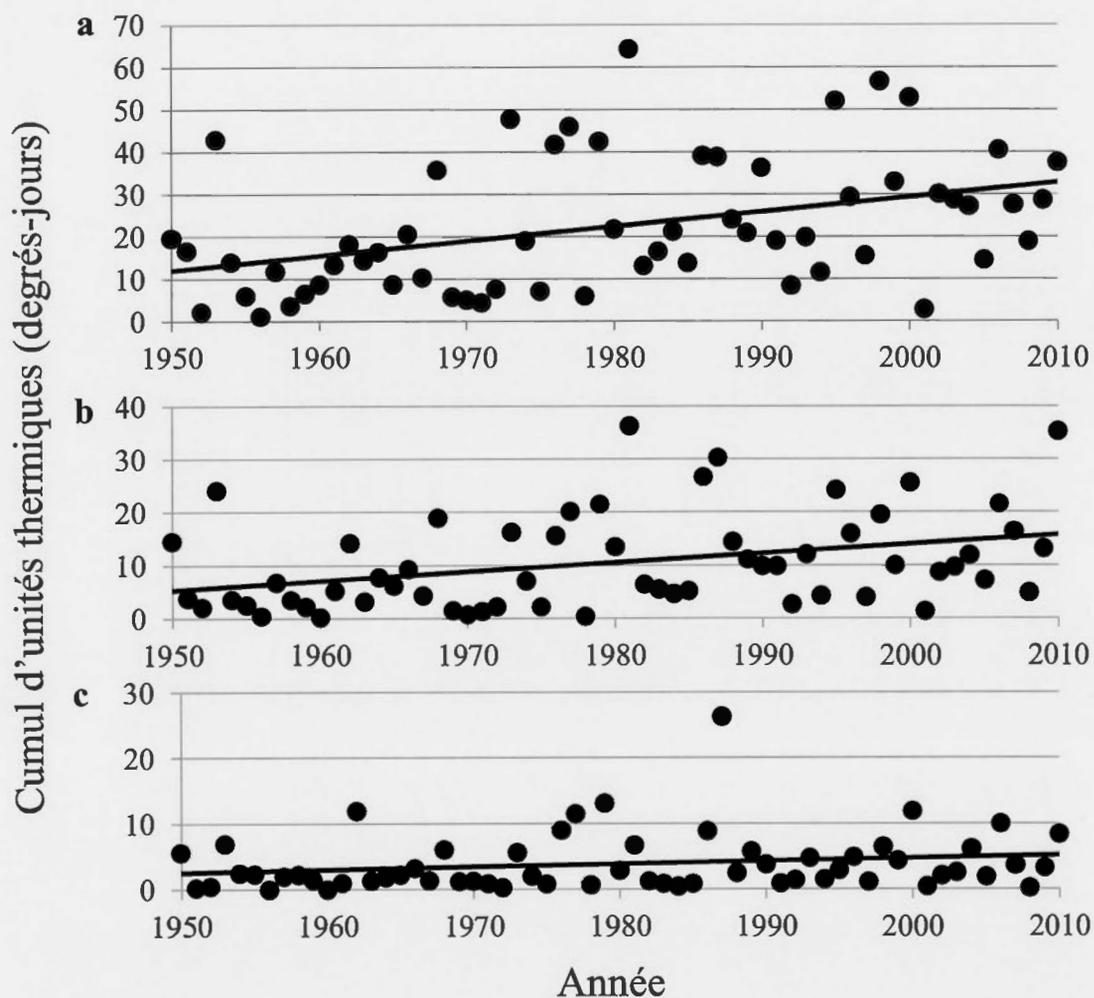


Figure 2.3. Tendances historiques du nombre de degrés-jours cumulés du 1^{er} janvier au 1^{er} avril pour les années 1950-2010. Le nombre de degrés-jours a été calculé avec la méthode des degrés-jours par sinus simple. Les degrés-jours se calculent avec les températures minimales et maximales quotidiennes ainsi qu'avec la température de base de développement chez le pommier (5°C). Les données météorologiques utilisées proviennent des jeux de données climatiques quotidiennes canadiennes à un maillage aux 10 km pour les années 1950 à 2010 (grille de point Anusplin). (a) Frelighsburg (b) Oka (c) Orléans

Tableau 2.8. Tendances historiques du nombre de degrés-jours disponibles par mois pour les sites de Frelighsburg, Oka et Orléans.

Sites	Mois	Pente
Frelighsburg	Janvier	0,05
	Février	0,049
	Mars	0,247**
Oka	Janvier	0
	Février	0,009
	Mars	0,164**
Orléans	Janvier	0,043
	Février	0,164
	Mars	0,247*

* $p < 0,05$

** $p < 0,01$

Changements climatiques (1971-2000 vs 2041-2070)

Selon les projections moyennes pour le futur proche, la levée de l'endodormance sera devancée pour les sites de Frelighsburg, Oka et Orléans (Tableau 2.9). Ce devancement sera plus important en moyenne pour la région d'Orléans (entre 26 et 28 jours) qu'à Frelighsburg (entre 10 à 12 jours) et Oka (entre 7 à 9 jours). L'écart-type élevé de la moyenne démontre une variabilité interannuelle très importante pour le passé récent. La différence entre les centiles 10 et 90 % démontre une forte variation entre les projections des différents scénarios climatiques du futur proche pour cet indice. Le devancement de la date de levée d'endodormance est appuyée par une augmentation du nombre d'unités de froid moyen disponibles pendant l'automne et l'hiver (Orléans 7; Frelighsburg 4; Oka 3). Le débourrement (levée d'écodormance) sera également devancé pour chaque site, de façon similaire au devancement de la date de levée d'endodormance sera similaire au devancement de la date de levée d'écodormance. Au site de Frelighsburg, le débourrement pour les années 2041 à 2070 aura lieu en moyenne de 12 à 13 jours plus tôt, au site d'Oka, 6 à 7 jours plus tôt et au site d'Orléans, 9 jours plus tôt. Le nombre de degrés-jours va augmenter pour chacun

des sites : Frelighsburg (moyenne de 21 à 22), Oka (moyenne de 13 à 14) et Orléans (moyenne de 8). Cette augmentation aura lieu surtout pendant le mois de mars. Le site de Frelighsburg sera le site avec la plus grande augmentation (en moyenne entre 14 et 15 degrés-jours) suivi d'Oka (9 à 10) et Orléans (6 à 7) pour le mois de mars.

Tableau 2.9. Variation d'indices de dormance entre deux fenêtres temporelles : référence (1971-2000) et futur proche (2041-2070).

Indices	Sites	Référence		Futur proche			
		Moy.	É-T	Scénario inférieur (10 %)	Moyenne pondérée 1 (variation avec la référence moyenne)	Moyenne pondérée 2 (variation avec la référence moyenne)	Scénario supérieur (90 %)
Date de levée d'endo. (JJ)	Frelig	41	23	-2	-10	-12	-19
	Oka	41	27	+5	-7	-9	-20
	Orléa	47	33	-11	-26	-28	-44
Nombre d'unités de froid	Frelig	54	5	+1	+4	+4	+7
	Oka	53	5	0	+3	+3	+6
	Orléa	51	6	+3	+7	+7	+10
Date de levée d'éco. (JJ)	Frelig	116	8	-8	-13	-12	-15
	Oka	118	7	-3	-7	-6	-9
	Orléa	130	6	-6	-9	-9	-11
Nb. de degrés-jours (JFM)	Frelig	28	17	+10	+22	+21	+29
	Oka	12	9	+7	+14	+13	+20
	Orléa	5	6	+3	+8	+8	+12
Nb. de degrés-jours (J)	Frelig	3	4	+2	+3	+3	+6
	Oka	1	1	+1	+1	+1	+3
	Orléa	0	1	+0	+1	+1	+2
Nb. de degrés-jours (F)	Frelig	4	8	+1	+4	+4	+6
	Oka	1	3	+0	+2	+2	+3
	Orléa	0	1	+0	+2	+1	+2
Nb. de degrés-jours (M)	Frelig	21	15	+7	+15	+14	+23
	Oka	10	5	+5	+10	+9	+14
	Orléa	4	5	+3	+6	+7	+10

Les valeurs présentées dans la section référence représentent les valeurs moyennes (Moy.) ainsi que l'écart-type (É-T) pour les années 1971-2000. Les valeurs présentées dans la section futur proche représentent la différence entre les prédictions pour la période futur proche obtenues à partir des scénarios climatiques et les moyennes calculées pour la période référence. Les prédictions inférieures et supérieures représentent respectivement le 10^e et le 90^e percentile des résultats obtenus par les scénarios climatiques. L'indice de dormance (date de levée d'endodormance (Endo.)) a été calculé à partir du

modèle Dynamique du 1^{er} septembre jusqu'à l'obtention de 50 « chill portions », l'indice (nombre d'unités de froid) a aussi été calculé à partir du modèle Dynamique du 1^{er} septembre au 1^{er} mars, et l'indice « date de levée d'écodormance (Éco.) » a été calculé à partir du 1^{er} septembre à l'aide du modèle Dynamique (50 « chill portions ») suivi du modèle de degrés-jours (79 degrés-jours). Le nombre (nb.) de degrés-jours (JFM) comprend le cumul de degrés-jours du 1^{er} janvier au 1^{er} avril, le nombre de degrés-jours est le cumul de degrés-jours durant le mois de janvier (J), de février (F) et de mars (M). Frelig., site Frelighsburg.

2.5 Discussion

Comparaison des différents modèles

L'intégration d'un modèle de cumul d'unités de froid au modèle de cumul de degrés-jours (modèle actuel) améliore d'environ une demi-journée la précision sur la date de débourrement pour l'ensemble des trois sites (Tableau 2.3). L'utilisation d'un modèle d'unités de froid permet en moyenne de prédire moins en retard qu'avec le modèle actuel, qui est basé sur le cumul de degrés-jours à partir d'une date fixe (1^{er} mars). De plus, l'utilisation d'un modèle de cumul d'unités de froid améliore la précision de 2 jours au site d'Orléans pour lequel le modèle actuel est le moins précis. Pour tous les sites, le modèle Utah positif prédit les dates de débourrement plus hâtives que les observations. Ce modèle suggère les meilleures prédictions pour les sites plus froids et ayant moins d'unités de froid, soit Oka et Orléans. À l'opposé, le modèle Utah est le modèle offrant les meilleures prédictions à Frelighsburg. Les modèles Utah positif et Utah semblent être très sensibles au choix du site. En effet, dépendamment du site, ces modèles s'échangent le premier rang et le dernier en terme de précision. Le modèle « Chilling Hours » ne se démarque pas pour aucun site. Le modèle Dynamique est le modèle le plus stable entre les sites. De plus, il a été démontré qu'il est le modèle le plus conservateur quant à la perte d'unités de froid (Luedeling et al., 2009b). C'est pourquoi il a été choisi pour les études de tendances historiques et de changements climatiques pour les indices sélectionnés.

Les dates de débourrement trop tardives prédites par les modèles peuvent être expliquées par une surestimation des besoins en unités de froid due à une mauvaise modélisation du processus biologique de dormance. Puisque la fin de l'endodormance arrive en parallèle avec le début de l'écodormance, il est possible que des degrés-jours soient accumulés avant la fin de l'accumulation des unités de froid. Pour améliorer la précision des modèles, les nombres de 800 (ou 40 pour le modèle Dynamique) unités de froid ont été utilisés dans une nouvelle analyse afin de prédire les dates de débourrement. Cette modification est avantageuse pour les sites plus froids (Oka et Orléans), mais désavantageuse pour le site de Frelighsburg. En utilisant 800 unités, les modèles prédisent des dates de débourrement trop hâtives pour ce site. Une surestimation des besoins en unités de froid serait donc peu probable à moins que les besoins en unités de froid ne soient pas fixes. La modification du nombre d'unités de froid a eu un plus grand impact avec les modèles Utah et Utah positif. Comme le modèle Dynamique est le moins affecté par cette modification, il est le modèle le moins sensible à une mauvaise estimation des besoins en unités de froid. Ces résultats confirment la littérature et complètent les analyses effectuées dans les régions plus chaudes (Luedeling et al., 2009b; Luedeling et Brown, 2011). Ainsi, le modèle Dynamique est le modèle prédisant le mieux dans les régions du Québec, le plus stable et le moins sensible au site et à l'espèce.

Les résultats suggèrent que les modèles ne sont pas parfaitement adaptés au climat québécois (Dennis, 2003). Ceci peut s'expliquer par le fait qu'aucun des modèles analysés dans cette étude n'a été conçu pour le pommier ou pour le type de climat du Québec. Cependant, le nombre d'unités de froid utilisés dans cette analyse (900 et 50) a été calculé pour le pommier à l'Université de Californie. La faible marge d'unités de froid excédentaires disponibles pour le débourrement du pommier chaque hiver peut être expliquée par une mauvaise estimation des températures optimales affectant l'endodormance. Il aurait été intéressant pour cette étude de trouver les températures

optimales chez le pommier variété 'McIntosh' et de les transférer aux modèles afin de prédire les dates de débourrement. Cette modification aurait amélioré la précision puisque les températures optimales pour le pommier sont différentes de celles du pêcher pour lesquelles les modèles ont été développés. Par contre, au moment de l'analyse, aucune information sur le pommier n'était disponible.

La précision variable entre les sites pourrait aussi s'expliquer par une mauvaise estimation des températures optimales disponibles à chaque site. Par contre, même s'il existe une différence de précision entre les régions Oka et Orléans, les deux sites sont similaires en termes d'unités de froid disponibles. Il devient donc difficile d'expliquer la divergence entre les sites puisqu'ils ont un nombre d'unités de froid similaire. Il se peut que cette différence s'explique par une sous-estimation des températures optimales affectant la dormance dans ces régions. Malgré qu'Orléans soit le site avec les températures hivernales les plus basses, il est le site avec le moins d'unités de froid disponibles. Il est possible qu'en considérant les températures optimales du pommier, Orléans aurait plus d'unités de froid disponibles chaque hiver. Ainsi, en intégrant le modèle Utah adapté au pommier, cette hypothèse a été vérifiée. Par contre, même en utilisant les températures optimales calculées pour le pommier variété 'Gala' (-2 et 5,5°C), la proportion d'unités de froid disponibles pour chaque site ne change pas (Guak et Neilsen, 2013). Il est possible que la différence réside dans la fréquence des températures inférieures à -2°C, mais aucune étude n'a encore testé l'effet de ces températures sur la dormance. S'il advenait que ces températures influencent la dormance, il se pourrait qu'il existe alors une différence entre Orléans et Oka quant à la disponibilité d'unités de froid inférieures à -2°C. Une autre hypothèse qui pourrait expliquer ces résultats serait l'utilisation de porte-greffes différents. Les producteurs d'Orléans utilisent possiblement des porte-greffes différents permettant au pommier de débourrer plus tôt. Il est connu que le porte-greffe influence la survie hivernale et,

possiblement, pourrait aussi influencer les besoins en unités de froid ou thermiques (Young et VWerner, 1985; Lease et al., 2009).

La date à laquelle les bourgeons commencent à accumuler des unités de froid peut aussi être une cause de mauvaise application des modèles. Tout comme le modèle Utah, le modèle développé par Guak et Neilsen (2013) permet d'avoir une date de début du cumul variable (Guak et Neilsen, 2013). Ces modèles sont donc plus représentatifs de la biologie du bourgeon. En effet, les autres modèles commencent leur cumul à la date du 1^{er} septembre, par contre à cette date les feuilles des pommiers ne sont pas tombées. Certaines études ont démontré que tant que la moitié des feuilles ne sont pas tombées, l'accumulation d'unités de froid est impossible (Couvillon, 1995). Par contre, une étude plus récente a contredit l'implication des feuilles dans la perception des températures froides (Cook et al., 2005).

Tendances historiques

Les tendances historiques de l'indice de la date de levée d'endormance sont difficiles à observer puisque celle-ci peut varier du mois de décembre au mois de mars pour les sites de Frelighsburg et d'Oka, et du mois de décembre au mois d'avril pour le site d'Orléans. De plus, aucune variation significative du nombre d'unités de froid n'est observable durant cette période. Cette variation peut s'expliquer par des températures du mois de novembre et décembre plus douces qui permettent de lever l'état d'endormance avant que les températures inférieures à 0°C des mois de janvier et février ne permettent plus de cumuler des unités de froid. Dans les cas où l'endormance n'est pas levée avant le mois de décembre, il n'est pas rare que la proportion d'unités de froid disponibles durant les mois de janvier et février soit insuffisante pour lever l'endormance, ce qui retarde la levée de celle-ci jusqu'au

mois de mars. En effet, les mois de janvier et février ont une normale climatique autour de -10°C , ce qui permet rarement une bonne accumulation d'unités de froid.

Au cours des 60 dernières années (1950-2010), le nombre d'unités de froid disponibles chaque hiver au Québec tend à rester similaire. Ce résultat est différent pour certaines régions, où une diminution du nombre d'unités de froid au cours du temps est observable (Baldocchi et Wong, 2008; Luedeling et al., 2009a). Cette diminution peut entraîner une augmentation de la durée de l'état d'endormance et ainsi avoir un impact direct sur le débourrement.

D'un autre côté, on observe un devancement de la date de débourrement pour ces années. Cette tendance semble plus prononcée pour le site de Frelighsburg et est aussi observée en pomiculture par d'autres auteurs (Chmielewski et al., 2004; Guédon et Legave, 2008). Une augmentation du nombre de degrés-jours vient appuyer ce résultat. Étant donné que les degrés-jours supplémentaires proviennent majoritairement du mois de mars, il semble que le devancement de la date de débourrement soit affecté par l'augmentation du nombre de degrés-jours pendant le mois de mars plutôt que pendant les mois précédents. Ainsi, des années 1950 aux années 2010, on observe un débourrement qui devient de plus en plus hâtif accompagné d'une augmentation des degrés-jours durant le mois de mars.

Changements climatiques

L'indice du nombre d'unités de froid disponible durant l'hiver devrait encore être très variable d'une année à l'autre pour la période du futur proche (2041-2070). Cependant, on prédit globalement une faible augmentation du nombre d'unités de froid pour la période du futur proche (2041-2070) en comparaison avec la période du passé récent (1971-2000). Ce résultat est contradictoire avec beaucoup de résultats

obtenus dans d'autres régions, mais similaire à la réponse prédite par d'autres auteurs pour le Canada (Luedeling et al., 2011). Ce résultat s'explique fort probablement par le fait qu'au Québec, durant l'hiver, les températures sont la majorité du temps sous les conditions optimales pour la dormance (de 1,4 à 12,4°C) plutôt qu'au-dessus. Ainsi, un léger réchauffement pourrait permettre à certaines températures près de 0°C de devenir des températures optimales pour lever la dormance. La date de levée d'endodormance va tendre à devenir de plus en plus hâtive entre les deux fenêtres temporelles (1971-2000 et 2041-2070), plus particulièrement pour le site d'Orléans. Par contre, il est difficile d'arriver à une conclusion sur les prédictions de la date de levée d'endodormance pour le futur proche puisque les dates prédites par les scénarios climatiques inférieurs et supérieurs sont très différentes, ce qui reflète une forte incertitude pour cet indice.

De plus, on prédit pour le futur proche (2041-2070) un devancement de la date de débourrement d'une à deux semaines, causé par l'augmentation du nombre de degrés-jours durant le mois de mars. Contrairement à certaines régions, un réchauffement des températures hivernales n'entraînera pas un prolongement de l'état d'endodormance (Legave et al., 2008). Au contraire, ce réchauffement pourrait augmenter le nombre d'unités de froid disponibles chaque hiver. Malgré que l'état d'endodormance puisse être écourté par cette augmentation d'unités de froid, les mois de janvier et février ne permettent pas d'accumuler assez de températures plus élevées pour influencer le débourrement. Ainsi, pour la période de 2041-2070, le réchauffement climatique influencera la date de débourrement surtout dû à une augmentation des températures au mois de mars.

En conclusion, le modèle Dynamique semble être le modèle le mieux adapté entre les modèles « Chilling Hours », Utah et Utah positif pour le climat du Québec. Par contre, certains processus ne sont pas encore totalement compris. Les résultats divergents

entre les sites démontrent que les températures utilisées par ces modèles ne sont pas optimales ou qu'il existe des différences en besoin d'unités (froid et/ou thermique) entre les pommiers variété 'McIntosh' des différents sites. Il est possible aussi que d'autres facteurs influencent la transition entre les deux états de dormance. Le nombre de degrés-jours nécessaire au débourrement devrait aussi être sujet au changement dans le futur. Finalement, il serait intéressant de trouver des marqueurs moléculaires permettant de déterminer de façon plus précise la date de transition entre l'état d'endodormance et d'écodormance.

CHAPITRE III
ARTICLE SCIENTIFIQUE

EXPRESSION GÉNÉTIQUE RELIÉE À LA TEMPÉRATURE DURANT LA
DORMANCE DE BOURGEONS FLORAUX DE POMMIER (*MALUS*
DOMESTICA BORKH.)

Marie-Pier Ricard, Gaétan Bourgeois et François Ouellet

Manuscrit en préparation pour la revue Botany

J'ai été impliquée dans toutes les facettes des travaux associés à cet article. J'ai participé à l'élaboration du protocole expérimental, j'ai effectué toute les récoltes de bourgeons et toutes les manipulations au laboratoire, ainsi que toutes les analyses. J'ai finalement rédigé la première version du manuscrit et conçu les figures. Gaétan Bourgeois a participé à l'élaboration du projet et au protocole expérimental. François Ouellet a participé à l'élaboration du projet et au protocole expérimental, et a de plus supervisé et complété la rédaction du manuscrit.

EXPRESSION GÉNÉTIQUE RELIÉE À LA TEMPÉRATURE DURANT LA
DORMANCE DE BOURGEONS FLORAUX DE POMMIER (*MALUS*
DOMESTICA BORKH.)

Marie-Pier Ricard^{1,2}, Gaétan Bourgeois² et François Ouellet^{1*}

Affiliations:

¹Université du Québec à Montréal
Département des Sciences biologiques
Case Postale 8888, Succursale Centre-ville
Montréal Québec H3C 3P8
Canada

²Agriculture et Agroalimentaire Canada
Centre de recherche et développement en horticulture
430, boul. Gouin
Saint-Jean-sur-Richelieu Québec J3B 3E6
Canada

Adresses courriel:

MPR: ricard.marie-pier@courrier.uqam.ca
GB: gaetan.bourgeois@agr.gc.ca
FO: ouellet.francois@uqam.ca

*Auteur de correspondance:

François Ouellet
Université du Québec à Montréal
Département des Sciences biologiques
Case Postale 8888, Succursale Centre-ville
Montréal Québec H3C 3P8
Canada
Courriel: ouellet.francois@uqam.ca
Téléphone: 1-514-987-3000, ext. 8402
Télécopieur: 1-514-987-4647

3.1 Résumé

La dormance est un mécanisme de survie permettant un synchronisme entre la croissance des plantes et les conditions environnementales favorables. La dormance hivernale est divisée en deux états soit l'endodormance et l'écodormance. Afin de débourrer, les bourgeons doivent être exposés à des températures froides (0-5°C chez le pommier) durant l'endodormance. Étant donné que le réchauffement climatique risque d'entraîner une diminution de l'importance des températures froides, il est important de mieux comprendre les mécanismes responsables de la dormance chez le pommier afin de prédire adéquatement le débourrement au printemps. Le but de cette étude était de déterminer si l'état de dormance pouvait être prédit par l'expression de certains gènes. Pour ce faire, des bourgeons floraux de pommier ont été récoltés à chaque mois, d'octobre à avril, durant les hivers 2011-2012 et 2012-2013. Les ARN ont été extraits et l'expression d'un gène MADS et d'une déhydrine a été vérifiée par RT-PCR quantitative. Le gène *MdMADS20* est 2 fois plus exprimé au début de la dormance qu'à la fin, tandis que la déhydrine *MdDHN* est faiblement exprimée au début en octobre, fortement exprimé en décembre et faiblement exprimé à la fin de l'hiver en mars. Les résultats pour la déhydrine démontrent que son expression est sensible à la température mensuelle et aux précipitations. L'expression du gène *MdMADS20* semble être associée à l'état de dormance (para-, endo- ou écodormance), indiquant que ce gène pourrait se révéler un outil intéressant pour prédire la date de débourrement des bourgeons.

Mots clés: bourgeons floraux, débourrement, dormance, extraction d'ARN, *Malus domestica*, pommier, qRT-PCR, température

3.2 Introduction

Les arbres fruitiers des régions tempérées sont exposés à des températures inférieures à 0° C durant l'hiver. Les processus de dormance et d'acclimatation au froid permettent aux structures sensibles des arbres de survivre à cette période de gel. Ces deux mécanismes sont induits par les mêmes signaux environnementaux, soit des courtes photopériodes et des températures froides. Les quatre principaux facteurs biologiques reliés à la dormance sont : la concentration des hormones dans les bourgeons, l'état de l'eau dans le bourgeon, la structure de la membrane plasmique qui affecte la résistance au froid et qui contrôle la reprise de la croissance, et le potentiel anabolique des bourgeons (Faust et al., 1997). Par contre, ces facteurs semblent être plus des conséquences que des causes de la dormance. La dormance est divisée en trois états: paradormance, endodormance et écodormance. La paradormance est une inhibition de croissance contrôlée par des facteurs physiologiques exogènes à la région dormante. Cet état est le mieux compris des trois états et est souvent décrit comme dominance apicale ou inhibition corrélative (Horvath et al., 2003). La paradormance permet à la plante d'allouer ces ressources à la reproduction et de contrôler son architecture (Lang, 1987). Il existe plusieurs revues qui décrivent cet état (Ongaro et Leyser, 2008; Ferguson et Beveridge, 2009). Les auxines, avec ou sans interaction avec d'autres hormones (acide abscissique, acide gibbérellique, cytokinines, strigolactones), sont connues pour entraîner un arrêt de croissance par l'altération du cycle cellulaire (Horvath et al., 2003; Olsen, 2003). Les sucres jouent aussi plus d'un rôle important dans la paradormance. Par exemple, ils sont nécessaires à l'expression de *CYCD3* chez *Arabidopsis* qui est responsable de la croissance (Rioux-Khamlichi et al., 2000). L'endodormance est le résultat de changements physiologiques internes qui empêchent la croissance lors des variations saisonnières (Rinne et al., 2011). La levée de cet état nécessite une accumulation

d'unités de froid. Une unité de froid correspond, par exemple, à une exposition d'une heure entre 0 et 7°C.

Plusieurs modèles tels le modèle « Chilling Hours » (Weinberger, 1950), le modèle Utah (Richardson et al., 1974) et le modèle Dynamique (Erez et Fishman, 1998) ont été développés pour utiliser le cumul du nombre d'unités de froid afin de prédire la levée de l'endormance. Contrairement à la paradormance, les contrôles moléculaires reliés à l'endormance sont mal compris. Chez plusieurs espèces, la température et la photopériode jouent un rôle important dans l'induction et la levée de dormance. Par contre, chez le pommier et le poirier, seule la température a un effet sur la dormance (Heide et Prestrud, 2005). Le phytochrome A, qui est connu pour être un régulateur important des réponses à la lumière, pourrait être impliqué dans l'induction de l'endormance (Horvath et al., 2003). Selon un modèle hypothétique publié, le mécanisme affectant l'induction de l'endormance serait différent selon le facteur environnemental. En effet, différents gènes pourraient être impliqués dans l'induction de l'endormance pour des espèces affectées par des températures froides: gènes DAM (DORMANCY ASSOCIATED MADS-BOX), CBF (C-REPEAT BINDING FACTORS), et FT (FLOWERING LOCUS T)/CENL (CENTRORADIALIS-LIKE 1). D'autre part, la lumière induirait l'action des gènes PHYA (PHYTOCHROME A), CO (CONSTANS), DAM, et FT/CENL (Horvath, 2009). L'écodormance est un état d'arrêt de croissance imposé par des facteurs environnementaux. La croissance peut reprendre lorsque les conditions deviennent favorables. Il a été démontré que la concentration de gibbérellines augmente significativement suite à l'accumulation des unités de froid (Rinne et al., 2011).

Récemment, on s'est intéressé à l'aspect moléculaire de la dormance. Une étude a démontré l'implication d'un gène de la famille KNOTTED1 (KN1) dans le maintien de l'état de dormance chez le pommier et ce, seulement dans les bourgeons végétatifs

du pommier (Garcia-Bañuelos et al., 2009). Plusieurs études se sont concentrées à trouver des gènes responsables de la dormance. Les gènes SVP-like de la famille des MADS ont été associés à l'induction et/ou à la levée de l'endodormance chez le fraisier (Mazzitelli et al., 2007), l'abricotier japonais (Yamane et al., 2011), l'euphorbe érule (Horvath et al., 2008), la vigne (Diaz-Riquelme et al., 2009), le kiwi (Wu et al., 2012), le poirier japonais (Saito et al., 2013) et le pêcher (Jiménez et al., 2010b). Les gènes DAM ont d'abord été identifiés comme candidat participant à la cessation de croissance et à la formation des bourgeons terminaux pour le pêcher. Ces gènes sont aussi considérés comme les principaux candidats contrôlant l'expression génétique associée à la dormance des bourgeons et à l'arrêt de croissance du méristème (Jiménez et al., 2010a). Les similarités entre les gènes DAM chez différentes espèces ont souvent été démontrées. D'autre part, de nouveaux gènes SVP-like ont été récemment associés à la dormance chez le kiwi. Ceux-ci ont été utiles pour générer un arbre phylogénétique démontrant la proximité de plusieurs gènes SVP-like chez les monocotylédones et les dicotylédones, ce qui a permis de trouver de nouveaux gènes potentiellement associés à la dormance chez le pommier (Wu et al., 2012). Plus récemment, un arbre phylogénétique regroupant le pommier, le poirier et le pêcher a été construit grâce aux séquences complètes en acides aminés des protéines PpMADS13-1, PpMADS13-2 et PpMADS13-3 du poirier japonais (Saito et al., 2013). Ces deux arbres présentent des ressemblances entre des protéines SVP-like associés à la dormance et des protéines MADS chez le pommier.

D'un autre côté, plusieurs études ont démontré que l'accumulation des déhydrines est associée avec la résistance au froid chez les végétaux, et c'est aussi le cas chez les arbres fruitiers. Chez plusieurs espèces, la production de déhydrines est corrélée avec les changements saisonniers (Wisniewski et al., 2006; Yamane et al., 2006; Garcia-Bañuelos et al., 2009). Chez la plupart des arbres fruitiers, la dormance et la résistance au froid sont inter-reliées. La production de déhydrines est connue pour

être aussi déclenchée par les températures froides. Lorsque les unités de froid s'accumulent, les déhydrines semblent diminuer pour rester présentes jusqu'à la reprise de croissance (Faust et al., 1997). Il devient donc difficile de distinguer la dormance de la résistance au froid puisque ces deux processus sont induits par les mêmes facteurs et prennent place en même temps (Arora et al., 1997). Certains croient que les déhydrines associées à la résistance au froid pourraient aussi être associées à la dormance (Horvath et al., 2003).

Les besoins en unités de froid sont utilisés comme une référence indirecte aux états de dormance puisqu'aucun changement dans le bourgeon n'est apparent lors des différents états de dormance (Garcia-Bañuelos et al., 2009). En effet, lorsque le cumul d'unités de froid est complété, un cumul d'unités thermiques (ex. : degrés-jours) démarre. L'utilisation en séquence de ces deux types de modèles permet de prédire le débourrement des bourgeons. Avec le réchauffement climatique et la diminution des températures froides, il devient essentiel de mieux comprendre ces processus afin de les modéliser. Ces modèles pourraient permettre de limiter les effets d'un manque d'unités de froid et d'améliorer la régie en verger. Certains modèles intégrant la dormance ont déjà été développés. Par contre, ces modèles sont peu performants dû à une incapacité de suivre le processus de dormance (la transition entre les états) et un manque de connaissance sur les processus physiologiques impliqués durant la dormance. Une meilleure connaissance du processus de dormance permettrait d'améliorer et de vérifier si le processus est bien modélisé. Il serait intéressant de trouver des outils moléculaires permettant le suivi et la compréhension de la transition entre les différents états de dormance. Dans cette étude, le pommier a été choisi pour sa dominance dans la production fruitière québécoise. Un gène de la famille MADS et une déhydrine ont été choisis pour leur possible implication dans les mécanismes de dormance et de résistance au froid (Garcia-Bañuelos et al., 2009; Wu et al., 2012; Saito et al., 2013).

3.3 Matériels et méthodes

Matériel biologique

Les bourgeons de pommier 'Cortland' récoltés pour l'extraction d'ARN proviennent d'une plantation de 1981 située sur la ferme expérimentale d'Agriculture et Agroalimentaire Canada à Frelighsburg. À proximité des pommiers, 4 senseurs de type Hobo Pro v2 ont été disposés de façon à enregistrer la température horaire et l'humidité relative au niveau des bourgeons durant l'expérimentation. Les senseurs étaient installés dans un abri solaire pour les protéger des rayons solaires directs qui pourraient fausser les données de température. Trente bourgeons ont été récoltés sur trois arbres à chaque mois de la mi-octobre jusqu'au débourrement pour les hivers 2011-2012 et 2012-2013. Dès leur arrivée au laboratoire, les bourgeons ont été placés dans un congélateur à -80°C. Afin de construire un modèle phénologique annuel, un suivi des stades phénologiques a été effectué à partir du débourrement jusqu'à la sénescence pour les deux années. Les stades durant la saison de croissance ont été caractérisés à l'aide de l'échelle BBCH (**B**iologische Bundesanstalt, **B**undessortenamt et **C**hemische Industrie) (Meier, 2001).

Extraction d'ARN

Les bourgeons d'arbres, à cause de leurs écailles et leur faible contenu en eau, sont des tissus récalcitrants pour l'extraction de macromolécules comme les ARNs. Plusieurs protocoles ont été testés pour obtenir un bon rendement et une bonne qualité d'ARN des bourgeons: celui de Gasic (Gasic et al., 2004), le Tri-Reagent (Sigma-Aldrich), le Plant RNeasy Mini Kit (QIAGEN), et un QIAGEN modifié. La pureté et la quantité de chaque extraction d'ARN ont été vérifiées par spectrophotométrie tandis que la qualité a été vérifiée sur gel d'agarose. Malgré

l'ajout d'une étape d'extraction phénol/chloroforme et de l'utilisation d'un polytron, les résultats obtenus avec le protocole de Gasic n'étaient pas satisfaisants en termes de qualité de l'ARN et de quantité d'ARN obtenues par rapport au matériel de départ. Le protocole utilisant le Tri-reagent a occasionné une inversion de phase, et n'a donc pas été retenu. Plusieurs variantes du protocole de QIAGEN ont été testées (solution d'extraction de base avec ajout de sarkosyl, avec ajout de polyéthylène glycol (Gehrig et al., 2000)). Le protocole qui s'est avéré le meilleur pour sa qualité d'ARN et sa quantité est un protocole de QIAGEN avec une solution d'extraction maison (MacKenzie et al., 1997).

Le protocole de QIAGEN modifié

Le tampon d'extraction était une solution de 4 M guanidine isothiocyanate, 0,2 M sodium acétate pH 5,0, 25 mM EDTA, 2,5% (p/v) polyvinylpyrrolidone-40 et 1% (p/v) dithiothréitol. Deux bourgeons ont été broyés dans un mortier à l'aide d'un pilon dans l'azote liquide. La poudre a été transférée dans un tube eppendorf de 2 ml avec 1,2 ml de tampon d'extraction et vortexée vigoureusement. Un volume de 120 µl de sarkosyl 20% (p/v) a été ajouté et le mélange a été homogénéisé au polytron. La solution a été incubée durant 10 minutes à 70°C, transférée sur la colonne mauve de filtration de la trousse QIAGEN et centrifugée pendant 2 minutes à vitesse maximale. Un volume égal de chloroforme:alcool isoamylique a été mélangé à la solution par inversion et centrifugé pendant 10 minutes à 8000g. Le surnageant a été recueilli et 0,5 volume d'éthanol 100% a été ajouté. Le mélange a été transféré sur la colonne rose de la trousse QIAGEN puis centrifugé durant 15 secondes à 8000g. La colonne a été lavée avec 700 µl du tampon RW1 puis avec 500 µl du tampon RPE par centrifugation. Le lavage au RPE a été répété, mais la colonne a été centrifugée durant 2 minutes. La colonne a été placée dans un nouveau tube et 40 µl d'eau DEPC ont été ajoutés. L'ARN a été récolté après 1 minute de centrifugation à 8000g.

Pour chaque extraction, 1 µg d'ARN a été traité avec 2 unités de DNaseI recombinante (Invitrogen) et 1 µl de tampon de réaction (100 mM Tris-HCl (pH 7,5), 25 mM MgCl₂, 5 mM CaCl₂) pour un volume final de 10 µl. La solution a été incubée à 37°C pendant 30 minutes. Deux µl d'EDTA 25 mM ont été ajoutés puis la solution a été chauffée pendant 5 minutes à 75°C pour inactiver la DNase.

qRT-PCR

L'expression des gènes d'intérêt a été déterminée par la méthode RT-PCR (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction) quantitative en temps réel avec l'appareil CFX96 Touch (Bio-Rad). Les ADN complémentaires ont été générés par transcription inverse avec la trousse iSCRIPT (Bio-Rad). Pour 1 µg d'ARN, 2 µL de 5x iScript reverse transcription supermix a été utilisé. Le volume final a été complété avec de l'eau DEPC pour un volume final de 20 µL. Le protocole de la réaction est divisé en trois étapes soit le « priming » de 5 minutes à 25°C, la transcription inverse de 30 minutes à 42°C puis l'inactivation à 85°C pendant 5 minutes. La réaction de PCR a été effectuée avec la trousse SsoFast EvaGreen (Bio-Rad) avec les conditions suivantes : 30 secondes à 95°C suivi de 40 cycles de 5 secondes à 95°C/ 5 secondes à 60°C. Pour générer les courbes de fusion, les échantillons ont ensuite été exposés pendant 30 secondes à un gradient de température de 65 à 95°C à intervalle de 5 secondes et saut de 0,5°C.

Dans un premier temps, nous avons utilisé la capacité de l'appareil à effectuer 8 conditions différentes de températures d'appariement pour déterminer la température optimale pour chaque paire d'amorces. Ainsi, une optimisation des températures de fusion des amorces pour les différents gènes a été effectuée pour les températures entre 55 et 65°C. La quantité d'amorces optimale pour chaque gène a aussi été déterminée (200 à 600 nM). Une courbe standard de différentes concentrations

d'ADNc a été effectuée pour chacun des gènes pour chaque échantillonnage à partir de 8 dilutions en triplicata. Pour les gènes les plus abondants, des dilutions 1/4 ont été utilisées et pour les gènes les moins abondants des dilutions 1/2 ont été utilisées. Certains amplicons ont été vérifiés sur gel d'agarose 1,2% avec du bromure d'éthidium.

Choix des gènes

Plusieurs gènes de références ont été analysés afin de trouver ceux dont l'expression ne variait pas durant la saison hivernale. Les 3 gènes de référence qui ont été testés sont l'ARN ribosomique 18S (CV826359), qui a été utilisé dans une étude similaire (Watillon et al., 1997), l'actine (GO558015) (Gasic et al., 2004) et l'ubiquitine (GO503348) (Brunel et al., 2002). Pour certains d'entre eux, 2 paires d'amorces ont été testées : les amorces suggérées dans l'article de référence et les amorces trouvées à partir du logiciel Primer3 (Untergrasser et al., 2012) (Tableau 3.1). Les gènes d'intérêt ont été choisis pour leur homologie avec des gènes associés à la dormance (*MdMADS20*) ou leur association au froid (*MdDHN*). Un gène connu codant pour une déhydrine chez le pommier a été utilisé pour son association d'expression avec le froid chez les bourgeons floraux de pommier. La fonction Mégablast de BLASTn de NCBI et la base de données non-redondantes (nr database) ont été utilisées afin de trouver par alignement de nucléotide des gènes chez le pommier qui seraient similaires aux gènes déjà associés à la dormance chez d'autres espèces fruitières. Deux gènes de référence (18S et ubiquitine) ont été sélectionnés afin de normaliser les résultats d'expression relative des gènes d'intérêt *MdDHN* (DQ660905) et *MdMADS20* (HM122604). Le critère de variabilité de ces gènes de référence a été satisfait (Target stability : M value < 1). Les paires d'amorces qui ont été optimisées sont MdUbiquitin-F1 et -R1, MdrRNA 18S-F1 et -R1, MdDHN-F1 et -R1,

MdMADS20-F1 et -R1. De plus, chaque efficacité des courbes de dilution étaient comprises entre 95 et 105% avec des $r^2 > 0,98$.

L'expression des gènes sélectionnés a été vérifiée tout au long de la saison hivernale, aux dates indiquées dans les figures. Pour chaque date, 3 bourgeons récoltés de 3 arbres différents ont été utilisés afin d'obtenir des triplicatas biologiques. De plus, chacun des 3 réplicats biologiques a été testé en triplicatas techniques.

Tableau 3.1. Oligonucléotides utilisés pour la PCR quantitative en temps réel pour l'étude de la dormance des bourgeons de pommier

Amorces	Séquence nucléique (5' → 3')
MdUbiquitin-F1	CCCTTCACTTGGTGCGTCTGAGG
MdUbiquitin-R1	TCAGCCAGGGTCCTTCCATCCTCCA
MdUbiquitin-F2	GGTGACGTATGCAGATCTTCG
MdUbiquitin-R2	ACAACGCAGAGGCACCACCG
MdrRNA 18S-F1	AGGAAGGCAGCAGGCGCGCAA
MdrRNA 18S-R1	GGCTGCTGGCACCAGACTTGCCCT
MdActin-F1	CTACAAAGTCATCGTCCAGACAT
MdActin-R1	TGGGATGACATGGAGAAGATT
MdActin-F2	TCCTGTGCATTGAGGGACCGGAT
MdActin-R2	TGCATTGGCCCCAAGCAGCATGAAGA
MdDHN-F1	GGTGGGACTGGGCGCACCGGA
MdDHN-R1	GCGCAACGGTGGATCACCCACGCA
MdMADS20-F1	AGCTGAGGCAGATGAAGGGCGAGGACC
MdMADS20-R1	ACTCCATGATGGCCGCAGGTCCGA

Analyses statistiques

Les niveaux relatifs d'expression des gènes d'intérêt ont été obtenus à partir de la fonction « Gene study » du logiciel CFX Manager (Bio-Rad). De plus, des régressions linéaires simples ont été effectuées afin de déterminer l'importance de l'état de dormance sur les niveaux d'expression de *MdMADS20* et l'importance de la température sur les niveaux d'expression de *MdDHN*.

3.4 Résultats

Un arbre phylogénétique a été conçu grâce à des alignements de séquences de nucléotides afin de trouver s'il existait un ou des gènes chez le pommier similaires aux gènes *DAM* associés à la dormance chez le pêcher (*Prunus persica* (L.) Batsch). La séquence des nucléotides de *MdMADS20*, un gène du pommier, a d'abord été trouvée par BLASTN par alignement de séquences similaires dans NCBI. L'alignement a été fait sur NCBI avec la fonction Mégablast. Ensuite, afin de vérifier si la plupart des gènes similaires à *MdMADS20* ont déjà été associés à la dormance, une analyse Mégablast a été effectuée à partir de *MdMADS20*. Les gènes trouvés ont été traduits en séquences protéiques et un arbre phylogénétique a été conçu avec Vector NTI (Invitrogen) basé sur l'approche Neighbor Joining (Figure 3.1). La protéine *MdMADS20* du pommier est ressortie pour les analyses effectuées à partir de *PpDAM2*, *PpDAM3* et *PpDAM4*. Les protéines les plus similaires à *MdMADS20* sont des protéines associées à la dormance (*PpMADS13-1*, *PpMADS13-2*, *PpMADS13-3*, *PmDAM2*, *PaMADS1*).

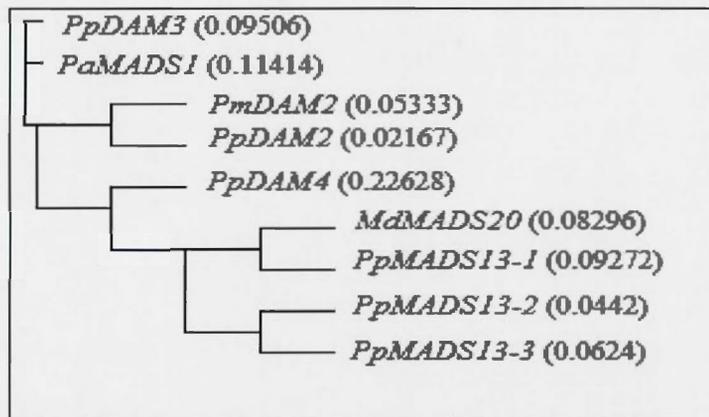


Figure 3.1. Similitudes des protéines MADS associées à la dormance chez différents arbres fruitiers avec MdMADS20 du pommier. *Pp* : *Prunus persica* (L.) Batsch, *Pa* : *Prunus avium* (L.) L., *Pm* : *Prunus mume* (Sieb.) Sieb. et Zucc., *Md* : *Malus domestica* Borkh., *Pp* : *Pyrus pyrifolia* (Burm.f.) Nakai

Expression des gènes

Les paires d'amorces MdUbiquitin-F1, MdUbiquitin-R1, MdrRNA 18S-F1, MdrRNA 18S-R1, MdDHN-F1, MdDHN-R1, MdMADS20-F1, MdMADS20-R1 ont été choisies pour l'amplification des gènes. Ces paires d'amorces et les conditions de PCR ont été choisies pour obtenir des valeurs de cycle seuil (CT) comprises entre 10 et 25. Les gènes ubiquitine et 18S ont été choisis comme gènes de référence pour leur stabilité d'expression durant la saison hivernale.

Pour les hivers 2011-2012 (Figure 3.2a) et 2012-2013 (Figure 3.2b), les niveaux d'expression du gène *MdMADS20* sont significativement supérieurs durant l'état d'endodormance (indice de dormance compris entre 2 et 1) comparé à l'état d'écodormance (indice de dormance compris entre 1 et 0). Au fil de la saison hivernale, les niveaux d'expression relative diminuent graduellement. Durant l'hiver 2011-2012, le niveau d'expression le plus élevé pour *MdMADS20* est celui du 27 octobre ($1,520 \pm 0,144$ (S.E.)) et les deux niveaux d'expression les plus bas sont ceux

du 15 mars ($0,224 \pm 0,055$ (S.E.)) et du 28 mars ($0,032 \pm 0,005$ (S.E.)) (Figure 3.2a). Pour l'hiver 2012-2013, le niveau d'expression du gène *MdMADS20* au 10 octobre ($1,330 \pm 0,284$ (S.E.)) tend à être plus faible que le niveau d'expression relative au 29 octobre ($1,798 \pm 0,297$ (S.E.)) (Figure 3.2b). De plus, les niveaux d'expression tendent à diminuer durant l'hiver pour être les plus faibles le 11 avril, 12 jours avant le débourrement ($0,181 \pm 0,066$ (S.E.)).

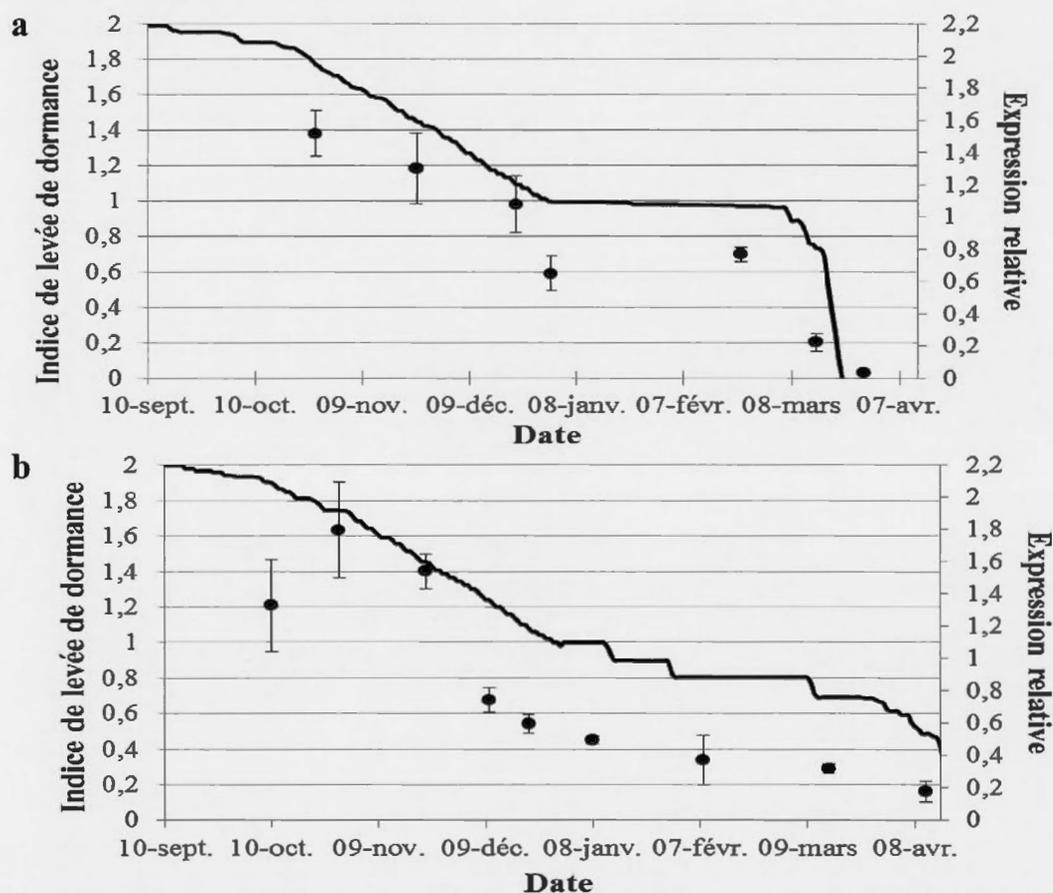


Figure 3.2. Indice de levée de dormance et expression relative du gène *MdMADS20* durant la levée de dormance du pommier. Les ARNm ont été extraits de bourgeons récoltés à l'hiver 2011-2012 (a) et à l'hiver 2012-2013 (b), puis rétrotranscrits en ADNc. L'expression des gènes a ensuite été déterminée par qPCR. Les niveaux relatifs d'expression (ronds noirs) ont été standardisés avec 18S et ubiquitine. Les données proviennent de la fonction Gene study du logiciel CFX96 Touch Manager de Bio-Rad. L'indice de dormance (trait) a été calculé avec le modèle de cumul d'unité de froid Dynamique suivi du modèle de cumul d'unité thermique Degrés-jours. Un indice de 2 représente le niveau de dormance le plus élevé, un indice compris entre 2 et 1 représente l'endodormance, un indice compris entre 1 et 0 représente l'écodormance et un indice de 0 représente la levée de dormance.

Pour le gène codant pour la déhydrine *MdDHN*, le profil d'expression est différent de celui du gène *MdMADS20*. Pour l'hiver 2011-2012 (Figure 3.3a), les niveaux d'expression relative sont significativement plus faibles au début de l'hiver (octobre, novembre) et à la fin de l'hiver (mars, avril). Les mois de décembre à février, qui sont les plus froids, montrent les niveaux d'expression relative les plus hauts. Pour l'hiver 2012-2013 (Figure 3.3b), le profil d'expression est sensiblement similaire à l'hiver 2011-2012. Le plus grand nombre de données permet d'observer des valeurs d'expression relative équivalentes pour les mois de novembre à décembre. Pour les deux hivers, il y a donc une tendance pour des niveaux d'expression relativement bas à l'automne, élevés en hiver et plus bas au printemps. Les niveaux d'expression semblent varier avec les températures mensuelles.

Il est possible d'observer des variations significatives d'expression entre trois dates successives (Figure 3.3a). Par exemple, pour l'hiver 2011-2012, le niveau d'expression du 1^{er} janvier ($1,672 \pm 0,200$) est significativement plus bas que les niveaux du 22 décembre ($2,546 \pm 0,555$) et du 23 février ($2,364 \pm 0,131$). Cette variation ne semble pas s'expliquer par une variation des températures moyennes quotidiennes qui sont respectivement de 1,0, 1,1 et 0,4°C.

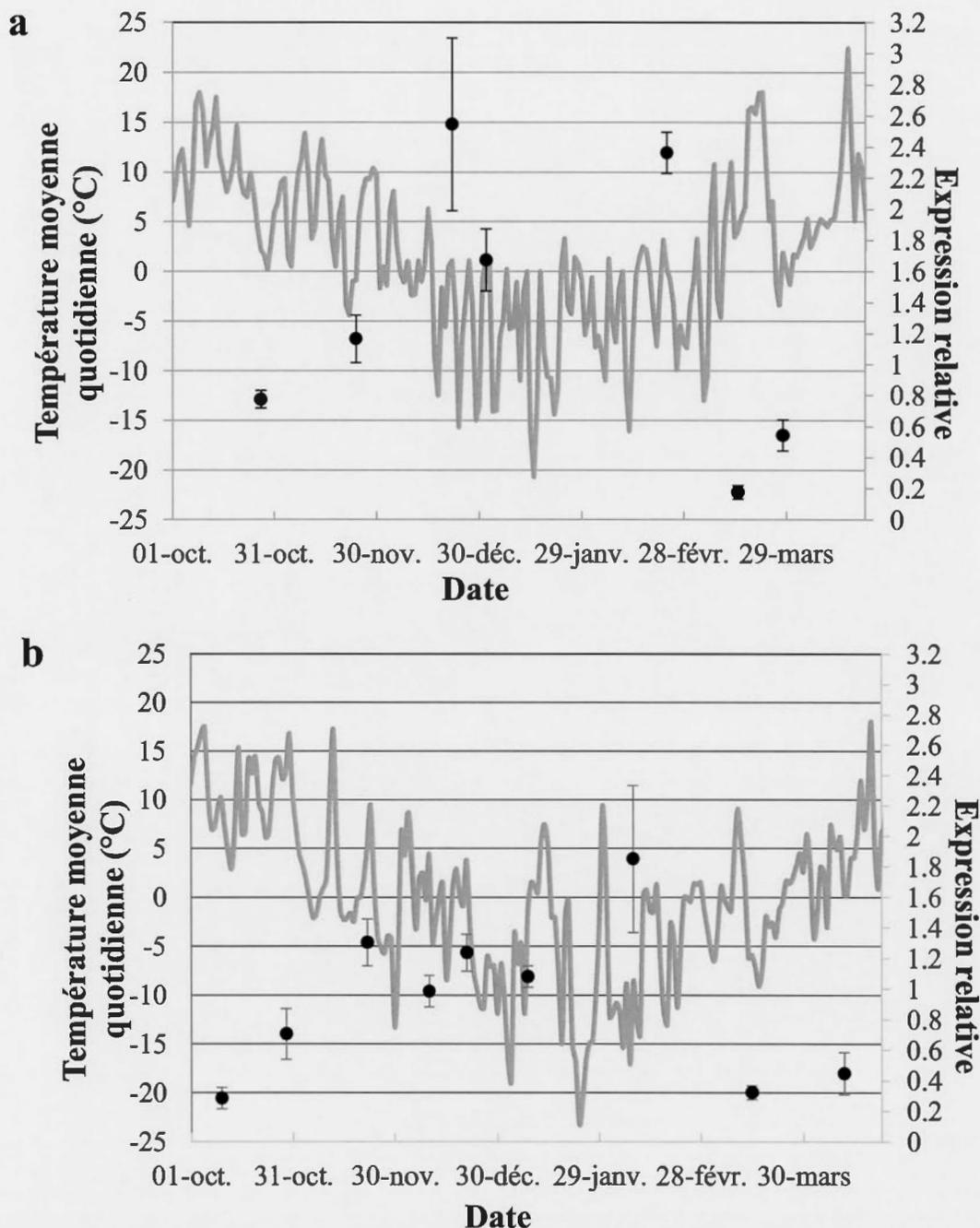


Figure 3.3. Expression relative du gène *MdDHN* et température moyenne quotidienne. Les ARN ont été isolés des bourgeons prélevés au cours de l'hiver 2011-2012 (a) et de l'hiver 2012-2013 (b), puis rétrotranscrits en ADNc. Les niveaux des gènes ont ensuite été déterminés par qPCR. Les niveaux relatifs d'expression (ronds noirs) ont été standardisés avec 18S et ubiquitine. Les données proviennent de la fonction Gene study du logiciel CFX96 Touch Manager de Bio-Rad.

3.5 Discussion

L'extraction d'ARN est normalement facilement réalisable lorsqu'on travaille avec des plantes modèles tel *Arabidopsis*, le tabac, la tomate, ou le maïs (Kiefer et al., 2000). Par contre, le matériel végétal provenant des arbres ou des plantes ornementales, comme les fleurs et les bourgeons, causent plus de problèmes lors de l'extraction de l'ARN. L'extraction devient plus complexe lorsqu'on travaille avec du matériel végétal riche en polysaccharides et polyphénols qui peuvent se lier ou co-précipiter avec l'ARN (Gehrig et al., 2000). Le pommier est connu pour contenir de grandes concentrations de métabolites secondaires. Parmi les protocoles testés dans cette étude, un protocole conçu pour le pommier a été testé (Gasic et al., 2004). Ce protocole ne donnait pas de résultats satisfaisants pour les ratios des DO 260/230 ainsi que pour la quantité d'ARN extrait par rapport au matériel de départ. La méthode de QIAGEN a permis de diminuer le temps de manipulation de 2 jours à 3 heures pour obtenir de l'ARN en plus grande quantité et de meilleure qualité et ce pour une plus petite quantité de matériel de départ.

Les gènes analysés dans cette étude font partie de deux familles de gènes, soit les MADS et les déhydrines. Le gène *MdMADS20* semble être un bon candidat pour une association avec la dormance. Une analyse BLAST des séquences homologues aux gènes associés à la dormance chez le pêcher et l'abricotier effectuée sur GenBank a révélé que *MdMADS20* est un gène potentiellement apparenté. De plus, *MdMADS20* est similaire à certains *PpDAM* exprimés chez le pêcher dormant et non exprimés chez le pêcher mutant incapable de dormance (Bielenberg et al., 2008). Il semble donc être un bon choix pour relier l'expression génétique durant la dormance à l'accumulation des unités de froid chez le pommier. De plus, de nouvelles publications ont aussi démontré la ressemblance entre les *PpDAM* et *MdMADS20* (Wu et al., 2012; Saito et al., 2013). Afin de distinguer les processus de dormance et

d'acclimatation au froid, une comparaison entre l'expression d'un gène de la famille MADS, soit *MdMADS20*, et celle d'un gène codant pour une déhydrine de la famille LEA, *MdDHN*, a été effectuée. Le gène *MdDHN* codant pour une déhydrine chez le pommier a déjà été associé à l'acclimatation au froid chez le pommier (García de Cortázar-Atauri et al., 2009). Il est donc un gène intéressant pour faire la comparaison.

Pour les deux saisons hivernales étudiées, le profil d'expression de *MdMADS20* semble associé de très près à la levée de dormance. En effet, plus l'indice de dormance est faible, plus le niveau d'expression diminue. De plus, pour les deux saisons hivernales, il est aussi possible d'observer une différence significative d'expression relative entre les états d'endodormance et d'écodormance. Le niveau le plus élevé d'expression relative de *MdMADS20* correspond au moment où le maximum d'intensité de dormance semble arriver au mois de novembre (Hauagge et Cummins, 1991b). Ces résultats suggèrent donc une association entre la dormance et le gène *MdMADS20*. De plus, le profil de *MdMADS20* est très similaire à plusieurs gènes associés à la dormance tel *PmDAM2* (Sasaki et al., 2011). Tout comme pour *PpDAM5* et *PpDAM6*, l'expression de *MdMADS20* semble être supprimée par l'accumulation des unités de froid et inversement corrélé au débourrement (Jiménez et al., 2010a). La diminution de son expression vers la fin de l'écodormance coïncide avec la reprise de la division cellulaire avant le débourrement. Ces résultats suggèrent un rôle de *MdMADS20* dans le maintien de l'état de dormance.

Ces résultats ont aussi permis de vérifier les modèles d'accumulation de froid pendant la saison hivernale. En effet, les modèles de cumul d'unités de froid débutent leur cumul à partir du 1^{er} septembre à l'exception du modèle Utah. Par contre, plusieurs études suggèrent que la dormance s'installe plus tard : après la chute de la moitié des feuilles, après la cueillette des fruits ou après le premier gel (Hauagge et Cummins,

1991a; Couvillon, 1995; Cesaraccio et al., 2004). La figure 3.2b permet d'observer que les niveaux d'expression tendent à être plus bas au début du mois d'octobre qu'à la fin. Ces résultats suggèrent que la date de début du cumul d'unités de froid (1^{er} septembre) devrait peut-être être retardée et confirment les études stipulant qu'au 1^{er} septembre, l'endodormance ne serait pas complètement installée (Cesaraccio et al., 2004).

Les résultats de la figure 3.3 appuient ceux obtenus dans une étude ayant démontré de manière plus complète que les niveaux relatifs d'expression de la déhydrine du pommier *MdDHN* suivent un profil saisonnier (Garcia-Bañuelos et al., 2009). L'étude qui a caractérisé cette déhydrine avait démontré que les niveaux d'expression étaient plus élevés en janvier qu'en avril. Leurs résultats ne démontrent aucune expression au mois d'avril. Par contre, dans notre étude, on observe des niveaux d'expression non négligeables à cette date. Pour l'hiver 2011-2012, on observe une augmentation significative de l'expression de *MdDHN* qui est corrélée avec un passage de la température moyenne quotidienne en-dessous de 0°C. Leur étude stipule qu'il n'y a plus d'expression du gène *MdDHN* lorsque les pommiers ne sont plus en dormance et résistants au froid. Par contre, dans notre cas, on observe une augmentation d'expression dans les bourgeons déjà ouverts. Ces résultats suggèrent que malgré la dormance levée, l'expression de gènes codant pour des déhydrines est tout de même possible. De plus, cette hausse d'expression concorde avec une fragilité accrue des bourgeons au gel. Il devient donc primordial d'augmenter les mécanismes de défense contre le gel après le débourrement puisque les températures létales sont beaucoup plus élevées pour les stades phénologiques à ce stade (Burke et al., 1976). Le profil saisonnier d'expression en forme de cloche observé au cours des deux hivers est similaire à celui observé chez plusieurs espèces exprimant des déhydrines (Artlip et al., 1997). Ce profil est corrélé aux températures mensuelles. Les niveaux d'expression sont plus élevés durant les mois les plus froids. Par contre, la variation

des niveaux d'expression dans un même mois est très rarement rapportée. Nous avons cherché les variables pouvant influencer cette variation. Selon la figure 3.3, aucune relation n'existe entre la température moyenne quotidienne et les niveaux d'expression relative. Nous avons remarqué que les niveaux d'expression les plus élevés pour un même mois et pour une même température quotidienne étaient accompagnés de précipitations sous forme de pluie et de température variant autour de 0°C. Étant donné qu'une variation du niveau d'expression du simple au double est observable dans un même mois, il est probable que la raison des variations réside dans des facteurs entraînant des froids plus intenses tel le vent ou un contact avec de la glace provenant du verglas ou de l'accumulation d'humidité autour du bourgeon suivi d'un passage des températures en-dessous de 0°C. Selon une étude, un bourgeon recouvert d'une pellicule d'eau est beaucoup plus sensible au froid qu'un bourgeon plus sec. La température à laquelle 50% des bourgeons meurent par le gel (LT50) est de 4°C plus élevée pour les bourgeons entourés d'une humidité superficielle que pour les bourgeons secs (Mills et al., 2006). La nécessité de réduire la sensibilité au froid pourrait être la cause de l'augmentation d'expression de *MdDHN*.

De plus, le gène *MdDHN* est similaire à la séquence en acides aminés du gène *PpDHN1* qui code pour un produit avec des caractéristiques cryoprotectrices et une activité antigél (Wisniewski et al., 2006; Garcia-Bañuelos et al., 2009). Certains auteurs ont réussi à séparer le rôle de certaines déhydrines entre la résistance au froid et la dormance en étudiant l'expression de déhydrines à la résistance au froid chez des mutants incapables de dormance (Artlip et al., 1997). Selon ces auteurs, ces protéines seraient associées à la résistance au froid plutôt qu'à la dormance (Arora et al., 1992). Avec le profil de *MdDHN* et sa réponse aux températures froides après le débourrement, nous pourrions aussi penser que *MdDHN* est plus associé à la résistance au froid qu'à la dormance.

Afin de valider complètement les modèles bioclimatiques prédisant la dormance, il faudrait trouver des marqueurs moléculaires permettant de distinguer parfaitement les différents états de dormance. Une analyse plus poussée sur les gènes ciblés par *MdMADS20* serait nécessaire afin de mieux comprendre son rôle dans la dormance et différencier l'endodormance de l'écodormance.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES FUTURES

Mes travaux suggèrent que l'utilisation d'un modèle de cumul d'unités de froid serait plus appropriée pour prédire le débourrement des bourgeons de pommier que le modèle actuellement utilisé. De plus, le modèle de cumul d'unités de froid Dynamique semble être le mieux adapté au Québec et le moins sensible aux modifications. Dans le cas où on n'utilise qu'un modèle de cumul d'unités thermiques, il serait important de débiter le cumul avant le mois de mars puisqu'il semble y avoir un effet des températures plus chaudes au cours du mois de février sur le débourrement. Malgré une amélioration de la prédiction de la date du débourrement, nous ne sommes toujours pas en mesure de modéliser parfaitement le débourrement et ce, plus particulièrement au site d'Orléans. Il serait intéressant de vérifier si ces lacunes sont dues à une mauvaise estimation des besoins en unités de froid ou thermiques ou à une mauvaise application de la dormance. Il faudrait vérifier si une différence existe entre les porte-greffes des pommiers d'Orléans, de Frelighsburg et d'Oka et si elle peut influencer la dormance. Pour ce faire, il faudrait utiliser ces deux types de porte-greffes avec les mêmes greffons au même site. Il faudrait aussi vérifier si le modèle Dynamique est performant dans des régions où l'hiver est plus doux telle la péninsule du Niagara en Ontario ou la vallée d'Okanagan en Colombie-Britannique. Une bonne façon de valider ce modèle serait d'effectuer le même exercice que dans notre étude, mais sur d'autres espèces d'arbres fruitiers tel le poirier ou la vigne.

De plus, nous avons trouvé que le débourrement devient de plus en plus hâtif au cours des années et ce dû à une augmentation de températures supérieures à 5°C durant le mois de mars. Le réchauffement climatique ne semble toutefois pas menacer l'endodormance au Québec, contrairement à certains pays où ce réchauffement entraîne une diminution de la production due à un manque d'unités de froid.

Finalement, les scénarios climatiques prédisent un devancement d'une à deux semaines dans la date de débourrement pour la période 2041-2070 comparativement à 1971-2000. Ce devancement pourrait avoir un impact important sur les risques de gel printanier. Il serait intéressant d'utiliser le modèle de Guak et Neilson (2013) qui a été conçu pour le pommier afin de vérifier si le nombre d'unités de froid disponible chaque hiver pour le pommier répondrait différemment que le nombre d'unités de froid calculé à partir des valeurs optimales du pêcher dans un contexte de changements climatiques.

Afin d'améliorer nos connaissances sur les facteurs contrôlant le passage de l'endodormance à l'écodormance, il est nécessaire d'approfondir nos recherches au niveau moléculaire pour nous permettre de mieux cibler quand débiter le cumul des unités thermiques. Pour ce faire, il faudrait trouver les gènes responsables de l'endodormance et l'écodormance et tous les facteurs qui les affectent (nombre d'unités de froid, nombre d'unités thermiques, photopériode, etc.).

Mes travaux effectués au niveau moléculaire ont permis de trouver un gène chez le pommier potentiellement associé à la dormance. Les niveaux d'expression de *MdMADS20* permettent de distinguer l'état d'endodormance de l'état d'écodormance. De plus, l'analyse du gène *MdDHN* a permis d'observer une augmentation de l'expression de cette déhydrine lors d'un gel et ce, après le débourrement au printemps. Ainsi, il est possible de croire que *MdDHN* est plus associé à la résistance au froid qu'à la dormance. Afin de distinguer précisément l'état d'endodormance de l'état d'écodormance, il faudrait trouver les gènes cibles de *MdMADS20* affectant l'état de dormance et vérifier leurs réponses aux différents facteurs (température, photopériode). Pour y arriver, et si le génome de pommier était élucidé, il faudrait faire des analyses de séquence pour détecter la séquence CArG (CCA/T6GG), qui est un élément de régulation situé dans les promoteurs des gènes régulés par les facteurs

de transcription MADS. Ensuite, une fois ces gènes ciblés, nous pourrions vérifier leur expression durant la dormance. Une méthode plus longue serait de développer des pommiers transgéniques qui surexpriment *MdMADS20* (OEX) et voir si la date de débourrement est modifiée. Ensuite, il serait intéressant d'utiliser le séquençage à haut débit afin d'identifier les gènes montrant des différences dans leur niveau d'expression entre les arbres de type sauvage et les arbres OEX. Les résultats obtenus pourraient mettre en lumière des gènes impliqués dans les différents aspects du processus de dormance.

RÉFÉRENCES

Anderson JL et Richardson EA. 1987. «The Utah chill unit / flower bud phenology models for deciduous fruit: Their implication for production in subtropical areas». *Acta Horticulturae* 199: 45-50.

Anderson JV, Chao WS et Horvath DP. 2001. «A current review on the regulation of dormancy in vegetative buds». *Weed Science* 49: 581-589.

Arora R, Wisniewski ME et Rowland LJ. 1997. «Low temperature induced expression of dehydrins in deciduous fruit crops and their relation to cold acclimation and/ or dormancy». *Proceedings V International Symposium on Temperature Fruit Zone* 441: 175-182.

Arora R, Wisniewski ME et Scorza R. 1992. «Cold acclimation in genetically related (Sibling) deciduous and evergreen peach (*Prunus persica* L. Barsch) : I. Seasonal changes in cold hardiness of bark and xylem tissues». *Plant Physiology* 99: 1562-1568.

Artlip TS, Callahan AM, Bassett CL et Wisniewski ME. 1997. «Seasonal expression of a dehydrin gene in sibling deciduous and evergreen genotypes of peach (*Prunus persica* L. Batsch)». *Plant Molecular Biology* 33: 61-70.

Baldocchi D et Wong S. 2008. «Accumulated winter chill is decreasing in the fruit growing regions of California». *Special Issue: California at a Crossroads: Climate Change Science Informing Policy* 87: 153-166.

Baskerville GL et Emin P. 1969. «Rapid estimation of heat accumulation from maximum and minimum temperatures». *Ecology* 50: 514-517.

Bélanger G, Rochette P, Caston Y, Bootsma A, Mongrain D et Ryan DAJ. 2002. «Climate change and winter survival of perennial forage crops in Eastern Canada». *Agronomy Journal* 94: 1120-1130.

Bielenberg DG, Wang YE, Li Z, Zhebentyayeva T, Fan S, Reighard GL, Scorza R et Abbott AG. 2008. «Sequencing and annotation of the evergrowing locus in peach [*Prunus persica* (L.) Batsh] reveals a cluster of six MADS-box transcription factors as candidate genes for regulation of terminal bud formation». *Tree Genetics & Genomes* 4: 495-507.

- Bourgeois G. 1989. «Interrelationships Between Late Leafspot Disease and Florunner Peanut [microform] : A Modeling Approach». Thesis (Ph.D.) -University of Florida, Gainesville, Florida.
- Brunel N, Leduc N, Poupard P, Simoneau P, Mauget JC et Viémont J-D. 2002. «*KNAP2*, a class I *KN1*-like gene is a negative marker of bud growth potential in apple trees (*Malus domestica* [L.] Borkh.)». *Journal of Experimental Botany* 53: 2143-2149.
- Buban T et Faust M. 1995. «New aspects of bud dormancy in apple trees». *Acta Horticulturae* 395: 105-111.
- Burke MJ, Gusta LV, Quamme HA, Weiser CJ et Li PH. 1976. «Freezing and injury in plants». *Annual Review of Plant Physiology* 27: 507-528.
- Campoy JA, Ruiz D et Egea J. 2011. «Dormancy in temperate fruit trees in a global warming context: A review». *Scientia Horticulturae* 130: 357-372.
- Cannell MGR et Smith RI. 1983. «Thermal time, chill days and prediction of budburst in *Picea sitchensis*». *Journal of Applied Ecology* 20: 951-963.
- Cannell MGR et Smith RI. 1986. «Climatic warming, spring budburst and frost damage on trees». *Journal of Applied Ecology* 23: 177-191.
- Cesaraccio C, Spano D, Snyder RL et Duce P. 2004. «Chilling and forcing models to predict bud-burst of crop and forest species». *Agricultural and Forest Meteorology* 126: 1-13.
- Chaloupkova K et Smart CC. 1994. «The abscisic acid induction of a novel peroxidase is antagonized by cytokinin in *Spirodela polyrrhiza* L.». *Plant Physiology* 105: 497-507.
- Chmielewski F-M, Müller A et Bruns E. 2004. «Climate changes and trends in phenology of fruit trees and field crops in Germany, 1961-2000». *Agricultural and Forest Meteorology* 121: 69-78.
- Chmielewski F-M et Rötzer T. 2001. «Response of tree phenology to climate change across Europe». *Agricultural and Forest Meteorology* 108: 101-112.
- Chuine I et Cour P. 1999. «Climatic determinants of budburst seasonality in four temperate-zone tree species». *New Phytologist* 143: 339-349.

- Cleland EE, Chuine I, Menzel A, Mooney HA et Schawart MD. 2007. «Shifting plant phenology in response to global change». *Trends in Ecology and Evolution* 22: 357-365.
- Close TJ. 1996. «Dehydrins: Emergence of a biochemical role of a family of plant dehydration proteins». *Physiologia Plantarum* 97: 795-803.
- Cook NC, Bellen A, Cronje PJR, De Wit I, Keulemans W, Van den Putte A et Steyn W. 2005. «Freezing temperature treatment induces bud dormancy in 'Granny Smith' apple shoots». *Scientia Horticulturae* 106: 170-176.
- Costes E. 2003. «Winter bud content according to position in 3-year-old branching systems of Granny Smith apple». *Annals of Botany* 92: 581-588.
- Couvillon GA. 1995. «Temperature and stress effects on rest in fruit trees: A review». *Acta Horticulturae* 395: 11-19.
- Couvillon GA et Erez A. 1985. «Influence of prolonged exposure to chilling temperatures on bud break and heat requirement for bloom of several fruit species». *Journal of American Society of Horticultural Science* 110: 47-50.
- Dennis FG. 1994. «Dormancy : What we know (and don't know)». *HortScience* 29: 1249-1255.
- Dennis FG. 2003. «Problems in standardizing methods for evaluating the chilling requirements for the breaking of dormancy in buds of woody plants». *HortScience* 38: 347-350.
- Diaz-Riquelme J, Lijavetzky D, Martinez-Zapater JM et Carmona MJ. 2009. «Genome-wide analysis of MIKC-Type MADS box genes in grapevine». *Plant Physiology* 149: 354-369.
- Eccel E, Rea R, Caffarra A et Crisci A. 2009. «Risk of spring frost to apple production under future climate scenarios: The role of phenological acclimation». *International Journal of Biometeorology* 53: 273-286.
- Erez A et Fishman S. 1998. «The dynamic model for chilling evaluation in peach buds». *Acta Horticulturae* 465: 507-510.
- Faust M, Erez A, Rowland LJ, Wang SY et Norman HA. 1997. «Bud dormancy in perennial fruit trees: Physiological basis for dormancy induction, maintenance, and release». *HortScience* 32: 623-629.

Faust M et Liu D. 1991. «Bound versus free water in dormant apple buds - A theory for endodormancy». *HortScience* 26: 887-890.

Ferguson BJ et Beveridge CA. 2009. «Roles for auxin, cytokinin, and strigolactone in regulating shoot branching». *Plant Physiology* 149: 1929-1944.

Fishman S, Erez A et Couvillon GA. 1987. «The temperature dependence of dormancy breaking in plants: Mathematical analysis of two-step model involving a cooperative transition». *Journal Theoretical Biology* 124: 473-783.

Garcia-Bañuelos ML, Gardea AA, Winzerling JJ et Vazquez-Moreno L. 2009. «Characterization of a midwinter-expressed dehydrin (DHN) gene from apple trees (*Malus domestica*)». *Plant Molecular Biology Reporter* 27: 476-487.

García de Cortázar-Atauri I, Brisson N et Gaudillere JP. 2009. «Performance of several models for predicting budburst date of grapevine (*Vitis vinifera* L.)». *International Journal of Biometeorology* 53: 317-326.

Gasic K, Hernandez A et Korban SS. 2004. «RNA extraction from different apple tissues rich in polyphenols and polysaccharides for cDNA library construction». *Plant Molecular Biology Reporter* 22: 437a-437g.

Gehrig HH, Winter K, Cushman J, Borland A et Taybi T. 2000. «An improved RNA isolation method for succulent plant species rich in polyphenols and polysaccharides». *Plant Molecular Biology Reporter* 18: 369-376.

Gilreath PR et Buchanan DW. 1981. «Rest prediction model for low chilling nectarine *Prunus persica* cultivar Sungold». *Journal of the American Society for Horticultural Science* 106: 426-429.

Guak S et Neilsen D. 2013. «Chill unit models for predicting dormancy completion of floral buds in apple and sweet cherry». *Horticultural Environmental Biotechnology* 54: 29-36.

Guédon Y et Legave J-M. 2008. «Analysing the time-course variation of apple and pear tree dates of flowering stages in global warming context». *Ecological Modelling* 219: 189-199.

Hänninen H. 1987. «Effects of temperature on dormancy release in woody plants: Implications of prevailing models». *Silva Fennica* 21: 279-299.

Hansen J, Sato M, Ruedy R, Lo K, Lea DW et Medina-Elizade M. 2006. «Global temperature change». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103: 14288-14293.

Hauagge R et Cummins JN. 1991-a. «Genetics of length of dormancy period in *Malus* vegetative buds». *Journal of American Society of Horticultural Science* 116: 121-126.

Hauagge R et Cummins JN. 1991-b. «Relationship among indices for the end of bud dormancy in apple cultivars and related *Malus* species under cold winter conditions». *Journal of American Society of Horticultural Science* 116: 95-99.

Hauagge R et Cummins JN. 1991-c. «Seasonal variation in intensity of bud dormancy in apple cultivars and related *Malus* species». *Journal of American Society of Horticultural Science* 116: 107-115.

Heide OM. 2003. «High autumn temperature delays spring bud burst in boreal trees, counterbalancing the effect of climatic warming». *Tree Physiology* 23: 931-936.

Heide OM et Prestrud AK. 2005. «Low temperature, but not photoperiod, controls growth cessation and dormancy induction and release in apple and pear». *Tree Physiology* 25: 10-114.

Horvath D. 2009. «Common mechanisms regulate flowering and dormancy». *Plant Science* 177: 523-531.

Horvath DP, Anderson JV, Chao WS et Foley ME. 2003. «Knowing when to grow: Signals regulating bud dormancy». *Plant Science* 8: 534-540.

Horvath DP, Chao WS, Suttle JC, Thimmapuram J et Anderson JV. 2008. «Transcriptome analysis identifies novel responses and potential regulatory genes involved in seasonal dormancy transitions of leafy spurge (*Euphorbia esula* L.)». *BMC Genomics* 9: 1-17.

Hunter AF et Lechowicz MJ. 1992. «Predicting the timing of budburst in temperate trees». *Journal of Applied Ecology* 29: 597-604.

Hutchinson M.F. 2004. «ANUsplin Version 4.3: User Guide». *The Australian National University, Center for Resource and Environmental Studies, Canberra, Australia.* (<http://cres.anu.edu.au/outputs/anusplin.php>).

Jiménez S, Reighard GL et Bielenberg DG. 2010-a. «Gene expression of *DAM5* and *DAM6* is suppressed by chilling temperatures and inversely correlated with bud break rate». *Plant Molecular Biology* 73: 157-167.

Jiménez S, Zhigang L, Reighard GL et Bielenberg DG. 2010-b. «Identification of genes associated with growth cessation and bud dormancy entrance using a dormancy-incapable tree mutant». *BMC Plant Biology* 10: 1-11.

Kiefer E, Heller W et Ernst D. 2000. «A simple and efficient protocol for isolation of functional RNA from plant tissues rich in secondary metabolites». *Plant Molecular Biology Reporter* 18: 33-39.

Kramer K. 1994. «Selecting a model to predict the onset of growth of *Fagus sylvatica*». *Journal of Applied Ecology* 31: 172-181.

Lang GA. 1987. «Dormancy: A new universal terminology». *HortScience* 22: 817-820.

Lang GA, Early JD, Martin GC et Darnell RL. 1987. «Endo-, para-, and ecodormancy: Physiological terminology and classification for dormancy research». *HortScience* 22: 371-377.

Lease N, Pichette A et Chaumont D. 2009. «Projet d'études sur l'adaptation aux changements climatiques du secteur de la pomme au Québec ». *Ouranos* 58p. (http://www.ouranos.ca/media/publication/154_adaptationauxCCPomiculture_154_NancyLease_18nov2009.pdf)

Legave JM, Farreta I, Almeras T et Calleja M. 2008. «Selecting models of apple flowering time and understanding how global warming has had an impact in this trait». *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* 83: 76-84.

Leida C, Terol J, Martc G, Agustc M, LlcLcer G, Badenes ML et Rcos G. 2010. «Identification of genes associated with bud dormancy release in *Prunus persica* by suppression subtractive hybridization». *Tree Physiology* 30: 655-666.

Leyser HMO, Lincoln CA, Timpte C, Lammer D, Turner J et Estelle M. 1993. «*Arabidopsis* auxin-resistance gene *AXR1* encodes a protein related to ubiquitin-activating enzyme E1». *Nature* 364: 161-164.

Li Z, Reighard GL, Abbott AG et Bielenberg DG. 2009. «Dormancy-associated MADS genes from the EVG locus of peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] have

distinct seasonal and photoperiodic expression patterns». *Journal of Experimental Botany* 60: 3521-3530.

Linsley-Noakes GC et Allan P. 1994. «Comparison of two models for the prediction of rest completion in peaches». *Scientia Horticulturae* 59: 107-113.

Luedeling E et Brown HP. 2011-a. «A global analysis of the comparability of winter chill models for fruit and nut trees». *International Journal of Biometeorology* 55: 441-421.

Luedeling E, Girvetz EH, Semenov MA et Brown PH. 2011-b. «Climate change affects winter chill for temperate fruit and nut trees». *Plos One* 6: 1-13.

Luedeling E, Zhang M et Girvetz EH. 2009-a. «Climatic changes lead to declining winter chill for fruit and nut trees in California during 1950-2099». *Plos One* 4: 1-9.

Luedeling E, Zhang M, Luedeling V et Girvetz EH. 2009-b. «Sensitivity of winter chill models for fruit and nut trees to climatic changes expected in California's Central Valley [Erratum: 2010 Aug. 15, v. 138, no. 3-4, p. 357]». *Agriculture, Ecosystems & Environment* 133: 23-31.

MacKenzie DJ, McLean MA, Mukerji S et Green M. 1997. «Improved RNA extraction from woody plants for the detection of viral pathogens by reverse transcription-polymerase chain reaction». *Plant Disease* 81: 222-226.

Mazzitelli L, Hancock RD, Haupt S, Walker PG, Pont SDA, McNocol J, Cardle L, Morris J, Viola R, Brennan R, Hedley PE et Taylor MA. 2007. «Coordinated gene expression during phases of dormancy release in raspberry (*Rubus idaeus* L.) buds». *Journal of Experimental Botany* 58: 1035-1045.

Meier U. 2001. «Stades phénologiques des mono- et dicotylédones cultivées». *Groupe de travail BBCH. Centre Fédéral de Recherches Biologiques pour l'Agriculture et les Forêts*.

Menzel A et Fabian P. 1999. «Growing season extended in Europe». *Nature* 397: 659.

Mills LJ, Ferguson JC et Keller M. 2006. «Cold-hardiness evaluation of grapevine buds and cane tissues». *American Journal Enology and Viticulture* 57: 194-200.

Mimida N, Ureshino A, Tanaka N, Shigeta N, Sato N, Moriya-Tanaka Y, Iwanami H, Honda C, Suzuki A, Komori S et Wada M. 2011. «Expression patterns of several

floral genes during flower initiation in the apical buds of apple (*Malus * domestica* Borkh.) revealed by in situ hybridization». *Plant Cell Reports* 30: 1485-1492.

Naor A, Flaishman M, Stern R, Moshe A et Erez A. 2003. «Temperature effects on dormancy completion of vegetative buds in apple». *Journal of the American Society for Horticultural Science* 128: 636-641.

Nooden LD et Weber JA. 1978. «Environmental and hormonal control of dormancy in terminal buds of plants». In *Dormancy and Developmental Arrest*. Clutter ME, ed. pp 221-268. New York. Academic Press.

Olsen JE. 2003. «Molecular and physiological mechanisms of bud dormancy regulation». *Acta Horticulturae* 618: 437-453.

Ongaro V et Leyser O. 2008. «Hormonal control of shoot branching». *Journal of Experimental Botany* 59: 67-74.

Perry TO. 1971. «Dormancy of trees in winter». *Science* 171: 29-36.

Petri JL et Leite GB. 2004. «Consequences of insufficient winter chilling on apple tree bud-break». *Acta Horticulturae* 662: 53-60.

Quamme HA, Cannon AJ, Neilsen D, Caprio JM et Taylor WG. 2010. «The potential impact of climate change on the occurrence of winter freeze events in six fruit crops grown in the Okanagan valley». *Canadian Journal of Plant Science* 90: 85-93.

Reiser L, Sanchez-Baracaldo P et Hake S. 2000. «Knots in the family tree: Evolutionary relationships and functions of KNOX homeobox genes». *Plant Molecular Biology* 42: 151-166.

Richardson EA, Seeley SD et Walker DR. 1974. «A model for estimating the completion of rest for Redhaven and Elberta peach trees». *HortScience* 9: 331-332.

Rinne PLH, Welling A, Vahala J, Ripel L, Ruonala R, Kangasjarvi J et Van der Dchoot C. 2011. «Chilling of dormant buds hyperinduces FLOWERING LOCUS T and recruits GA-inducible 1,3-B-Glucanase to reopen signal conduits and release dormancy in populus». *The Plant Cell* 23: 130-146.

Rioux-Khamlichi C, Menges M, Healy JMS et Murray J, A. H. 2000. «Sugar control of the plant cell cycle: Differential regulation of *Arabidopsis* D-Type cyclin gene expression». *Molecular and Cellular Biology* 20: 4513-4521.

- Rochette P, Bélanger G, Castonguay Y, Bootsma A et Mongrain D. 2004. «Climate change and winter damage to fruit trees in eastern Canada». *Canadian Journal of Plant Science* 84: 1113-1125.
- Saito T, Bai S, Ito A, Sakamoto D, Saito T, Ubi BE, Imai T et Moriguchi T. 2013. «Expression and genomic structure of dormancy-associated *MADS box* genes *MADS13* in Japanese pears (*Pyrus pyrifolia* Nakai) that differ in their chilling requirement for endodormancy release». *Tree Physiology* Advance Access
- Sarvas R. 1974. «Investigation on the annual cycle of development of forest trees. II. Autumn dormancy and winter dormancy». *Communicationes Instituti Forestalis Fenniae* 84: 101.
- Sasaki R, Yamane H, Ooka T, Jotatsu H, Kitamura Y, Akagi T et Tao R. 2011. «Functional and expressional analyses of *PmDAM* genes associated with endodormancy in Japanese apricot». *Plant Physiology* 157: 485-497.
- Shaltout AD et Unrath CR. 1983. «Rest completion prediction model for 'Starkrimson Delicious' apples». *Journal of the American Society for Horticultural Science* 108: 957-961.
- Shore P et Sharrocks AD. 1995. «The MADS-box family of transcription factors». *European Journal of Biochemistry* 229: 1-13.
- Untergrasser A, Cutcutache I, Koressar T, Ye J, Faircloth B, Remm M et Rozen S. 2012. «Primer3-new capabilities and interfaces». *Nucleic Acids Research* 40(15):e115.
- Wang H, Qi Q, Schorr P, Cutler AJ, Crosby WL et Fowke LC. 1998. «*ICK1*, a cyclin-dependent protein kinase inhibitor from *Arabidopsis thaliana* interacts with both Cdc2a and CycD3, and its expression is induced by abscisic acid». *The Plant Journal* 15: 501-510.
- Wang SY et Faust M. 1994. «Changes in the antioxidant system associated with budbreak in 'Anna' apple (*Malus domestica* Borkh.) buds». *Journal of American Society of Horticultural Science* 119: 735-741.
- Watillon B, Kettmann R, Boxus P et Burny A. 1997. «Knotted1-like homeobox genes are expressed during apple tree (*Malus domestica* [L.] Borkh) growth and development». *Plant Molecular Biology* 33: 757-763.

Weinberger JH. 1950. «Chilling requirements of peach varieties». *American Society for Horticultural Science* 56: 122-128.

Welling A et Palva ET. 2006. «Molecular control of cold acclimation in trees». *Physiologia Plantarum* 127: 167-181.

Wingler A, Schaewen Av, Leegood RC, Lea PJ et Quick WP. 1998. «Regulation of leaf senescence by cytokinin, sugars, and light». *Plant Physiology* 116: 329-335.

Wisniewski ME, Bassett CL, Renaut J, Farrell RJ, Tworkoski T et Artlip TS. 2006. «Differential regulation of two dehydrin genes from peach (*Prunus persica*) by photoperiod, low temperature and water deficit». *Tree Physiology* 26: 575-584.

Wu R-M, Walton EF, Richardson AC, Wood m, Hellens RP et Varkonyi-Gasic E. 2012. «Conservation and divergence of four kiwifruit SVP-like MADS-box suggest distinct roles in kiwifruit bud dormancy and flowering». *Journal of Experimental Botany* 63: 797-807.

Yagouti A, Boulet G, Vincent L, Vescovi L et Mekis É. 2008. «Observed changes in daily temperature and precipitation indices for southern Québec, 1960-2005». *Atmosphere-Ocean* 46: 243-256.

Yamane H, Kashiwa Y, Kakehi E, Yonemori K, Mori H, Hayyashi K, Iwamoto K, Tao R et Kataoka I. 2006. «Differential expression of dehydrin in flower buds of two Japanese apricot cultivars requiring different chilling requirements for bud break». *Tree Physiology* 26: 1559-1563.

Yamane H, Ooka T, Jotatsu H, Hosaka Y, Sasaki R et Tao R. 2011. «Expressional regulation of *PpDAM5* and *PpDAM6*, peach (*Prunus persica*) dormancy-associated MADS-box genes, by low temperature and dormancy-breaking reagent treatment». *Journal of Experimental Botany* 62(10): 3481-3488.

Yan L, Loukoianov A, Blechi A, Tranquili G, Ramakrishna W, SanMiguel P, Bennetzen JL, Echenique V et Dubcovsky J. 2004. «The wheat *VRN2* gene is a flowering repressor down-regulated by vernalization». *Science* 303: 1640-1644.

Yang J, Greenwood DJ, Rowell DL, Wadsworth GA et Burns IG. 2000. «Statistical methods for evaluating a crop nitrogen simulation model, N_ABLE». *Agricultural Systems* 64: 37-53.

Young EV et Werner DJ. 1985. «Chill unit and growing degree hour requirements for vegetative bud break in six apple rootstocks». *Journal of the American Society for Horticultural Science* 110: 411-413.