

THÈSE

Pour obtenir le grade de
Docteur

Délivré par le
**Centre International d'Etudes Supérieures en
Sciences Agronomiques
Montpellier**

Préparée au sein de l'école doctorale SIBAGHE
Et des unités de recherche AGAP et LEPSE

Spécialité : **Biologie Intégrative des Plantes**

Présentée par **Nathalie Luchaire**

**Réponses développementales et physiologiques de la
Microvigne aux températures élevées : caractérisation de
l'effet sur le bilan carboné et son implication dans
l'avortement précoce des organes reproducteurs.**

Directeur de thèse : **Laurent Torregrosa**
Co-encadrant : **Anne Pellegrino**
Co-encadrant : **Bertrand Muller**

Soutenue le 28 Juillet 2015 devant le jury composé de :

Mr Serge Delrot , Professeur, Université de Bordeaux	Rapporteur
Mr Michel Génard , Directeur de recherche, INRA Avignon	Rapporteur
Mr Jean-Luc Regnard , Professeur, Montpellier SupAgro	Examineur
Mr Vivian Zufferey , Chercheur senior, Agroscope, Suisse	Examineur
Mr Laurent Torregrosa , Professeur, Montpellier SupAgro	Directeur de thèse
Mme Anne Pellegrino , Maître de conférences, SupAgro	Co-encadrante

THÈSE

Pour obtenir le grade de
Docteur

Délivré par le
**Centre International d'Etudes Supérieures en Sciences
Agronomiques**
Montpellier

Préparée au sein de l'école doctorale SIBAGHE
Et des unités de recherche AGAP et LEPSE

Spécialité : **Biologie Intégrative des Plantes**

Présentée par **Nathalie Luchaire**

**Réponses développementales et physiologiques de la Microvigne
aux températures élevées : caractérisation de l'effet sur le bilan
carboné et son implication dans l'avortement précoce des organes
reproducteurs.**

Directeur de thèse : **Laurent Torregrosa**
Co-encadrant : **Anne Pellegrino**
Co-encadrant : **Bertrand Muller**

Soutenue le 28 Juillet 2015 devant le jury composé de :

Mr Serge Delrot, Professeur, Université de Bordeaux
Mr Michel Génard, Directeur de recherche, INRA Avignon
Mr Jean-Luc Regnard, Professeur, Montpellier SupAgro
Mr Vivian Zufferey, Chercheur senior, Agroscope, Suisse
Mr Laurent Torregrosa, Professeur, Montpellier SupAgro
Mme Anne Pellegrino, Maître de conférences, SupAgro

Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Examineur
Directeur de thèse
Co-encadrante

Laboratoires d'accueil :

AGAP

Amélioration Génétique et Adaptation des Plantes méditerranéennes et tropicales

UMR 1334 / Montpellier SupAgro

Bâtiment 21

2, place Viala

34060 Montpellier cedex 2

FRANCE

Et

LEPSE

Laboratoire d'Ecophysiologie des Plantes sous Stress Environnementaux

UMR 759 / Montpellier SupAgro

IBIP – Institut de Biologie Intégrative des Plantes

Bâtiment 7

2, place Viala

34060 Montpellier cedex 2

FRANCE

Résumé

Dans le contexte de réchauffement climatique, le maintien des rendements est un enjeu majeur pour la filière viticole. L'augmentation des températures impacte négativement certaines phases clés du développement reproducteur en induisant notamment des phénomènes de coulure ou de pertes précoces d'inflorescences. L'altération du bilan carboné pourrait être un facteur majeur des diminutions de rendement en réponse aux températures élevées et l'évaluation de cette hypothèse permettrait d'ajuster les pratiques pour limiter les effets du réchauffement climatique. Si l'implication du bilan de carbone chez les plantes annuelles semble être à la base des baisses de rendement observées ces dernières années, les choses sont beaucoup moins claires chez des pérennes comme la vigne du fait des très nombreux co-facteurs possibles ainsi que de la difficulté à expérimenter dans des conditions totalement contrôlées. Afin de s'affranchir de ces contraintes, notre étude a été réalisée en conditions contrôlées sur la *Microvigne*, un mutant naturel insensible à l'acide gibbérellique et un nouveau modèle d'étude pour la génétique et la physiologie de la vigne. Ce mutant présente un phénotype nain et une floraison et fructification continues le long de l'axe proleptique. L'approche utilisée dans cette étude a consisté à (i) développer un cadre d'analyse adapté à la *Microvigne*; (ii) décrire l'impact de l'élévation de la température, sur les développements végétatif et reproducteur de la vigne, et plus particulièrement l'avortement des stades précoces du développement reproducteur; (iii) caractériser les changements du bilan de carbone de la *Microvigne* induits par la contrainte thermique, et enfin (iv) évaluer l'implication potentielle du bilan de carbone dans les phénomènes d'avortement précoces en réponse au stress thermique. Ce travail a permis de mettre en évidence des phénomènes d'avortement complet d'inflorescences en réponse à l'élévation des températures. Par ailleurs, nous avons pu montrer un rôle du statut carboné dans ce phénomène, soit via les teneurs totales en carbohydrates, soit via l'état global des réserves à l'échelle de la plante. Ce travail montre les potentialités du modèle *Microvigne* et ouvre de nouvelles perspectives pour l'analyse des effets des contraintes abiotiques sur le développement végétatif et reproducteur de la vigne.

Mots clés

Contrainte thermique, développements végétatif et reproducteur, photosynthèse, bilan de carbone, *Microvigne*

Abstract

Global warming is likely to be a major issue for grapevine yield sustainability in the next years. A common hypothesis is that long-term elevated temperatures may cause the failure of key phases of reproductive development, through their negative impact on carbon balance. However, testing the specific role of plant carbon status on yield elaboration under elevated temperatures is difficult on perennial crops, such as grapevine, and when environment fluctuates. To overcome these difficulties, the present work was conducted under fully controlled environment using a natural, gibberellic acid insensitive mutant of grapevine called Microvine, as a new model for grapevine genetics and physiological studies. This mutant present a dwarf stature and lack of juvenile characteristics leading to the continuous flowering and fruiting even during the first year after sowing. The present study aimed at (i) developing a framework of analysis for Microvine; (ii) describing vegetative and reproductive developments responses to temperature elevation at whole plant level, and more precisely on early reproductive development abortions; (iii) characterizing grapevine carbon balance responses to temperature; and finally (iv) evaluating carbon balance implication in temperature-dependent abortions during early reproductive development. This work shows that complete inflorescence abortion observed in response to temperature can be related to carbon status, either expressed though total carbohydrate, or through the level of reserves at the whole plant level. This study opens the way to use Microvine as model to address the impact of climate warming on grapevine vegetative and reproductive developments.

Keywords

Thermal stress, vegetative and reproductive development, photosynthesis, carbon balance, *Microvine*

Remerciements

Cette thèse est l'aboutissement de quatre années d'un travail collectif, je souhaiterais ici remercier toutes les personnes qui y ont contribué chacun à leur échelle et sans qui ce travail et ces quatre années n'auraient pas ressemblé à ce qu'ils sont aujourd'hui.

Je tiens tout d'abord à remercier mes encadrants. Laurent mon directeur DAVEM, Anne et Bertrand mes co-encadrants LEPSiens. Merci de m'avoir fait confiance pendant quatre ans et de m'avoir donné la chance de travailler au sein de vos deux unités. Merci à vous pour votre implication dans le sprint final de la rédaction. Merci à Anne de m'avoir donné les clefs de la *Microvigne*. Un grand merci pour les heures de 'dépatouillage' du monceau de données d'échanges gazeux ; en y repensant nous avons presque passé autant de temps à traiter ces mesures qu'à les réaliser. Merci à Bertrand pour tout, tes solutions aux problèmes, ton œil avisé sur mes données métabolomiques et ton expertise sur le bilan de carbone. Merci de m'avoir encouragée à ne pas me cantonner à la vigne et à m'ouvrir aux autres espèces. Enfin, merci à Laurent pour son encadrement malgré la distance (300 mètres au bas mot), tu as toujours suivi de près mes expérimentations, été très réactif quand j'avais besoin de ton expertise et su m'encourager dans mes choix. Vous avez tous les trois été très complémentaires au cours de ces quatre années et je vous en remercie.

Je tiens également à remercier tout particulièrement Olivier, merci de m'avoir guidée dans le traitement des données spatiales et temporelles. Merci pour la plus-value qu'a donnée ton expertise à notre premier papier. Enfin, merci pour l'enthousiasme que tu as toujours montré à la vue de mes données, toutes nos réunions étaient débordantes de nouvelles idées.

Je remercie ensuite l'intégralité de l'équipe SPIC. Myriam, merci pour ton aide plus que précieuse pour la manipulation de tous tes appareils d'échanges gazeux. Merci pour les dépannages du dimanche matin 7h00, tu m'as sauvée tellement de fois. Je remercie également Gaëlle qui m'a prêté ses paillasses, et qui a supporté l'ambiance musicale qui régnait dans son labo pendant les périodes de broyage. Je te remercie également pour ta participation à toutes mes récoltes et phénotypage. Merci également à Crispulo pour tous les coups de mains pour les notations, phénotypages et autres récolte. Je tiens tout particulièrement à remercier tous les nénés sans lesquels aucune expérimentation, aucune récolte, aucun dosage n'aurait été possible. J'ai l'impression de vous avoir torturé pendant 4 ans avec toutes mes mesures, tous les broyages, aliquotages sans parler de l'imagerie... Je vous dois d'immenses remerciements, voire des excuses pour avoir tout vu en grand avec la *Microvigne*. Merci Erwann pour toutes les heures que tu as passé sur mes échantillons et mes images, c'est sans aucun doute toi qui en aura passé le plus. Je te remercie même pour les heures passées à écouter FIP, je rigole encore en repensant à la reprise des Beatles avec des samples de cris d'animaux. J'adresse ici un immense merci à Alex pour son implication dans toutes mes manip. Merci pour le spyralex (méthode de palissage brevetée), et surtout merci pour les chambres d'assimilations ; c'est toi qui a conçu et construit mon jouet préféré. Merci pour tout le temps que tu as passé à les surveiller à distance, et tous le temps que tu as passé sur l'article, tu es une machine néné. Enfin, merci à Denis et Christine pour leurs conseils scientifiques toujours bienvenus lorsque j'étais la seule à présenter des données *Microvignes* dans une équipe majoritairement Arabido. Je tiens particulièrement à remercier Christine, qui a su être une chef et une amie, et qui m'a agrandi mon vocabulaire spécial mots fléchés. Merci pour ton écoute.

Je remercie également tous les membres de l'équipe ETAP, qui m'ont accueilli durant cette dernière année de thèse. Merci à Thierry, Éric et Angélique pour leurs conseils et leur expertise. Je remercie

tout particulièrement Florent qui m'a fait profiter de son expertise sur les hautes températures et qui a accepté de relire mon travail, ainsi que pour sa figure sur le changement climatique.

Merci également à tous les autres membres du LEPSE qui par leur conseils, leur expertise et leur présence ont contribué de près ou de loin l'aboutissement de ce travail. Je pense tout particulièrement à Stéphane et à Ben pour leur aide sur les expérimentations. Merci à toi Ben pour tous les dépannages des chambres E, je te dois un paquet de Chuppa Chups pour toutes les fois où tu as trouvé des solutions à mes problèmes.

Je tiens également à remercier toute l'équipe DAVEM. Vous avez été tellement nombreux à participer aux phénotypages et aux récoltes, merci à vous tous : Cléa, Frédérico, Angélique, Catherine, Valérie, Irène et Marc. Je tiens particulièrement à remercier Markus et Ratthaphon, les deux autres thésards DURAVITIS, avec qui j'ai partagé beaucoup d'expérimentations. Merci également à Charles et Patrice pour les discussions scientifiques qu'ont suscité l'organisation d'expérimentations communes et le traitement parallèle des données entre le LEPSE et DAVEM. Enfin un grand merci à Gilbert, merci d'avoir produit et élevé toutes mes *Microvignes*. Merci pour ton aide et pour ta bonne humeur contagieuse.

Je remercie également les membres de la plateforme métabolomique de Bordeaux qui m'ont accueilli à plusieurs reprises. Merci Yves de m'avoir offert cette opportunité, merci pour tes conseils et ta curiosité vis-à-vis de la *Microvigne*. Merci à Patricia et Camille, votre bonne humeur m'a toujours fait oublier la distance avec Montpellier. Merci à Lucie pour les petits diners entre filles, tu étais la bouffée d'accent biterrois qui ensoleillait mes missions bordelaises. Enfin, un grand merci à Dûyen, tu m'as toujours tellement aidée avec les robots, avec toi les séances de 'cappage/décappage' de 2000 tubes à la main étaient presque un plaisir.

Je remercie également les nombreux membres de mes comités de thèses : Serge Hamon, Alain Rival, Nathalie Vaillant, Olivier Turc, Eric Lebon, Denis Vile et Charles Romieu. Merci pour tous vos conseils qui ont orienté ma thèse. Merci tout particulièrement à Nathalie qui m'a prêté la pince conifère si précieuse pour les mesures d'échange gazeux d'inflorescences.

Je me dois également de remercier mes stagiaires, José, Maelle et Jeremy. Vous avez été d'une très grande aide dans ma thèse. Vous m'avez également appris les joies de l'encadrement, et Maelle tu m'as appris à perdre à la crapette. J'ai partagé avec vous des heures et des heures de mesures d'échanges gazeux tout organes confondus, et je maintiens que Maelle tu aurais dû me laisser gagner une fois au moins au cours des 100 heures que nous avons passé à attendre que les enregistrements se fassent pour pouvoir pincer une autre feuille. Jeremy, ton stage a été un peu particulier de par la période dans laquelle il s'est inscrit, mais je n'en garde que des bons souvenirs. Tu as su être une 'machine' comme ta 'prédécesseuse' malgré la singularité de ton stage.

Enfin, j'en arrive aux remerciements qui sont finalement les plus durs à écrire, de peur d'oublier des gens, mais aussi de ne pas remercier assez tous ceux qui ont été là pour moi pendant ces quatre années. Merci à tous les permanents et non-permanents avec qui j'ai partagé des pauses, des parties de tarot, de kojovos, des soirées plages et des lazergames : Llorenç, Sébastien, Santiago, Sebastia, Pauline, Aude, Romain, Guilhem, Paul, Bea, Garance, Maeva, Vincent, Cloé, Yoran, Thomas, Maryline, Justine et bien sûr Antonin, partenaire de Delir'Pic. Merci, Jo, Nico et Vincent, pour les dépannages informatiques (parce que je suis un boulet) et surtout pour votre humour et votre bonne humeur lors des pauses. Je remercie à nouveau les nénés. Erwann, merci pour Trombone Shorty, Tony merci pour les café/doliprane et les Gypsy. Et Alex encore merci pour tout, ta gentillesse, ta patience et surtout pour le moral que tu as toujours su me remonter. Merci à ceux qui me supportent au quotidien dans le

bureau. Merci Benoît, fournisseur officiel de crocopic et chocolats en tous genres, merci surtout de supporter la déco 'licorne/poney/rose' du bureau, au fond on sait tous les trois que tu aimes bien les licornes... Enfin un immense merci aux copines : Diane, Anaëlle, Emilie et Aude. Merci pour votre soutien au quotidien, pour tous vos délires aussi et pour votre amitié surtout. Merci à Diane et Anaëlle pour tous nos craquages, nos sorties et nos conversation WhatsApp sans queue ni tête. Merci à Emilie, le Dj de toutes mes soirées rédactions, t'est TOP! (ou taupe, je sais plus trop bien...). Enfin, merci à Aude, avec qui je partage mon bureau depuis 3 années déjà. Je n'ai pas assez de mots pour te dire merci. Tu es le rayon de soleil de notre bureau, j'ai adoré nos craquages sucrés de fin de journée, nos séances de chant en mode yaourt du vendredi soir. Merci surtout pour les combos... En fait, c'est toi le grand marabout, et moi le bout de ficelle (nombres de pages à l'appui). ;)

Enfin, mes derniers remerciements vont à ma famille, plus proche que jamais. Merci de m'avoir soutenue et supportée pendant quatre ans, 27 ans en fait... Pour vous aussi cette thèse a été une grande épreuve, je suis tellement heureuse que vous l'ayez aussi bien réussie. Mes derniers mots iront à mes parents, merci pour tout, merci d'être toujours là...

<u>General introduction</u>	1
I. Grapevine and climate change	3
I.1. Grapevine economic trends	3
I.2. Climate change	3
I.3. First observations and expectations of climate change impact on Grapevine	3
II. Yield and elevated temperature	5
II.1. Yield definition in grapevine	5
(i) Grapevine reproductive development description	
(ii) Yield components	
(iii) Quality aside	
II.2. Elevated temperature effect on crop yield	7
II.3. Elevated temperature effect on grapevine yield	8
(i) During the first year	
(ii) During the second year: budburst	
(iii) During the second year: flowering and fruit set	
(iv) During the second year: first phase of berry growth	
(v) During the second year: berry maturing	
III. Carbon balance and elevated temperature	13
III.1. Elevated temperature effect on carbon acquisition	13
(i) Temperature effect on Photosynthesis	
(ii) Temperature acclimation	
III.2. Elevated temperature effect on carbon use	15
(i) Temperature effect on Respiration	
(ii) Temperature effect on Photo-Respiration	
(iii) Temperature effect on organ production	
(iv) Temperature effect on organ expansion	
(v) Temperature effect on biomass accumulation	
(vi) Temperature effect on reserves dynamics	
III.3. Elevated temperature effect on carbon balance	19
(i) Carbon balance definition	
(ii) Existing models?	
(iii) Temperature effect on Carbon Balance	
IV. Working hypothesis: temperature effects on fruit set are related to carbon balance and dynamics?	21
V. The <i>Microvine</i>: a new model to address scientific issues on the grapevine response to temperature?	23
V.1. Wild type grapevine limitations	25
V.2. Creation and genetic description of <i>Microvine</i>	25
V.3. Phenotype description	27
V.4. Gibberellic acids in grapevine	27
(i) Synthesis and signalization pathway	
(ii) Implication in development	

(iii)	<i>Implication in response to biotic and abiotic stresses</i>	
(iv)	<i>What about Microvine?</i>	
V.5.	Other dwarf model plants	31
VI.	Working plan	33
	<u>General material and method</u>	37
I.	Plant material	39
II.	Climatic conditions	39
III.	Plant measurements global chart	41
IV.	Statistical analysis	45
	<u>References</u>	47
	<u>Chapter 1: Microvine, a new model for exploring grapevine response to</u>	
	climate warming	60
	<i>Abstract</i>	
	<i>Keywords</i>	
I.	Introduction	67
I.1.	Materials and methods	71
I.2.	Plant material and growing conditions	71
I.3.	Temporal reproductive and vegetative variables measurements	71
I.4.	Spatial reproductive and vegetative variables measurements	71
I.5.	Biochemical analyses	73
I.6.	Calculations of leaf area, internode and berry volume, phyllochron and spatio-temporal conversion	73
I.7.	Statistical analysis	75
II.	Results	77
II.1.	Microvine spatial patterns mimic grapevine dynamic patterns for vegetative and reproductive developments and berry metabolite accumulation	77
II.2.	The temporal changes in berry and leaf sizes were conserved among phytomers	79
II.3.	The spatial changes in berry, leaf and internode sizes were stable over time	79
II.4.	The temporal leaf and berry developments patterns were accurately inferred from spatial profiles along the axis	81
II.5.	Elevated temperature uncoupled biomass from volumetric growth, cut down starch storage in internodes and delayed ripening	81
III.	Discussion	83

III.1. <i>Microvine</i> , a model that resembles grapevine	83
III.2. <i>Microvine</i> , a grapevine model with continuous and regular vegetative and reproductive development	85
III.3. <i>Microvine</i> , a grapevine model with a few limitations	85
III.4. <i>Microvine</i> , a model for addressing grapevine responses to abiotic stresses	87
IV. Conclusion	91
V. Acknowledgements	91
VI. References	93

Chapter 2: *Microvine* developmental and metabolic responses to elevated

temperature **109**

I. Introduction	111
II. Materials and Method	115
II.1. Plant material and growing conditions	115
II.2. Development and growth measurements at the plant level	117
II.2. Development and growth measurements at phytomer levels	117
II.3. Biochemical analyses	119
II.4. Calculations of inflorescence abortion rates	119
II.5. Statistical analysis	121
III. Results	123
III.1. The rate of vegetative development was neither affected by years nor by temperature, in contrast with reproductive development	123
III.2. Spatial profiles of organ size, biomass and TNC concentration were altered by temperature	123
III.3. Fruitfulness was lower under elevated temperatures, due to inflorescences abortions	129
III.4. Plants were different at the onset of the experiments in 2011 and 2013	131
III.5. Day vs. Night temperature	131
IV. Discussion	131
IV.1. Vegetative development is stable under elevated temperatures, but reproductive development is delayed	131
IV.2. Elevated temperatures fasten and increase leaf and internode expansion, but not berry growth	133
IV.3. Inflorescence abortion present 2 different profiles from the two years of experiments	137
IV.4. 2011, vigorous plants, late abortion: possible explanations	139
IV.5. 2013, low vigor plants, early abortion: possible explanations	141
IV.6. Different insights from 2011 or 2013 experiments	143
V. Conclusion	145
VI. Acknowledgments	145
VII. References	145

Chapter 3: Réponses du bilan carboné de la <i>Microvigne</i> à la température	157
I. Introduction	159
II. Matériel & Méthode	165
II.1. Matériel végétal	165
II.2. Conditions climatiques	167
II.3. Mesures d'échanges gazeux	167
(i) Mesures d'échanges gazeux des feuilles	
(ii) Mesures d'échanges gazeux des organes reproducteurs	
(iii) Mesures d'échanges gazeux des plantes entières	
II.4. Calculs des surfaces foliaires et des volumes d'inflorescences	171
II.5. Modélisation de la réponse des échanges gazeux à la température aux échelles organe et plante entière	171
(i) Courbes enveloppes de A_{max} et R_{max} à l'échelle organe en fonction de la température	
(ii) Analyse de covariance des résidus relatifs de A_n et R par rapport à A_{max} et R_{max} à l'échelle organe	
(iii) (iii) Test de la qualité des estimations de A_n et R aux échelles organe et plante entière	
II.6. Modélisation du bilan du carbone à l'échelle plante entière	175
(i) Formalismes de simulation des BC aérien ou total (BC_a ou BC_{tot})	
(ii) Quantité de sucres non structuraux accumulés (Exp. 1 à 2 & 6 à 8)	
(iii) Simulation du BC_a pour une plante fictive soumise à différents traitements thermiques	
II.7. Analyses statistiques	181
III. Résultats	183
III.1. Réponses des échanges gazeux à la température et à la charge en fruit à l'échelle de l'organe	183
III.2. Réponses des échanges gazeux à la température et à la charge en fruit à l'échelle de la plante entière	187
III.3. Simulation et évaluation des échanges gazeux aux échelles organe et plante entière pour les expérimentations	189
III.4. Simulations et évaluation des bilans carbonés aérien et total pour les expérimentations	193
III.5. Simulation du bilan carboné aérien pour des plantes fictives soumises à un gradient de température et différents niveaux de charge en fruit	197
IV. Discussion	203
IV.1. L'élévation de la température à court terme réduit le BC_a de la <i>Microvigne</i> via la diminution du gain de carbone net des organes aériens (ΔC_{An-R})	203
IV.2. A long terme, l'acclimatation aux températures élevées atténue les diminutions du BC_a , malgré l'augmentation de BM_a , en favorisant le gain de carbone net des organes aériens (ΔC_{An-R})	205
IV.3. Les diminutions de la charge en fruit favorisent le gain de carbone net des organes aériens (ΔC_{An-R}) et augmentent le BC_a	209

IV.4. Des différences de BC _a et d'accumulations de sucres TNC marquées entre les années : quels rôles des états initiaux de développement aérien et racinaires?	211
V. Conclusion	215
VI. Références	217
<u>Discussion générale</u>	227
I. Quel est le lien entre BC, température et avortement des inflorescences?	229
I.1. Deux contextes différents d'avortement ont été mis en évidence	229
I.2. 2011, un avortement tardif synchrone avec la véraison des baies malgré des teneurs en sucres importantes et un BC favorable	229
I.3. 2013, un avortement précoce lié aux faibles réserves des plantes et contrebalancé par des températures froides	235
II. La <i>Microvigne</i> était-elle un modèle adapté à cette analyse ?	237
<u>Conclusion et perspectives</u>	245
<u>Références</u>	253
<u>Appendix 1</u> : Chapter 2 supplementary data	259
<u>Appendix 2</u> : Figures supplémentaires du chapitre 3	271
<u>Appendix 3</u> : Bediee et al., in prep.	289

Introduction

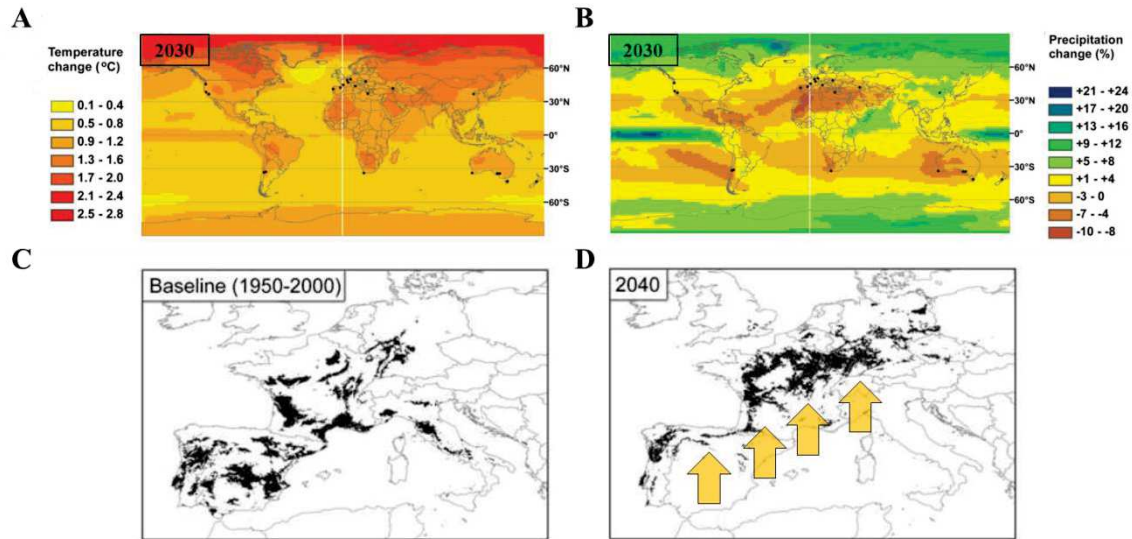


Figure 1: Climate change impact on winegrowing region. World projected temperature (A) and precipitation change (B) from the baseline (1980-1999) (adapted from Webb et al., 2013). Dots represent main winegrowing regions. Grapevine cultivated areas of the Mediterranean basin for the 1950-2000 baseline (C) and for the future climatic scenario of 2040 (D) (adapted from Moriondo *et al.*, 2013). Arrows represent the possible general shift in winegrowing areas.

I. Grapevine and climate change

I.1. Grapevine economic facts

Cultivated grapevine (*Vitis vinifera* L.), is one of the most important perennial crops in terms of cultivated surface and economic weight (FAOSTAT). It represented $6.9 \cdot 10^6$ cultivated hectares in the world in 2012, for $264 \cdot 10^6$ hectoliter of wine produced. In 2012, France was the first wine producer with $42 \cdot 10^6$ hectoliter produced, over $0.75 \cdot 10^6$ hectares cultivated. The Languedoc Roussillon region represents one third of France production, with 14 million of hectoliters produced over $0.250 \cdot 10^6$ hectares. In 2012, world wine sales generated $180 \cdot 10^9$ €, with $7.6 \cdot 10^9$ € of export for France (FranceAgriMer), representing a large part of the French commercial balance. In view of such a huge economical importance, vine growing sustainability in front of the current context of climate change is a critical question.

I.2. Climate change

Climate change can be defined through 3 major components. First, a global warming, resulting on an increase of air temperature of 0.5°C during the past 50 years, and an expected increase of 0.5 to 2°C in the next 50 years (Parry 2007). This temperature increase should vary spatially across the globe (fig. 1A). Indeed, Northern hemisphere, where the majority of winegrowing regions are located, is projected to warm faster than southern hemisphere. Second, an increase of CO_2 ambient air concentration, from 360 ppm in 1995 to 400 ppm in 2014, and expectation around 700ppm in 2100 (IPCC 2007). Third, an alteration of water availability for agriculture, with changes in precipitation, ranging from -10% to $+25\%$ across the globe (fig. 1B). Many vine growing regions as the Mediterranean basin are likely to face increasing drought episodes, with dryer growing season but also higher variability within and between years (Lobell and Asner 2003). Such modifications of climatic conditions can dramatically alter plant growth and production (Hannah et al., 2013).

I.3. First observations and expectations of climate change impact on grapevine

Retrospective analysis of climate change impact on global crop production shows modifications ranging from -18.9 to $+1.8$ Million of tons per year during the past 2 decades (Lobell and Field 2007). The same trends are observed for grapevine in some areas, with for instance a 25% reduction of production in tons in the last decade in Coonawarra, Australia (Dunn 2005). These decreases are linked with season shortening (Chuine et al. 2004) and associated with quality alteration of grapes and wines (Mira de Orduña 2010). Prediction models have been constructed in order to predict the impact of climate change on viticulture (Jones et al. 2005; White et al. 2006; Hannah, Roehrdanz, et al. 2013). These models reveal that current wine producing regions are going to be dramatically exposed, with area restriction and severe quality alteration. Indeed, Mediterranean vine growing regions are predicted to be shifted to higher latitudes considering their future climate (Fig. 1C and 1D).

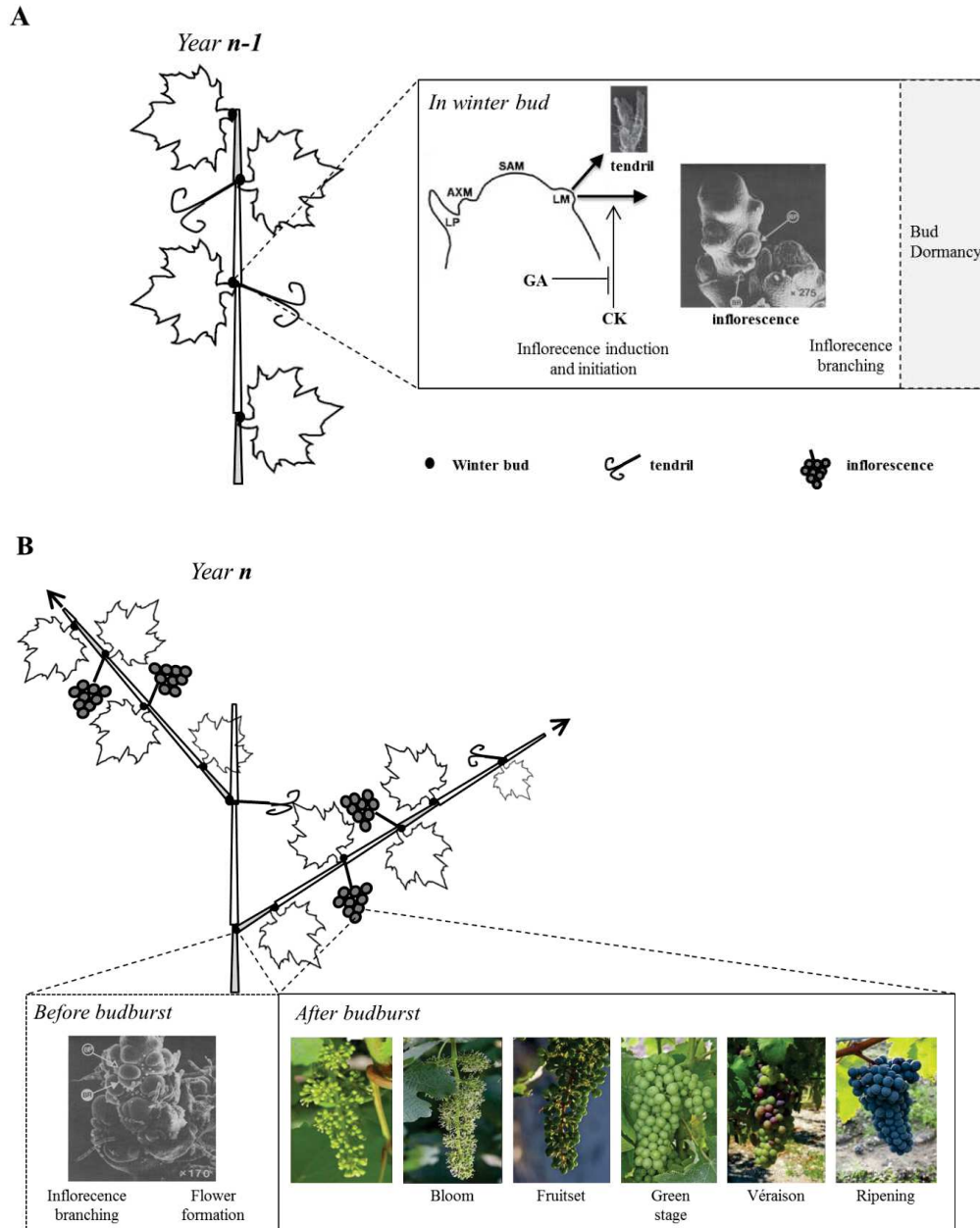


Figure 2: Grapevine reproductive development description. (A) Induction and initiation of inflorescence occurs during the first season of development (adapted from Srinivasan and Mullins, 1981 and Carmona *et al.*, 2007). Lateral meristem (LR) is obtained on side position of vegetative apical meristem (SAM) and on opposite position to leaf primordium (LP) and axillary meristem (AXM). This anlage is then transformed into tendril primordium. Then this tendril primordium can be converted into inflorescence primordium thanks to cytokinin supply. This conversion occurs only in the first basal tendrils primordia of the latent bud, other tendrils primordia conversion are inhibited by gibberellin signaling. After inflorescence initiation, bract division begins, giving rise to inflorescence branch primordia. After one to three inflorescence initiation, latent bud inter into dormancy. (B) During the second season of development, inflorescences finish their development, flowers are formed, then flowering, fruit formation and ripening occurs (adapted from Srinivasan and Mullins, 1981; Coombe, 1995 and May, 2000). Approximately one week before budburst, inflorescence may develop other branching, but most of their meristems directly develop into flowers. From 40 to 60 days after budburst, bloom occurs (Meneghetti *et al.* 2006). This stage is followed by several physiological processes separated into 6 major phenological stages: fruit set, berry formation (first phase of rapid growth or green phase), lag phase, véraison (onset of ripening), berry ripening (second phase of rapid growth), ripe berry (harvest) (Ristic and Iland 2005).

However, such alarmist models overlook the many possible adaptations possible to climate change (van Leeuwen et al. 2013). The INRA project LACCAGE is aimed at identifying possible strategies for viticulture to face climate changes. These initiatives concern different areas of viticulture, such as genetic improvement, field management practices, oenological processes as well as consumer taste. The 3 components of climate change cited above may not have the same importance for viticulture adaptation. Indeed, ambient CO₂ increase is a slow phenomenon, whose major effect is to increase photosynthesis on the short term but likely not on the long term (Araya et al. 2008) and promote stomatal closure (Leymarie et al. 1999). Drought frequency is an important issue for the Mediterranean basin; however this issue can be handled through irrigation and management practices initiatives. Temperature elevation seems to have higher issues, as it impacts many viticultural aspects such as pest control, orchard management, season duration, water resources, yield and finally wine quality. In order to be able to manage climate change effect on viticulture, mechanisms underlying plant response to temperature have to be better understood.

II. Yield and temperature

II.1. Yield definition in grapevine

(i) *Grapevine reproductive development description*

When considering proleptic growth (lateral growth from winter bud), reproductive development is a complex process spread over two growing seasons (Carmona et al. 2008). The first season of reproductive development takes place in winter buds (fig. 2A). The second season takes place before and after budburst of these winter buds (fig. 2B). During the first season of growth, inflorescences are induced and initiated in winter buds under the influence of growth regulators signals (Srinivasan and Mullins 1981). Inflorescence induction only concerns the 1st to 6th basal lateral meristems (LR) where cytokinin can favor it. More distal LRs are inhibited by gibberellin signals and will give rise to tendrils instead of inflorescences. After one to three inflorescence initiations, winter bud enters into dormancy. During the second growing season, inflorescences complete their development, then bloom, and fruit formation and later ripening happens (Boss et al. 2003). At the beginning of the second growing season, when environmental condition become favorable, winter buds resume their activity and inflorescence develop additional branches and flowers. The more branched the inflorescence, the more flowers formed per inflorescence (May 2000). From 40 to 60 days after budburst, bloom occurs (Meneghetti et al. 2006), followed by fruit set. In grapevine, it is common to observe incomplete fruit set of the bunch, around 30 to 50% depending on the cultivar and the year (Dry et al. 2010).

Berry formation is an important phase of growth during which cell division occurs and metabolites accumulate (fig.3). Berry classically enters in “lag phase” when a plateau of berry growth in terms of

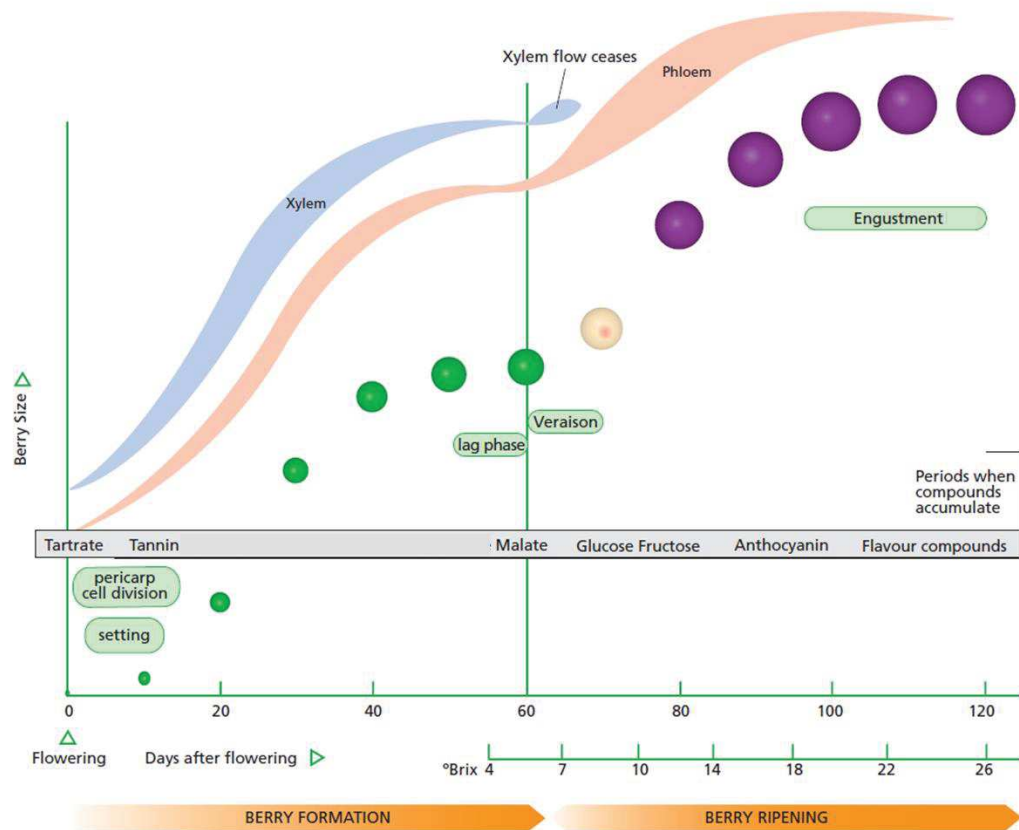


Figure 3: Berry formation and ripening description (adapted from Kennedy, 2002). Berry formation is an important phase of growth during which histological and biochemical changes occurs. During this phase, cell division and cell elongation occurs in the berry; seeds are formed and reach their maximal fresh weight. It is also during this stage that organic acids as tartrate start to accumulate. The lag phase corresponds to a plateau of berry growth in terms of diameter and fresh weight. During this phase, Malic and tartaric acid reach their maximal concentrations. The “veraison” stage is defined as the berry coloring and softening. It marks the beginning of the berry ripening phase when berry diameter and fresh weight starts to increase again. Anthocyanins and soluble sugars as glucose and fructose start to accumulate in the berry. Moreover, tartaric acid concentration stays stable while malic acid concentration begins to decrease (Coombe 1992). The maturity stage is reach when plateau values are observed for berry diameter, fresh weight and soluble sugar content

diameter and fresh weight is observed. The *véraison* (berry coloring and softening) marks the beginning of the ripening phase. The maturity is reached when maximum values are observed for berry volume, fresh weight and soluble sugar content per fruit unit. A slight decrease in berry volume and fresh weight may be observed in some cultivar and/or growing conditions, due to berry shriveling (McCarthy 1999).

(i) *Yield components*

Grapevine yield at plant level may be divided into 4 major components: (i) the number of bunch per plant, (ii) the number of flower per bunch, (iii) the actual number of berry per bunch and (iv) the berry weight at harvest. For proleptic axes, these components are determined at different time during the two years of the reproductive development (Carmona et al. 2007). The number of bunch per plant is determined by the number of inflorescences induced in winter buds during the previous vegetative cycle and by the number of buds allowed to growth by practices (pruning, vigor management, quality of dormancy breakings....). The number of flower per bunch is determined both during the previous vegetative cycle in relation to inflorescence branching intensity (Shavrukov et al. 2004) and during cycle of bud development in relation to secondary inflorescence branching and flower differentiation. The actual number of berry per bunch is determined the second year during anthesis and the next two weeks of development (Bernard 1980). Berry weight at harvest depends on berry formation and berry ripening phase during the second year of reproductive development. Such large schedule of yield elaboration implies that several ways to impact on yield are possible. It also implies that any event impacts in parallel on current year yield as well as on next year yield (Vasconcelos et al. 2009).

(ii) *Quality aside*

Wine quality relies largely on berry composition at harvest which depends essentially on 4 major trends: soluble sugars, organic acids, phenolics and aromas precursors (Ali et al. 2010). Anthocyanins are important for wine color and tannin for organoleptic quality (stringency taste). Soluble sugar content is important for alcoholic fermentation and organoleptic quality (wine body). Organic acids are responsible for wine pH, and play a role into wine stability, color and organoleptic quality (freshness taste). All of these traits are dependent on genotype, crop management and environmental sources of variability.

II.2. Temperature effect on annual crop yield

Figure 4 presents an overview of elevated temperature effects on annual crops development, and in particular on yield elaboration. It is now well admitted that elevated temperature leads to yields decrease in many crops (Wheeler et al. 2000; Lobell and Asner 2003; Barlow et al. 2015; Eyshi Rezaei et al. 2015). This decrease can be observed both as a response to short heat stress (Barnabás et al. 2007; Rattalino Edreira et al. 2011; Talukder et al. 2014), as well as a response to long term

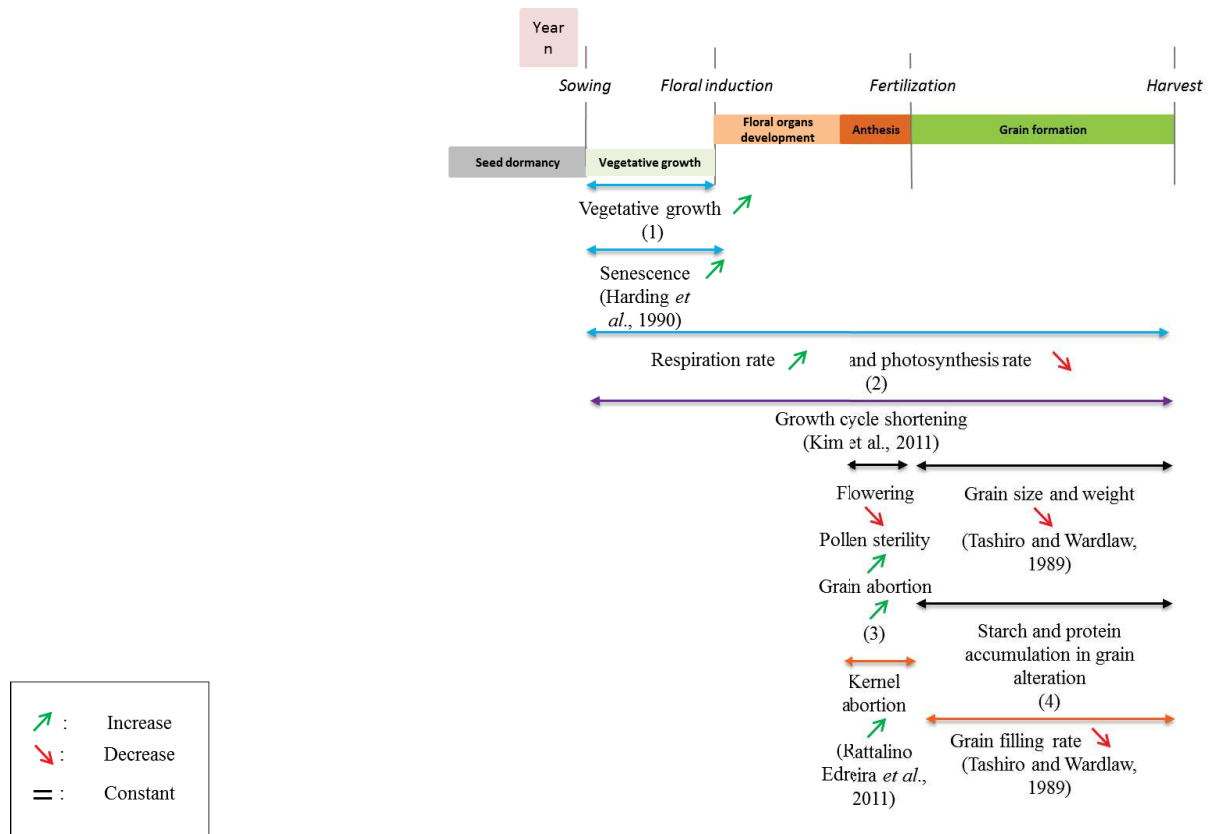


Figure 4: Elevated temperature impact on annual crops development. Blue arrow represents elevated temperature effect on vegetative development and on gas exchanges. Violet arrows represent elevated temperature effect on phenology. Black and orange arrows represent respectively elevated temperature and temperature stresses effect on yield elaboration. **1:** Roberts and Summerfield, 1987; Cleland *et al.*, 2007. **2:** Jones, 1992; Peng *et al.*, 2004; Warren and Dreyer, 2006; Sage and Kubien, 2007. **3:** Prasad *et al.*, 2006; Rattalino Edreira *et al.*, 2011; Talukder *et al.*, 2014. **4:** Keeling *et al.*, 1993; Triboi, 2003.

temperature increase (Peng et al. 2004; Madan et al. 2012). Temperature acts on different components of yield depending on the period. During floral initiation and anthesis, the grain number is impacted by elevated temperature and heat stresses. Indeed, in crops such as maize, rice and wheat, elevated temperature during this period alters pollen and ovary development (Prasad et al. 2006; Talukder et al. 2014), reduces flowering success (Rattalino Edreira et al. 2011) and also leads to grain abortion. Moreover, heat stress during this period leads to kernel abortion in maize (Rattalino Edreira et al. 2011).

During grain filling period, temperature increase alters grain weight, size and quality. Indeed, grain filling period duration is shortened by elevated temperature leading to smaller and lighter grains (Tashiro and Wardlaw 1989). Moreover, starch accumulation (Keeling et al. 1993), protein accumulation and composition (Triboi 2003) in grain is impaired. Heat stress during this period decreases grain filling rate, making worse temperature impact on grain weight and quality (Tashiro and Wardlaw 1989).

Such causal connections may be harder to identify in perennial plants like grapevine.

II.3. Temperature effect on grapevine yield

Grapevine yield elaboration on proleptic axes is spread over two consecutive years; temperature may thus impact on it differently depending on the period considered (fig. 5).

(i) *During the first year*

When applied during the first year of reproductive development in the winter buds elevated temperature presents a positive effect on grapevine final yield. Indeed, up to 30°C, temperature favors inflorescence primordium initiation and differentiation. It increases the number of inflorescence primordia per bud and their individual weight (Dunn 2005). Above 30°C, these parameters slowly decrease, showing an Arrhenius type response curve to temperature.

(ii) *During the second year: budburst*

Inflorescence secondary branching and flower formation occurs from a few weeks before budburst until anthesis. Yield elaboration can be negatively impacted by elevated temperature during this period (Dunn 2005). Indeed, Dunn and Martin (2000) show that elevated temperature of the soil reduces flower formation. Moreover, Pouget (1981) show that elevated temperatures during budburst repress flower differentiation, and the earlier the temperature increase, the more repressed is flower differentiation. However, elevated temperature during budburst causes an elevation of individual flower size, of fruit set success and of final berry size (Keller et al. 2010). These effects seem to buffer the negative effect of budburst temperature on yield.

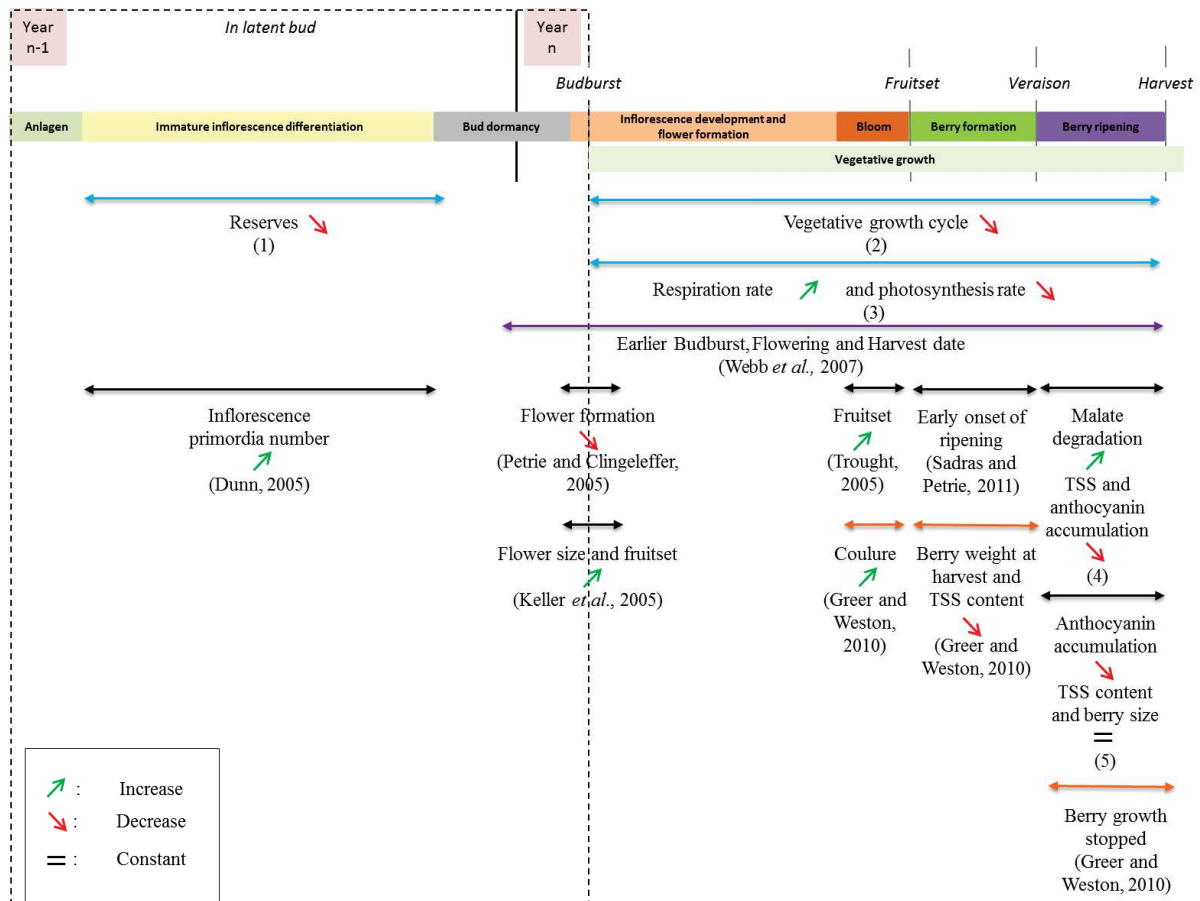


Figure 5: Elevated temperature impact on Grapevine development. Blue arrow represents elevated temperature effect on vegetative development and on gas exchanges. Violet arrows represent elevated temperature effect on phenology. Black and orange arrows represent respectively elevated temperature and temperature stresses effect on yield elaboration. 1: Field *et al.*, 2009; Rogiers *et al.*, 2011; Holzapfel and Smith, 2012. 2: Lebon *et al.*, 2006; Webb *et al.*, 2007. 3: Jones, 1992; Zufferey *et al.*, 2000; Greer and Weedon, 2011; Yamori *et al.*, 2011. 4 : Poudel *et al.*, 2009; Carbonell-Bejerano *et al.*, 2013. 5: Mori *et al.*, 2005, 2007; Yamane *et al.*, 2006.

(iii) *During the second year: flowering and fruit set*

Temperature increase during anthesis shows different effects depending on duration and on severity. Trought (2005) shows that long-term elevated temperatures may favor final bunch weight thanks to higher fruitset. Indeed, the higher the temperature, the faster the pollen tubes growth and the longer the pollens tubes. Considering that pollen tube growth lasts only 24 hours, high temperature could favor fertilization of more flowers, as not only small flowers are able to be fertilized (Staudt, G 1982). Short spells of extreme temperature (40/25°C, Day/Night) were applied on grapevine during flowering stage by (Greer and Weston 2010). A flower abortion was observed: all flowers dropped during the few weeks following the heat stress. This phenomenon was not observed when the heat stress was applied after fruit set. Moreover, heat stress after fruit set shows no effect on further berry growth and final composition (Greer and Weston 2010).

(iv) *During the second year: first phase of berry growth and lag phase*

During the first phase of berry growth, yield is elaborated through cell division, cell elongation and organic acids accumulation. These processes can be impaired by temperature increase. Indeed, elevated temperature before ripening shortens berry growth period, inducing an early onset of ripening but without modification of berry final size and composition (Sadras and Petrie 2011). As for flowering and fruit set stages, long-term temperature increases must be considered separately from short heat stress. Indeed, heat stress applied during lag phase induces a decrease of berry final fresh weight and soluble sugar content (Greer and Weston 2010).

(v) *During the second year: berry ripening*

Temperature increase at véraison and during ripening has a negative effect on berry growth and composition (Kliewer and Lider 1970). Indeed, soluble sugar and anthocyanin accumulation is slowed down under high temperature while malic acid degradation is accelerated (Poudel et al. 2009; Carbonell-Bejerano et al. 2013). However, some other studies report that elevated temperature reduces anthocyanin accumulation in berries without any modification of soluble sugar content and berry size (Mori et al. 2005, 2007; Yamane et al. 2006). Once again, temperature increase has to be dissociated from heat stress. Indeed, Greer and Weston (2010) show that heat stress at véraison stops berry growth and impairs soluble sugar accumulation.

To conclude, temperature has a strong impact on grapevine yield, even more pronounced when the overlapping of reproductive development of shoots and winter buds is considered. However, it is difficult to determine a single pattern for the response to temperature after fruit set because many processes are involved and may be engaged simultaneously. **The present study will focus on the early events of yield elaboration, for which temperature effects was consistently observed but for which a clear understanding of the causes is lacking.**

		Formalism	Annual	Perennial	Grapevine
Carbon aquisition	Photosynthesis		(1)	(2)	(3)
	Acclimation		yes (4)	yes (5)	yes (6)
Carbon use	Respiration	Q10 (7)	(8)	(9)	(10)
	Photorespiration		(11)	(12)	(13)
	Acclimation		yes / no (14)	yes (15)	yes (16)
	organ production	Phyllochron, thermal time (17)	(18)	(19)	(20)
	Growth	organ expansion	RER (21)	(22)	(23)
		biomass accumulation	RGR (24)	no general trend (25)	no general trend (26)
	Reserve Dynamics	Short term	TNC (27)	(28)	(29)
		Long term	TNC (27)	(31)	(32)
			(33)		

 Increase
 Decrease
 Increase then Decrease
 Constant

Figure 6: Temperature impact on carbon balance components in annual, perennial and grapevine plants. Formalism used to describe carbon balance components are presented in the first column. **1:** Crafts-Brandner and Salvucci, 2002; Sage and Kubien, 2007; Yamori *et al.*, 2011; **2:** Higgins *et al.*, 1992; Warren and Dreyer, 2006; Sage and Kubien, 2007; **3:** Zufferey *et al.*, 2000; Soar *et al.*, 2009; **4:** Bunce, 2000; Hikosaka *et al.*, 2006; Atkin *et al.*, 2006; **5:** Warren, 2008; Way and Sage, 2008; Silim *et al.*, 2010; **6:** Zsófi *et al.*, 2009; Greer and Weedon, 2011; Sadras *et al.*, 2012; **7:** Dewar *et al.*, 1999; Miller *et al.*, 2001; **8:** Jones, 1992; Peng *et al.*, 2004; Peraudeau *et al.*, 2015; **9:** Higgins *et al.*, 1992; Zhao *et al.*, 2013; **10:** Zufferey *et al.*, 2000; Huang *et al.*, 2005; Escalona *et al.*, 201; **11:** Brooks and Farquhar, 1985; **12:** Warren and Dreyer, 2006; **13:** Zufferey *et al.*, 2000; **14:** Talts *et al.*, 2004; Atkin *et al.*, 2006; Bunce, 2007; Way and Yamori, 2014; **15:** Will, 2000; Ow *et al.*, 2008; Tjoelker *et al.*, 2008; Silim *et al.*, 2010; **16:** Huang *et al.*, 2005; Salazar-Parra *et al.* 2015 ; **17:** Jones, 1992, page 92; **18:** Parent *et al.*, 2010; **19:** Malcolm *et al.*, 2007; **20:** Lebon *et al.*, 2006; Keller and Tarara, 2010; Greer and Weedon, 2012; Rogiers *et al.*, 2014; **21:** Granier and Tardieu, 1998; **22:** Lafarge *et al.*, 1998; Granier *et al.*, 2002; **23:** Dambreville *et al.*, 2013; **24:** Loveys *et al.*, 2002; **25:** Rajan *et al.*, 1973; Heuvelink, 1989; Tahir *et al.*, 2008; Nagai and Makino, 2009; **26:** Bruhn *et al.*, 2000; Loveys *et al.*, 2002; Dambreville *et al.*, 2013; **27:** Würth *et al.*, 2005 ; **28:** Gibon *et al.*, 2004; Smith and Stitt, 2007; Pyl *et al.*, 2012; **29:** Morandi *et al.*, 2008; **30:** Poudel *et al.*, 2009; Carbonell-Bejerano *et al.*, 2013; **31:** Keeling *et al.*, 1993; Tahir and Nakata, 2005; **32:** Hoch and Körner, 2003; Palacio *et al.*, 2014; **33:** Holzapfel *et al.*, 2010; Sadras and Moran, 2013.

III. Carbon balance and temperature

III.3. Elevated temperature effect on carbon acquisition

Temperature effects on carbon acquisition are described in figure 6.

(i) *Temperature effect on photosynthesis*

In C3 plant, photosynthesis response to temperature follows an Arrhenius-type curve (Berry and Bjorkman 1980). Indeed, temperature increase leads to an increase of net photosynthesis (Pn) until an optimal temperature. Above this optimal temperature, net photosynthesis is decreased. The photosynthesis optimal temperature varies depending on the species. For instance it was measured at 26°C for *Arabidopsis thaliana*, 31°C for Maize and 35°C for trembling aspen, *Populus tremula* (Niinemets et al. 1999; Parent et al. 2010). Optimal temperature also varies between genotypes of the same species. Indeed, in grapevine it varies depending on the cultivar. Optimal temperature is about 25°C for Riesling and about 30°C for Chasselas (Zufferey et al. 2000). This optimum may also be affected by the environmental conditions. It increases up to 36°C for Semillon under atmospheric CO₂ saturation because of lower photorespiration (Greer and Weedon, 2011).

(ii) *Temperature acclimation*

Acclimation is an important element of photosynthesis response to temperature. Photosynthesis instantaneous response to temperature depends on the temperature the plant has experienced during the previous days to weeks. This occurs both in annual and perennial plants where temperature acclimation triggers a shift in plant optimal temperature (Berry and Bjorkman 1980). Indeed, plants growing in a warm habitat show a higher optimal temperature than those acclimated to colder conditions. Way and Sage (2008) have shown that black spruce (*Picea mariana*) grown in warm temperature shows an optimal temperature of 30°C instead of 20°C for seedlings grown in cold environments. Yamori et al. (2010) shows that this shift in optimal temperature can be observed in several annual species such as rice and tobacco. This acclimation phenomenon can also be observed in several grapevine cultivars showing a higher temperature optimum when grown in warm condition (Schultz, 2000; Greer and Weedon 2012). Photosynthesis acclimation can be partly explained by inactivation of Rubisco at cold temperature and leakiness of photosynthetic membranes at high temperature (Atkin et al. 2006). However, major explanations of photosynthesis acclimation are related to biochemical properties of photosynthesis mechanism, as for instance an increase of RuBP carboxylation rate (Hikosaka et al. 2006).

III.2. Elevated temperature effect on carbon use

Temperature effects on carbon use are described in figure 6.

(i) *Temperature effect on respiration*

Dark respiration (R) is increased by temperature (Atkin et al. 2005). Respiration response to temperature is often represented by the *Q10* value, the relative increase of respiration when temperature increases by 10°C. Atkin et al. (2005) gathered several respirations *Q10* measured in several species and organs ranging from 1 to 6, and showed for example that maize leaves *Q10* was about 1.7. Higgins et al. (1992) showed that Thompson seedless grapevine has a respiration *Q10* of 2.5, while “Redhaven” peach has a *Q10* of 1.9. Respiration increase in response to temperature is true for leaf respiration but also for other organs respiration as stem (Smart 2004; Atkin et al. 2005) and root (Bryla et al. 1997; Huang et al. 2005; Atkinson et al. 2007). This simple formalism is questioned since *Q10* is often shown to increase in response to temperature.

(ii) *Temperature effect on photo-respiration*

Photo-Respiration (PR) is the result of the oxygenase activity of the Rubisco during the diurnal phase. In C3 plants, net photosynthesis decreases partly due to an increase of photo-respiration (Berry and Bjorkman 1980). Indeed, Rubisco oxygenase activity is enhanced by temperature at the expense of its carboxylase activity (higher solubility of O₂, not enough photosynthetic electron transport). PR was measured in several species such as spinach (Brooks and Farquhar 1985), *Quercus canariensis* (Warren and Dreyer 2006) and grapevine (Zufferey et al. 2000), showing an increase in response to temperature, except when atmospheric CO₂ simultaneously increases (Greer and Weedon, 2011). PR *Q10* can vary between 1 to 5 depending on the species (Atkin et al. 2005).

(iii) *Temperature acclimation*

As for photosynthesis, respiration may present an acclimation to temperature phenomenon. This acclimation leads to a slowdown in respiration response to temperature for plants grown in warm conditions (Atkin et al. 2005). This phenomenon is commonly described on perennials as boreal trees (Tjoelker et al. 1999) and pines (Ow et al. 2008; Tjoelker et al. 2008). However, in annual plants some species present divergent acclimation to temperature. Indeed, some species such as *Arabidopsis thaliana* present an acclimation of respiration to temperature (Talts et al. 2004) while others such as Amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) do not present acclimation (Bunce 2007). Acclimation of respiration to elevated temperatures was reported for grapevine roots (Huang et al., 2005) and leaves (Salazar-Parra et al. 2015).

(iv) *Temperature effect on organogenesis*

Vegetative organ initiation is linearly increased by temperature (Jones 1992). Indeed, the phyllochron *i.e.* the time between the emergences of two successive organs is reduced by temperature when

expressed in days. This phyllochron is constant when expressed in thermal time (Lebon et al. 2004). However, organ production rate slowdowns in response to extreme temperatures, supporting the view that organ production rate follows an Arrhenius-type response to temperature (Parent et al. 2010).

(v) *Temperature effect on organ expansion*

Organ expansion is also affected by temperature. As for organ production, thermal time is adequate to describe organ expansion. For instance, leaves follow a similar developmental pattern when thermal time is used for *Arabidopsis thaliana*, sorghum, and sunflower (Granier and Tardieu 1998; Lafarge et al. 1998; Granier et al. 2002). Relative expansion rate (RER) is commonly used to describe organ expansion and RER (expressed per unit of time) is linearly increased by temperature (Lafarge et al. 1998; Granier et al. 2002; Dambreville et al. 2013) owing to the proposal to express it per unit thermal time and account for temperature fluctuations (Granier et al., 2002).

(vi) *Temperature effect on biomass accumulation*

Relative growth rate (RGR) is commonly used to describe biomass accumulation; it is calculated as the increment of dry mass per increment of time divided by the existing biomass. Leaf RGR is calculated by the multiplication of 3 parameters: leaf mass fraction (LMF), specific leaf area (SLA) and net assimilation rate (NAR). LMF is the fraction of plant biomass allocated to leaves. SLA is the ratio of leaf area to leaf dry mass; it gives an idea of tissue density (Poorter et al. 2009). NAR is the net increment of biomass per increment of time divided by the leaf area and it gives an idea of respiration to photosynthesis (R/P) ratio. No general trend of leaf RGR response to temperature can be determined from literature. Loveys et al. (2002) showed that RGR response to temperature was mainly driven by SLA (Specific leaf area) except at low temperature where net assimilation rate (NAR) was the most important determinant of RGR. Moreover, it is commonly accepted that plant root mass fraction (RMF) is decreased by temperature (Poorter et al. 2012). Indeed, biomass allocation to root is decreased under elevated temperature as described for *Arabidopsis thaliana* by (Vile et al. 2012).

(vii) *Temperature effect on reserves dynamics*

Reserves dynamics can be separated into two processes: mobilization and replenishment of plant reserve. Total non-structural carbohydrates (TNC) are commonly used to quantify these reserves. In annual plants, short-term carbon storage is performed in vegetative organs as stem and leaves while long term carbon storage takes place in reproductive organs such as grain and fruits. TNC are produced during the season of growth long before grain filling period and these carbohydrates (CHO) are used for sink organ growth (Smith and Stitt 2007). Leaves are sources organ and present their own reserves of TNC placed in the chloroplastic compartment mainly in the form of starch. These reserves vary through the day as there are consumed during the dark period and formed during the light period. Gibon et al. (2004) showed that in *Arabidopsis thaliana* leaves periods of carbon restriction lower carbon use and enhance storage when conditions become favorable. Elevated temperatures negatively

impact on long term TNC storage in grains in cereals (Keeling et al. 1993) although they enhance TNC remobilization from the stem and the senescent leaves (Tahir and Nakata 2005).

In perennials, short-term carbon storage is performed by the leaves as in annual plants but in addition, long term carbon storage takes place in perennial organ of the plants such as roots, stems and branches but also in reproductive organs. Under carbon starvation, carbon storage in these compartments is maintained at the expense of growth, showing that carbon storage is an active process not only triggered by C surplus but also actively maintained at some level as an insurance for further growth and survival (McDowell 2011; Palacio et al. 2014). Temperature acts on that balance between growth and storage, favoring storage at the expense of growth in conifers (Hoch and Körner 2003). In grapevine, elevated temperatures lower carbon storage toward woody reserves (Sadras and Moran 2013) and increase respiration resulting in low root reserves (S.Y. Rogiers et al. 2011). In fleshy fruits perennials such as grapevine, reproductive organs represent a major carbon sink during their development. Even it may be photosynthetically active during its young stages of developments (Lebon et al. 2005), fruits carbon supply is supported by phloem fluxes from sources organs and reserve compartments. Thus plant carbon starvation can alter fruit growth as well as flesh and seed TNC content (Morandi et al. 2008). Indeed, temperature elevation alters TNC content of fleshy fruits like tomato (Adams et al. 2001) and grapevine (Poudel et al. 2009; Carbonell-Bejerano et al. 2013).

III.3. Elevated temperature effect on carbon balance

(i) *Carbon balance definition*

Plant carbon balance can be defined as the amount of carbon fixed by the plant per unit of time. It is the difference between carbon input and carbon output. In plant, most of the carbon is fixed by photosynthesis. Carbon outputs are carbon release through respiration and photorespiration, and carbon sequestration through biomass build-up.

(ii) *Existing models?*

A formalization of the evolution of the carbon balance has long been a matter of studies, both in annuals and perennials (Vercambre et al. 2013). Some models are available for annual plants as Greenlab (Dingkuhn et al. 2006; Luquet et al. 2006; Christophe et al. 2008) or the Framework Model developed by Chew et al. (2014). Many carbon balance models are also developed on perennials on different organs and plant scale such as SUGAR, Qualytrees or Comon Land Model (Dai et al. 2004, 2009; Lescourret and Génard 2005; Lescourret et al. 2011). Some carbon balance models are specifically developed for grapevine such as Greenlab-vitis, Vitisim and Topvine (Lakso et al. 2007; Pallas et al. 2009; Prieto 2011). All these models are based on the same basal principle of carbon acquisition and use. However they are not based on the same relations between sources and sink and they are not constructed with the same level of specification and with the same goal (Le Roux et al. 2001). Even though they may vary in term of spatial scale (from a compartment to

a single organ) and time step (from hours to years) the majority carbon models for perennial plants can be divided in two groups regarding to reserve dynamics status. Indeed, the majority of carbon balance models consider reserves as passive compartments used to buffer carbon restriction or oversupply such as TREGRO while few other model consider carbon storage and mobilization as active process such as SIMWAL (Le Roux et al. 2001). A wide diversity of carbon balance model thus exists both in annuals and perennials. All these models are based on carbon use and acquisition laws and their responses to environmental conditions.

(iii) *Temperature effect on carbon balance*

There are many reasons explaining a negative effect of elevated temperature on plant carbon balance. Indeed, photosynthetic capacities increase with temperature to a certain level, then reduced over an optimum while assimilate demand is linearly increased. As a consequence, under high temperature, net carbon gain is hampered, despite the establishment of acclimation mechanism (Shen et al. 2009). Vasseur et al. (2011) shows that *Arabidopsis thaliana* exposed to elevated temperature present an altered carbon status and phenotypic responses that mimic carbon starvation. Moreover, Alpine trees grown in warmed conditions show a decreased carbon balance compared to trees grown in normal conditions even though acclimation phenomenon is taken into account.

To conclude, temperature has negative effect on plants carbon balance, through effects on both carbon acquisition and use, as well as in fluxes between compartments. **The present study will focus on every component of carbon balance described above apart from acclimation.**

IV. Working hypothesis: temperature effects on fruit set are related to carbon balance and dynamics?

Elevated temperatures show negative effect on seed-set and fruit-set when applied during floral organ development and flowering (Figure 4 and 5). Moreover, temperature elevation negatively alters plant carbon status through several mechanisms (Figure 6). It can thus be hypothesized an interplaying role of carbon balance on the responses of reproductive development to temperature elevation.

First evidences of carbon balance role on fruit set response to temperature come from observations performed on annual plants. Seed-set is impacted by elevated temperature during anthesis and mainly during female reproductive development in rice, maize, wheat, sorghum and millet (Matsui et al. 2001; Gupta et al. 2005; Prasad et al. 2008; Rattalino Edreira et al. 2011; Talukder et al. 2014). Prasad et al. (2002) show that this negative effect can be buffered in a limited manner by air CO₂ concentration increase in kidney bean (*i.e.* a 25% seed set increase for a 350 ppm increase). Kirby (1988) shows that wheat floret abortion is concomitant with the higher stem dry matter accumulation rate, leading to competition for assimilates. Ruan et al. (2012) review support the hypothesis that fruit set and seed-

set is under the control of photo-assimilates and more precisely sucrose concentration in the phloem. Under stress condition as water deficit or elevated temperature, low sucrose concentration leads to Programmed Cell Death (PCD) genes activation in reproductive organs finally leading to abortion (Ruan et al. 2010). Guilioni et al. (2003) show that abortion in pea (*Pisum sativum* L.) is related to temperature effect on plant growth. Indeed, abortion act as a buffer of assimilate availability, distal flowers abort when proximal flower became an important sink during fruit development (Guilioni et al., 1997). This observations of relation between fruit set and assimilates availability was also reported on 79 species, presenting higher yields under high CO₂ atmosphere (Jablonsky et al., 2002). Cereal yield loss in response to temperature is related to change in assimilates availability, induced by cycle duration shortening, thus light interception reduction along the plant cycle and alteration of carbon assimilation (Barnabas et. al, 2008). Moreover, Zhao et al. (2005) show that cotton fruit abscission under elevated temperature was correlated with lower carbohydrates content in young flowers.

Finally, some evidences of the role of carbon balance in fruit set responses to temperature are observed in grapevine itself. Indeed, Lebon et al. (2008) shows that anthesis is the key stage in the success of fruit set. Moreover, this stage corresponds to the plant transition from heterotrophy to autotrophy (Lebon et al. 2008). Thus altered carbon storage during the previous vegetative cycle leads to a carbon limitation during this critical phase of reproductive development. Moreover, Duchêne et al. (2003) showed that TNC concentrations are higher in the cultivars showing the lower *coulure* rates. Finally, Rogiers et al. (2011) showed that variability in grapevine fruit set is related to photo-assimilatory stresses as defoliation or shading. Moreover they show that fruit set increases with TNC content in shoot and root. Finally, coulure phenomenon was observed in grapevine when reserves were altered by defoliation during the previous year (Candolfi-Vasconcelos and Koblet, 1991).

However, no a-priori considerations are made up on the fact that the whole fruit set responses are directly related to carbon balance or that some responses are direct effects of temperature of reproductive development without interplay with carbon status. **The main objective of the PhD was to investigate the effects of high temperature on grapevine vegetative and reproductive development and the possible involvement of carbon balance as a mechanism of regulation of early reproductive development (fruit set and young berry development) under thermal stresses.**

V. The *Microvine*: a new model to address scientific issues on the grapevine response to temperature?

The working hypothesis established in the previous section is not straightforward to test with current grapevine cultivars because of many limitations due to their developmental properties. In order to bypass these limitations, we used the *Microvine* as a possible new model.

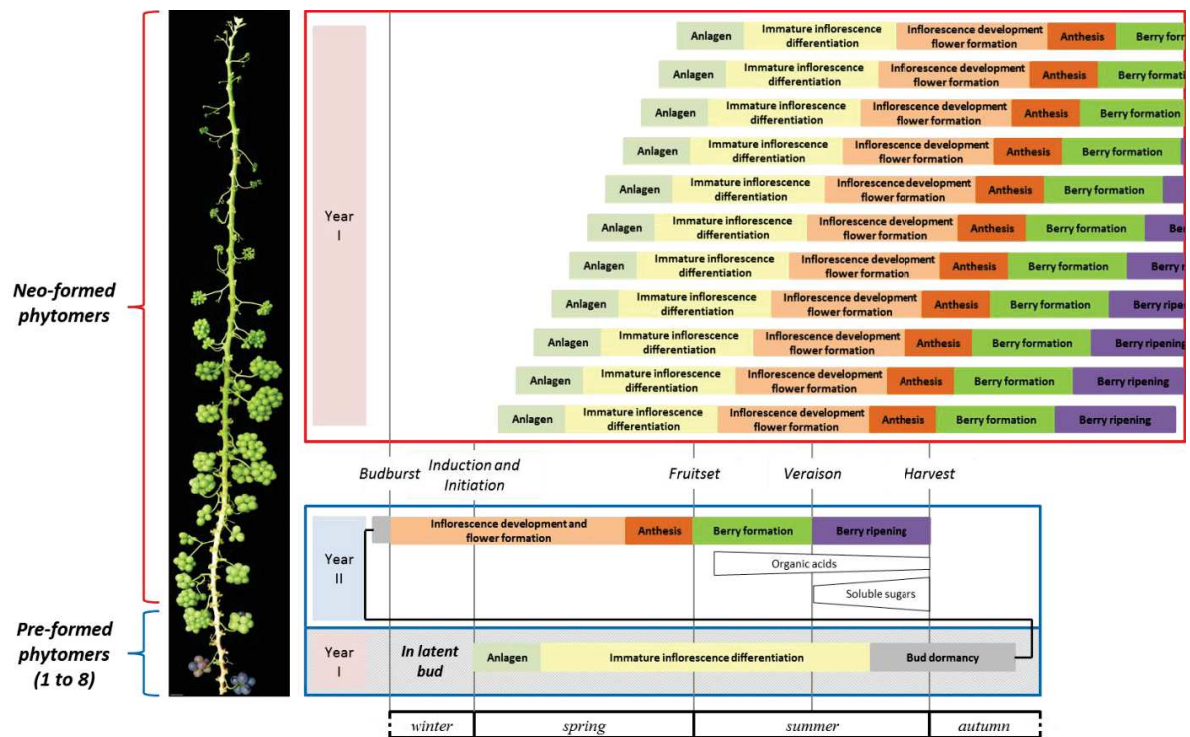


Figure 7: Microvine reproductive development description along the proleptic axis (adapted from Carmona *et al.*, 2007).

V.1. Wild type grapevine limitations

Grapevine plants show developmental characteristics which impact on experimental design and on the way the responses to environmental stresses can be analyzed.

First, grapevine as most of perennial crops display a large stature that mainly accommodates outdoor or greenhouse experiments. In field conditions, many climatic factors vary between days, seasons and years. Moreover, these climatic factors can vary simultaneously hampering the capacity to decipher the impact of each climatic factor independently (Soar et al. 2009). Despite its size, experiments in semi-controlled environment are possible, for instance in greenhouses, but they require the use of large space and long term experiments. Due to minimum area required to grow a vine (0.5 to $1 \text{ m}^2 \cdot \text{plant}^{-1}$), experiments in growth chambers can only be performed with very few plants or very young ones (immature).

Second, as a perennial plant, grapevine is composed of annual organs developed during the growing season and of perennial organs as wood, trunk and rootstock that represent the larger part of reserves and which are determinant for annual growth. Indeed, in grapevine, roots and trunk represent from 18% to 75% of total carbohydrates reserves (Holzapfel et al. 2010). Carbon reserves were found to have a great impact on annual growth, and yield (Holzapfel et al. 2010). In fruit tree growing and even more in viticulture, many cultural practices are possible and can impact plant metabolism and production. Indeed, the large choice of cultivars and the use of rootstock is a first source of variation (Dry et al. 2010; Cox et al. 2012). Moreover, annual growth of woody plants is modified through several pruning practices and canopy management systems (Carbonneau 2010). These practices modify carbon reserves and potential yields from year to year (Dimos et al. 2007); (Holzapfel and Smith 2012). Other cultural practices can have a great impact on reserves and yield and are commonly used in viticulture such as leaf removal (Poni et al. 2013) and crop thinning (Petrie and Clingeleffer, 2006). Thus, grapevine allows an important number of combinations of genotypes, rootstock and cultural practices. Such large plasticity in experimental design can be a real difficulty when it comes to find out general trends in literature as many side-effects can be observed.

Finally, grapevine presents an asynchronous development of vegetative and reproductive organs. Indeed, grapevine growth from proleptic axes shows a reproductive development set over 2 vegetative cycles (Carmona et al. 2008). This condition requires the use of long term experiments in order to study both vegetative and reproductive development and to take into account the year-to-year effect.

V.2. Creation and genetic description of the *Microvine*

Microvine is a natural gai (gibberellic acid insensitive) mutant of *Vitis vinifera* L. obtained by somatic regeneration of the L1 cell layer of Pinot Meunier (Franks et al. 2002; Boss and Thomas 2002). Indeed, the L1 cell layer presents a single mutation in the DELLA domain of the GAI1 gene, resulting

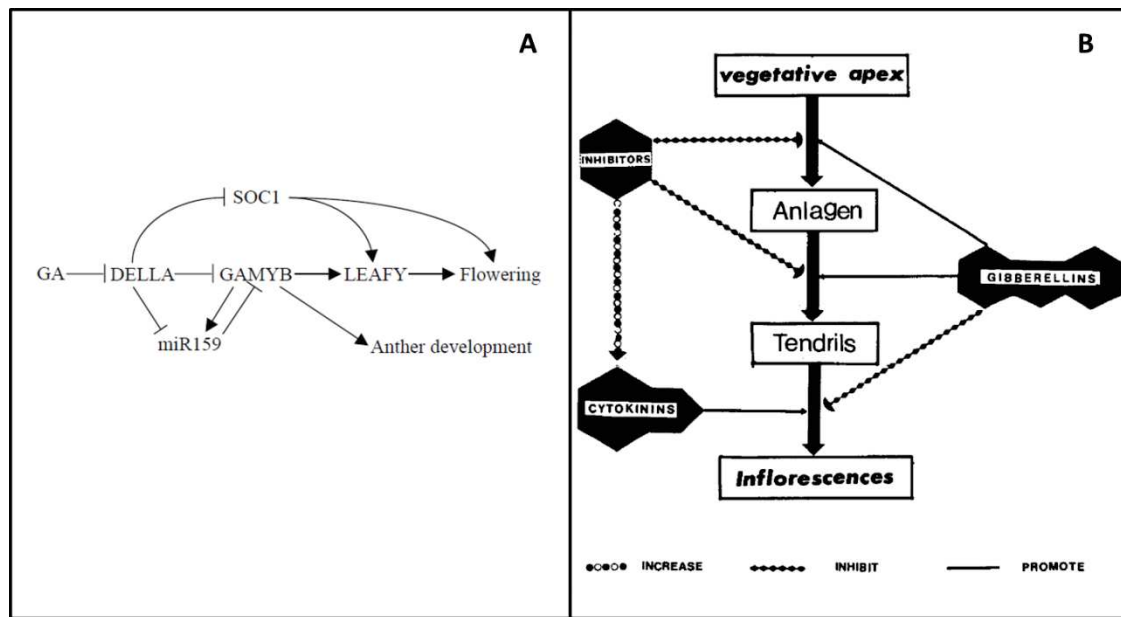


Figure 8: Gibberellins role in flowering induction of *Arabidopsis thaliana* (A) and Grapevine (B). Adapted from Achard *et al.*, 2004 (A) and Srinivasan and Mullins, 1981 (B).

in a substitution of a leucine to a histidine on 7th position of the VvGAI protein. *VvGAI1*, is a gene that shows a very high level of expression in vegetative organs but no expression in reproductive organs (L. Torregrosa, pers. comm.). In reproductive organs, another isogene (*VvGAI2*) is expressed resulting in functional proteins. The modified GAI1 protein resulting from the translation of *Vvgai1* is no longer able to interact with GAs (L. Torregrosa, pers. comm.) as their DELLA domain is altered causing a Gibberellic Acid Insensitive phenotype. As GAs synthesis is not impaired, the *Microvine* accumulates from 4 to 12-fold more GAs as the wild type grapevine (Boss and Thomas 2002). *Microvine* is heterozygous for the *VvGAI* gene (VvGAI/Vvgai). The trait is inheritable in semi-dominant nature. Thus, the Picovine which is obtained from the self-pollination of *Microvine*, is homozygous (*Vvgai1/Vvgai1*) and smaller than *Microvine*.

V.3. Phenotype description

Microvine phenotype offers new perspectives for studies on grapevine. Indeed, it presents a dwarf stature adapted to experiment in small fully controlled environment (Boss and Thomas 2002; Rienth et al. 2012). Moreover, it presents a continuous reproductive development along the main axis allowing to observe the whole developmental sequence in the same time on the same axis (Rienth et al. 2013). Indeed, its GA-insensitivity leads to the floral induction of every uncommitted primordium (Srinivasan and Mullins 1980). The two-year reproductive development still going on in winter bud as in wild type grapevine, but a one year reproductive development is continuously set along the main axis on every uncommitted primordium (Fig. 7).

Microvine can be described as a model for studies about grapevine berry physiology (Rienth, Torregrosa, Luchaire, et al. 2014; Rienth, Torregrosa, Kelly, et al. 2014). Indeed, probably because other GA pathways not linked to VvGAI1 are not impacted (Boss and Thomas 2002), *Microvine* display a sequence of berry development similar to other genotypes of *V. vinifera*. The synchronism between vegetative and reproductive development simplify studies on the interactions between both processes. Indeed, as vegetative and reproductive developments are both continuous along the main axis, every combinations of leaf to fruit ratio for each phenological stage are testable, experimental design is not anymore forced by seasonal patterns. This characteristic also allows to easily manage reserves throughout sink and sources manipulations. *Microvine* was already described as a model for genetics studies (Chaïb et al. 2010), allowing to rapidly study links between genes and traits as in *Arabidopsis thaliana*. We proposed to use it as a model for developmental cues, to mitigate grapevine experimental limitations.

V.4. Gibberellic acids in grapevine

(i) Synthesis and signalization pathway

Gibberellic acids (GAs) are cyclic diterpenoids. More than one hundred of GAs were described, but only few of them are bioactive as GA₁, GA₃, GA₄ and GA₇. GAs are mainly produced in rapidly

growing tissues. Biosynthesis pathway was finely described in *Arabidopsis thaliana* (Yamaguchi 2008). This pathway implies several enzymes as many different GAs are produced. The GAs signalization pathway was also finely described. This pathway implies repressors of GAs response which are the DELLA proteins. These proteins were described in several species as *Arabidopsis thaliana* (GAI, RGA, RGL1, RGL2 and RGL3), rice (SLR1), wheat (Rht), barley (SLN1), maize (d8) and grapevine (VvGAI) (Ueguchi-Tanaka et al. 2007). These DELLA proteins are characterized by a particular amino acid sequence called DELLA. When bioactive GAs are produced a protein complex is formed between GAs, DELLA proteins and GID1 protein (Schwechheimer 2008). This complex formation leads to the DELLA protein degradation and the suppression of the GA's response repression.

(i) *Implication in development*

GAs are phyto-hormones implied in several development processes. Indeed, GAs play a role in germination, stem elongation, root elongation, trichome formation, flower and fruit development (Fleet and Sun 2005). GAs induce germination, stem and root elongation in cooperation with other hormones as Auxin and Ethylene. Moreover, GAs are known to induce fruit growth in *Arabidopsis thaliana* as well as in fleshy fruits as tomato (Serrani et al. 2007). However, in *Arabidopsis thaliana*, GAs induces floral induction (Achard et al. 2004) while in grapevine it was shown to be the opposite. Indeed, in grapevine, GAs induces the conversion of uncommitted primordia into tendrils (Srinivasan and Mullins 1981) (Fig. 8).

GAs are also involved in fruit set phenomenon in fleshy fruits such as tomato and grapevine. Indeed, GA₁ and GA₄ peak is observed during anthesis in flower, rapidly followed by a decrease after bloom (Carlos Serrani et al. 2007; Giacomelli et al. 2013). Inhibitors of GAs biosynthesis during anthesis reduces fruit set (Serrani et al. 2008), while GAs application during bloom increases fruit set and parthenocarpic fruits growth (Jung et al. 2014).

(ii) *Implication in response to biotic and abiotic stresses*

GAs are involved in biotic stress responses (Robert-Seilanianantz et al. 2011). Indeed, DELLA proteins can positively interact with Salicylic Acid and Jasmonate pathways during pathogene attack. Since GAs stimulate DELLA proteins degradation, it is likely that GAs promotes resistance to biotrophs and susceptibility to necrotrophs (Bari and Jones 2009).

GAs are involved in some responses to light (Yamaguchi 2008). Indeed, GAs are partly responsible for light-regulated seed germination (Fleet and Sun 2005), de-etiolation and shade avoidance syndrome (Alabadí and Blázquez 2008). GAs are also involved in photoperiod regulation of stem growth and flowering (Arana et al. 2011).

GAs are also involved in seeds responses to cold, *i.e.* cold treatments induces GAs synthesis promoting germination. Moreover, GAs are involved in thermoperiodism, *i.e.* in the ability of plants to detect the diurnal temperature change and to modify their growth and development accordingly (Arana et al. 2011). Kang et al. 2011 shows that in *Arabidopsis thaliana* GAI, RGL1 and RGL2 are under the regulation of DWARF AND DELAYED FLOWERING 1 (DDF1) gene during biotic stresses as heat, drought, salt and cold.

(i) *What about Microvine?*

Considering the implication of GAs in many developmental processes and also in stresses responses, it may seem complicated to use a GA-insensitive mutant as a model plant for ecophysiology. However, *Microvine* presents some features that facilitate it. Indeed, in reproductive organs, another isogene (*VvGAI2*) is expressed resulting in functional proteins (L. Torregrosa, pers. comm.). This results in a non-altered fruit development in *Microvine*. Thus, the responses of reproductive development to temperature should not be directly impacted by the mutant nature of *Microvine*.

Nevertheless, some limitations have to be taken into account when considering the *Microvine*. Firstly, *Microvine* crop load elaboration is different from grapevine. In other words, grapevine reproductive development starts when vegetative development is already started, and crop load is expressed in kg of reproductive organs per square meters of leaf area with reproductive organs at the same phenological stage. Conversely, *Microvine* reproductive and vegetative development starts simultaneously, and due to its continuous flowering phenotype, crop load is expressed considering reproductive organs at different phenological stages and thus representing different sink strength. Considering this, *Microvine* presents a source to sink balance much more complex than grapevine one. However this feature allows working on a large spectrum of source to sink ratio easier to obtain with *Microvine* than with grapevine. Secondly, *Microvine* may exhibit higher chlorophyll content in leaves and thus higher net photosynthesis rates than grapevine. Indeed, Benková and Hejátko (2008) showed that grapevine plants exposed to inhibitors of GAs biosynthesis present lower area but higher Chlorophyll concentration and photosynthesis rates. Finally, *Microvine* GA-insensitive phenotype makes it particularly sensitive to some diseases (e.g. powdery mildew) and needs a special care (pesticides treatments).

V.5. Other dwarf model plants

Several dwarf genotypes have been already described in other species. Some of them are GA insensitive mutant derived from the “green revolution” gene as the *Microvine*. It is particularly the case of *Rht1* and *Rht2* in wheat (Wu et al. 2011) and *Sd1* in Rice (Asano et al. 2009). However, the majority of the other dwarves are GAs synthesis mutants. Such mutants can be found in many species as pea (Yaxley et al. 2001), sorghum (Kouressy et al. 2008), cotton plant (Zhang et al. 2011) and peach (Glenn and Scorza 1992).

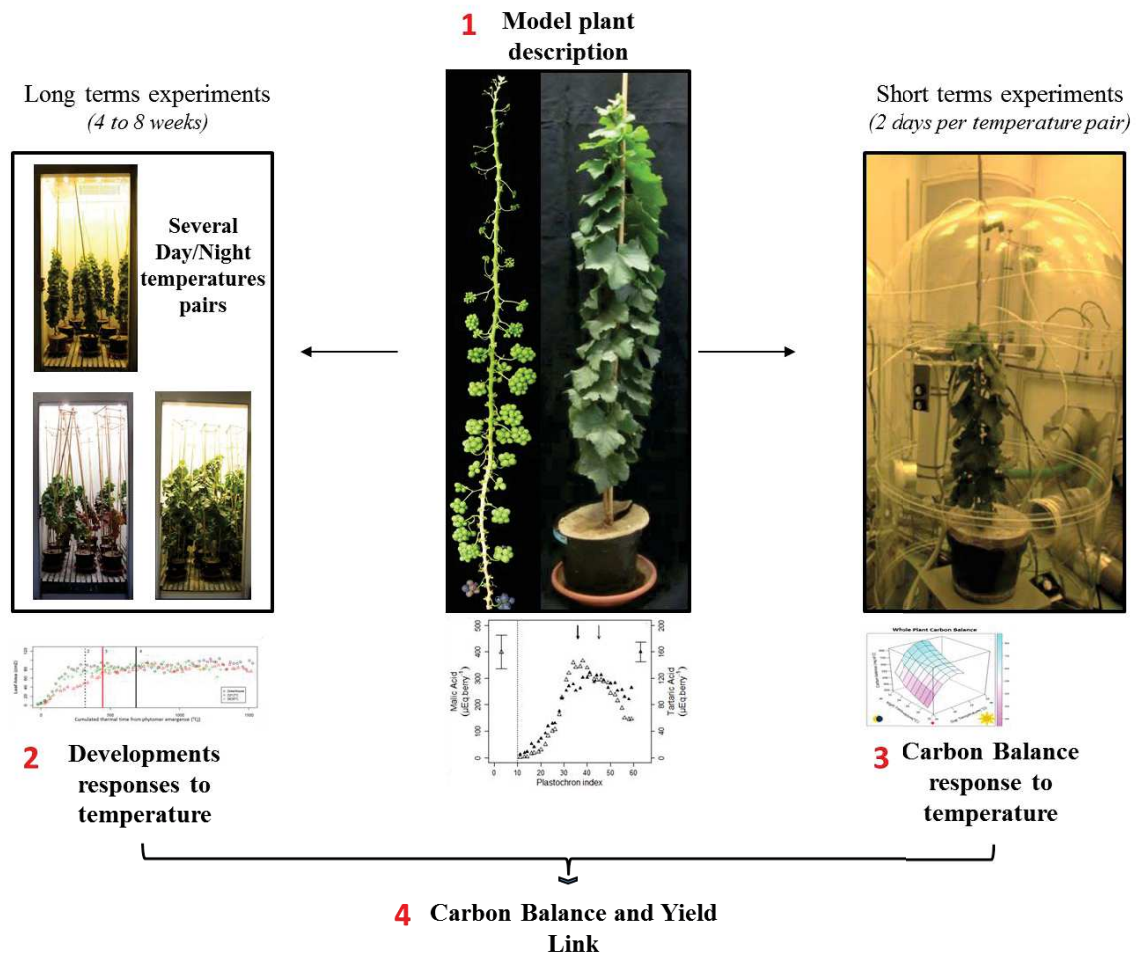


Figure 9: PhD working plan.

Despite a large number of dwarf mutants only one is considered as a model plant: the microtom. Microtom is GA biosynthesis mutant of tomato (*Solanum lycopersicum* L.). The microtom is mainly used for molecular researches on tomato (Marti 2006). It is largely used as model for functional genomics as it is easy to transform and can be cultivated in small volumes (Dan et al. 2006). But the microtom is also presented as an efficient toolkit for researches on plant development, near isogenic lines (NIL) are developed and allowed to connect phenotypes to genomic regions (Carvalho et al. 2011). However, genetic is not the only use of the microtom. Indeed, De Micco et al. (2014) use the microtom to describe leaf anatomical and physiological responses to an abiotic factor: ionizing radiation.

VI. Working plan

As previously shown, the mechanisms involved in the response of reproductive development to temperature are still largely unknown. In particular, the relationship between yield and carbon balance and its modulation by temperature are still unclear in perennial plant like grapevine. In order to approach this question through an innovative strategy, it was addressed with a novel model, the *Microvine*. Thus, this PhD work was aimed at exploring the *Microvine* vegetative and reproductive development response mechanisms to elevated temperature; and carbon balance implications. Four major points were addressed in this project (Fig. 9).

First, the *Microvine* model appears a promising model for both genetics and physiology studies, but no phenotyping methodology was available at the beginning of the PhD. Our first goal was to investigate how to produce and analyze *Microvine* phenotypic data. Data from several experiments in greenhouse were used to describe *Microvine* vegetative and reproductive development. These data were then used to describe the stability of vegetative and reproductive developments along the main axis, and how spatial gradient can be converted into temporal data. Finally, such conversion was applied to an experiment with contrasting temperature in order to demonstrate the possibilities offered by the *Microvine* model (Chapter 1).

Second, using the analysis framework developed in point 1, we studied the effect of temperature elevation on vegetative and reproductive developments of the *Microvine*. A set of 5 experiments were performed in order to analyze vegetative and reproductive response to day and night temperature variations. The early component of yield and the fruit set failing were specially addressed (Chapter 2).

Third, we investigated the impact of temperature elevation on carbon balance. Two specific experiments were performed to characterize carbon balance evolutions at plant and organs levels monitoring gas exchange responses to temperature. These data were completed with a meta-analysis of all gas exchange measurement realized across the 5 experiments realized in contrasted conditions and the measurements realized in greenhouse for *Microvine* description (Chapters 1 and 2). All these data

together were used to generate a model of *Microvine* carbon balance response to temperature (Chapter 3).

Finally, the implication of carbon balance in response of early reproductive development to temperature was addressed. Simulated carbon balances of plants from the five experiments with contrasted temperature were related to the abortion rates measured in these experiments. It shed light on possible links between carbon balance and yield losses in grapevine (General discussion).

General material and methods



Figure 10: Experimental devices. Microvine plants grown in greenhouse (A), 1 m² growth chamber (B) and 20m² growth rooms (C).

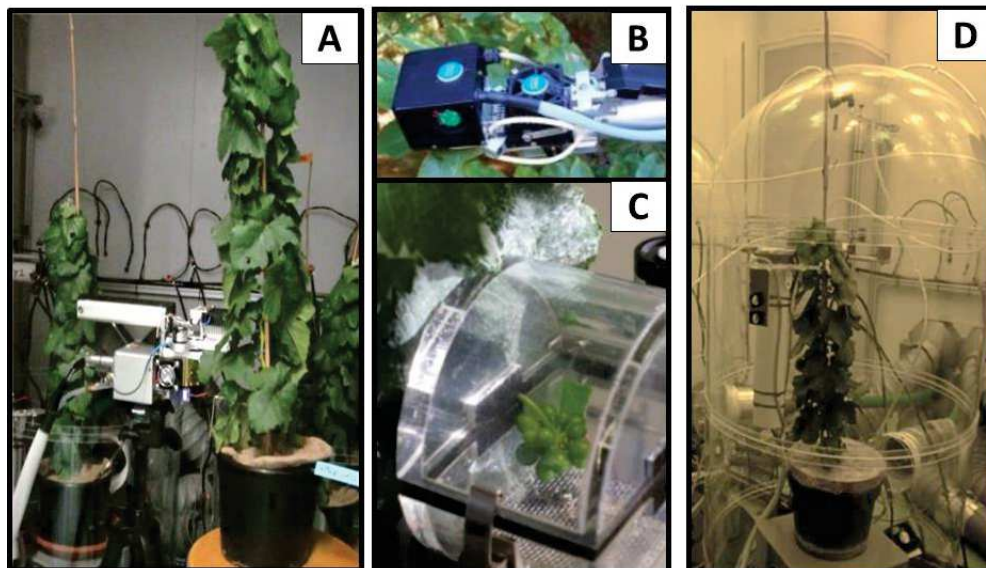


Figure 11: Gas exchange measurement devices. Leaf cuvette measurements with LiCOR 6400Xt (A) and CIRAS 2 (B). Cluster measurements with conifer chamber of LiCOR 6400Xt (C). Whole plant gas exchange measurements with assimilation chambers designed at LEPSE and relying on CIRAS DC analyser (D).

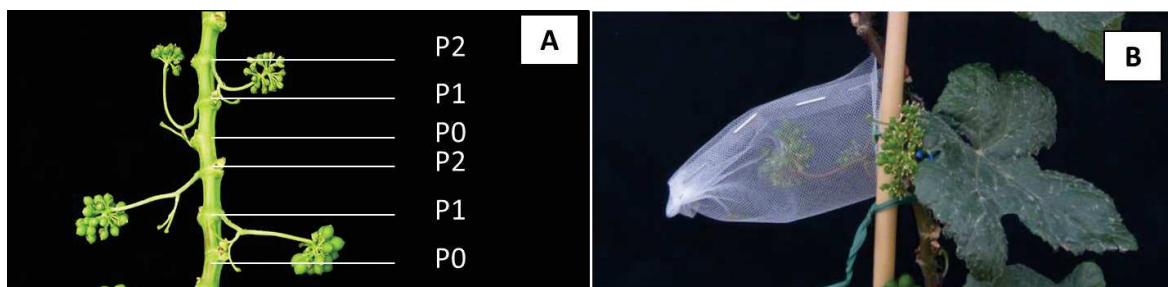


Figure 12: Grapevine phytomer rhythmicity description (A) and coulure measurement device (B). Phytomers P0 type are non-bearing inflorescence or tendrils ones, Phytomers types P1 and P2 are bearing inflorescences or tendrils numbered according to their appearance order after a P0 type. Net on Bunches were placed on P1 phytomers before flowering in order to retain dropped flowers and berries due to coulure phenomenon.

This section presents the general material and methods for all experiments. Further information regarding the experiments and data analysis will be detailed in each chapter material and method section.

I. Plant material

Ten experiments (thereafter named Exp. 1 to Exp. 10) were conducted from 2011 to 2014 at the Montpellier-SupAgro-INRA campus (southern France; 43°38'N, 3°53'E). Own rooted *Microvine* plants (line ML1, similar production method and biological properties as the original L1 mutant described by Chaïb et al., 2010) were produced from wood cutting, after the canes were stored in cool-room at 4°C for a one-month period in order to break winter buds dormancy. Cuttings were planted in 3L pots filled with loam. Plants were grown outside the first season and in greenhouse the second season (Fig. 10A). They were stored at 4°C during one month between the two seasons.

All experiments were conducted during the second season under control climatic conditions in greenhouse (Exp. 3 to 5) or in growth chamber (1 m², 13.5 m² or and 20 m²; Exp. 1 to 2 and 6 to 10) (Table 1; Fig. 10B & C). Experiments in growth chamber were performed after an initial growth period in greenhouse, until plants held 30 to 55 unfolded leaves. Plants (6 to 20, depending on Exp.) were thinned to a unique proleptic axis and laterals were removed as soon as they appeared. Crop load was controlled in Exp. 1 to 8 and 10 ('All.inflo'), while all reproductive organs were removed in Exp. 9 ('No.inflo'). Clusters beyond the lag phase were removed at T0 in Exp 1 to 3 or all over the period T0-Tf in Exp. 10. In Exp 5 to 8, inflorescences beyond mid-flowering at T0 were removed. Additional leaf and crop load treatments were applied on a set of plants in Exp 3, 4 and 8. They included a range of inflorescences or leaf removal treatments *i.e.* 1 inflorescence (P1) retained per ternary module (Inflo 1/2, Exp. 3), 1 leaf (P1) retained per ternary module (Leaf 1/3, Exp. 4) or 1 leaf (P1) retained per 3 successive ternary modules (Leaf 1/9, Exp. 8) (Table 1).

For all Exp., irrigation was supplied at a daily time-step to fit maximal evapotranspiration. At budburst, 15 g of osmocote Exact fertilizer (Everris, Limas, France) were added. During the temperatures treatments in growth chamber, plants were irrigated with water plus nutrients (nutritive solution MS/2 type) to avoid differences of plant nutritional status.

II. Climatic conditions

Micrometeorological conditions under greenhouse (Exp. 3 to 5) or in growth chamber (Exp. 1 to 2 and Exp. 6 to 10) were controlled through measurements of air temperature, relative humidity and

Table 1: Experimental design summary (period T0 to Tf).

Exp.	Growing conditions	Year	Targeted day/night T°C	Crop load ^a	Plant number	Budburst date	Phytomere number at T0	Experiment duration (days)	Average daily climatic conditions		
									Max./min. temperatures (°C)	Cumulated PAR (mol.m ⁻² .d ⁻¹)	Max./min. VPD (kPa)
3	Greenhouse	2011	25°C / 15°C	All.inflo	6	Nov 2010	0	175	23.39 / 16.82	18.6	1.96 / 1.34
				Inflo 1/2	6						
4	Greenhouse	2012	25°C / 15°C	All.inflo	6	Apr 2012	0	76	25.36 / 15.88	25.3	1.49 / 0.89
				Leaf 1/3	6						
5	Greenhouse	2013	25°C / 15°C	All.inflo	20	Nov 2012	0	66	24.01 / 15.16	19.9	1.42 / 0.62
1	Phytotron (1m ²)	2011	22°C / 12°C	All.inflo	8	Nov. 2010	55	58	22.28 / 12.68	19.0	1.12 / 0.28
2	Phytotron (1m ²)	2011	30°C / 20°C	All.inflo	8	Nov 2010	55	29	29.67 / 19.60	19.0	1.30 / 0.40
6	Phytotron (1m ²)	2013	30°C / 15°C	All.inflo	10	Dec 2012	30	28	29.11 / 14.81	19.0	1.37 / 0.40
7	Phytotron (1m ²)	2013	30°C / 25°C	All.inflo	10	Dec 2012	30	28	29.75 / 23.95	19.0	1.25 / 0.68
8	Phytotron (20m ²)	2013	25°C / 15°C	All.inflo	6	Jan 2013	35	31	24.54 / 15.41	19.5	1.22 / 0.33
				Leaf 1/9	4						
9	Phytotron (13.5 m ²)	2013	Day: 20°C to 35°C Night: 15°C to 30°C	No.inflo	6	Jan 2013	40	28	D: 20.66 to 34.26 N: 14.71 to 28.94	30.2	D: 1.24 to 1.97 N: 0.67 to 1.81
10	Phytotron(13.5 m ²)	2014	Day: 20°C to 35°C Night: 15°C to 30°C	All.inflo	12	Dec 2014	47	32	D: 20.30 to 34.67 N: 14.64 to 29.57	30.2	D: 1.38 to 1.83 N: 1.38 to 2.60

*Crop load on the main axis: All.inflo=all inflorescences retained; No.inflo=no inflorescences retained; Inflo 1/2= 1 inflorescence (P1) retained per ternary module; Leaf 1/3: 1 leaf (P1) retained per ternary module; Leaf 1/9 : 1 leaf (P1) per 3 successive ternary modules retained

photosynthetically active radiation (PAR) by weather stations located in the middle of the pots collections. Data were collected every 30 s, and means were calculated and stored every 15 mn.

Contrasted day/night temperature treatments were applied over different periods in greenhouse and in growth chambers. In greenhouse temperatures were set to 25°C/15°C (day/night, namely control T°C) for Exp. 3 (2011), 4 (2012) & 5 (2013) (Table 1, see also chapter 1). Other climatic variables were controlled to reach a mean VPD ranging from 0.95 to 1.62 kPa and an average daily PAR over a 14-hours photoperiod of 18.6, 25.3 and 19.9 mol.m⁻².d⁻¹ respectively., Exp. 3 was conducted over a 6 month-period, while Exp. 4 and 5 were shorter and lasted 2 months.

In growth chamber (Exp. 1 to 2 & 6 to 8), temperature treatments ranged from 22°C to 30°C during the day and from 12°C to 25°C during the night. Temperature day/night pairs were 22/12°C and 30/20°C (Exp. 1 and 2, respectively; 2011), and 30/15°C, 30/25°C and 25/15°C (*Exp.* 6, 7, and 8 respectively; 2013) (Table 1, see also chapters 1 and 2). They were applied over long-term periods in 2011 (Exp. 1 & 2; one to two month), and short-term periods in 2013 (Exp. 6 to 8; three to four weeks). Experiments 1, 2, 6 and 7 were realized in 1m² growth chambers, while *Exp.* 8 was realized in 20m² growth chamber. Similarly to greenhouse experiments, VPD was ranging between 0.35 and 1 kPa under growth chambers. The photoperiod was 14 hours and the daily average PAR was 19.1 mol.m⁻².d⁻¹.

Several successive day/night temperature treatments over 2-days periods during one month were applied in Exp. 9 & 10 under growth chambers (13.5m²) (see also Chapter 3, Fig 1). Day and night temperatures were progressively incremented of 5°C to range from 20°C to 35 °C during the day and from 15°C to 30°C during the night. Other climatic variables were set to similar ranges as for other experiments in greenhouse and growth chamber: VPD was ranging between 1.02 and 2.28 kPa, and mean daily PAR over a 14-hours photoperiod was 30.2 mol.m⁻².d⁻¹.

III. Plant measurements global chart

Microvine temporal and spatial developments and growth were compared under control temperature conditions in greenhouse in Exp. 3. Spatial changes in Microvine development, biomass allocations and sugar pools were assessed both under control temperatures in greenhouse in Exp. 3 to 5 and under contrasted day/night temperatures treatments in growth chambers in Exp. 1 to 2 and Exp. 6 to 8. Gas exchanges and carbon balance responses to elevated temperatures were specifically addressed in growth chambers in Exp. 9 & 10. Thus, depending on experiments objectives, measurements were performed at the beginning of the Exp. (T0), at the end of the Exp. (Tf) or all over the experiment (T0 to Tf) at various frequencies, from twice a week to every two days (Table 2).

Table 2: Variables measured at the beginning (T0), at the end (Tf) and during the experiments (period T0 to Tf, grey lines).

Exp.	Measurement frequency	Phenology ^a	Nul ^b	Phytomer number and type	Inflorescence, flower and berry numbers ^c	Individual leaf, internode, rachis and berry			All root system		Organ gas exchanges		Plant gas exchanges
						size	FW, DW	sugar content	FW, DW	sugar content	leaf	inflorescence	
3	T0 & Tf	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓			✓		
	2x / week	✓	✓		✓	✓							
4	Tf	✓	✓	✓	✓	✓							
	2x / week	✓	✓		✓	✓							
5	Tf	✓	✓	✓	✓	✓							
	2x / week	✓	✓										
1	T0 & Tf	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓			✓		
	2x / week	✓	✓										
2	T0 & Tf	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓			✓		
	2x / week	✓	✓										
6	T0 & Tf	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
	2x / week	✓	✓		✓								
7	T0 & Tf	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
8	T0 & Tf	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
9	every 2 days		✓			✓					✓		✓
10	every 2 days		✓		✓	✓					✓	✓	✓

^a budburst at the plant level; flowering and véraison at the phytomer level

^bNumber of unfolded leaves

^cNumber per phytomer (P1 or P2)

Plant phenology was observed on each plant, both at the plant level for budburst (stage EL-4, Coombe, 1995) in all Exp (1 to 10), and at the phytomer level for flowering (stage EL-23) and veraison (stage EL-35) in Exp 1 to 6. Plant development was assessed by counting the number of unfolded phytomers. The phytomers types (P0, P1 and P2, Fig. 11A) along the proleptic axis were determined, together with the presence of inflorescences on phytomers P1 and P2. Flower and berry numbers per inflorescences were counted as described in chapter 2. The rates of flower, berry & inflorescence abortions were thus calculated from these observations (see chapter 2).

Spatial changes along the proleptic axis of individual above-ground organs sizes were assessed in Exp 1 to 8, while temporal changes in organs sizes were only determined in Exp 3. Leaf main vein lengths were measured at each phytomer position to calculate leaf area; using allometric relationships (see Chapter 1). Internode length and diameter were measured on all phytomers in 2011 and only on P1 phytomers thereafter. Internodes volumes were calculated from these measurements (see chapter 1). Berry diameters were measured on attached clusters using an electronic sliding caliper (Mitutoyo, Roissy CDG, FRANCE) during Exp 1 and 4. In other Exp (1 to 10), inflorescences pictures were taken using a Canon EOS 600D, with a macro lens 100 mm ISO 1600 (CANON, Courbevoie, FRANCE). Berry diameters were thus determined from images analyses (see chapter 3). Inflorescence stem main and secondary arms lengths and diameter were measured on phytomers P1. Berry and inflorescences volumes were calculated from the above measurements (see chapters 1 & 3). In addition, inflorescences volumes were measured at Tf in Exp 10 using the Archimede method (see chapter 3). Individual leaf, internode, inflorescence stem, flower and berry fresh weights were measured at Tf in Exp 1 to 3 and 6 to 8. At Tf in Exp. 6 to 8 the entire root systems fresh weights were determined (see chapter 2). Individual organs and roots dry weights were determined from powder samples of the organs, after they were frozen in liquid nitrogen for biochemical assays (see chapter 1). Leaves, internodes, inflorescence stems and berries (only P1 types), together with roots, were assayed for soluble sugar (glucose, fructose and sucrose) and starch contents using enzymatic methods (see details in chapter 2). In Exp. 6, 7 and 8, 3 extra plants were harvested at T0 to obtain organs dry weight and soluble sugars content at the beginning of the experiment.

Gas exchanges were assessed both at the organ level (leaf, inflorescence) and at the whole plant level. Leaf photosynthesis and respiration were measured at different phytomer position along the proleptic axis in Exp 1 to 3 and 6 to 10, using LiCOR 6400Xt and CIRAS 2 gas exchange analyzers (Fig. 12A and 12B, see chapter 3). Inflorescences photosynthesis and respiration were determined at the same phytomers positions in Exp 10, with a 6400-5 conifer chamber relying on a LiCOR 6400Xt gas exchange analyzer (Fig. 12C, see chapter 3). Whole plant assimilation chamber were specifically designed to measure whole plant photosynthesis and respirations in Exp 9 and 10 (Fig. 11D; Bediee *et al.*, in prep., see appendix 1). In order to calculate carbon assimilation and respiration per organ or per

Table 3: Experiment numbering and symbols chart between chapters.

Exp.	period	Experimental device	Considered Temperatures (Day/Night)	Chapter				
				1		2 & 3		
				Exp.	symbols	Exp.	symbols	
1	T0	Greenhouse	25/15°C	1△	1	△		
	Tf	Phytotron	22/12°C					
2	T0	Greenhouse	25/15°C	2▲	2	▲		
	Tf	Phytotron	30/20°C					
3	T0 to Tf	Greenhouse	25/15°C	3● ○	3	△		
	Tf	Greenhouse	25/15°C					
4	Tf	Greenhouse	25/15°C	4■				
5	Tf	Greenhouse	25/15°C	5▣				
6	T0	Greenhouse	25/15°C	6✱	6	●		
	Tf	Phytotron	30/15°C					
7	T0	Greenhouse	25/15°C	6✱	7	✱		
	Tf	Phytotron	30/25°C					
8	T0	Greenhouse	25/15°C	7◆	8	◆		
	Tf	Phytotron	25/15°C					
9	day	Phytotron	20 to 35°C		9	○		
	night	Phytotron	15 to 30°C					
10	day	Phytotron	20 to 35°C		10	An	Leaf	△
						Inflo.	△	
	night	Phytotron	15 to 30°C		R	Leaf	△	
						Inflo.	△	

unit of size, leaf area was determined prior to each measurement, and inflorescence pictures were taken to determine inflorescence volumes (see chapter 3)

IV. Statistical analyses

All data analysis and graphs charts were realized using R (R2.13.2, Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). Linear and non-linear models were fitted with the conventional least squares method. Shapiro-Wilk normal distribution tests. Subsequent standard two-sided student-t or Wilcoxon signed-rank tests were performed for means comparison. Fitting lines were compared using Fisher's least significant difference (LSD). A significance threshold of 0.05 was adopted for all of the statistical analyses. Correlation between variables were analyzed and computed by bootstrap resampling. The significance threshold for bootstrap resampling was 0.001. Specific relationships between variables were tested using a principal component analysis (PCA).

For a better readability, a summary of symbols used in graphs charts was drawn for all experiments (table 3). Symbols were kept consistent for all chapters except for chapter 1, which corresponds to a submitted article.

- Achard P, Herr A, Baulcombe D, Harberd N. 2004.** Modulation of floral development by a gibberellin-regulated microRNA RID A-5406-2010. *Development* **131**: 3357–3365.
- Adams SR, Cockshull KE, Cave CRJ. 2001.** Effect of Temperature on the Growth and Development of Tomato Fruits. *Annals of Botany* **88**: 869–877.
- Alabadí D, Blázquez MA. 2008.** Molecular interactions between light and hormone signaling to control plant growth. *Plant Molecular Biology* **69**: 409–417.
- Ali K, Maltese F, Choi YH, Verpoorte R. 2010.** Metabolic constituents of grapevine and grape-derived products. *Phytochemistry Reviews* **9**: 357–378.
- Arana MV, Marín-de la Rosa N, Maloof JN, Blázquez MA, Alabadí D. 2011.** Circadian oscillation of gibberellin signaling in Arabidopsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **108**: 9292.
- Araya T, Noguchi K, Terashima I. 2008.** Manipulation of light and CO₂ environments of the primary leaves of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) affects photosynthesis in both the primary and the first trifoliate leaves: involvement of systemic regulation. *Plant, cell & environment* **31**: 50–61.
- Asano K, Hirano K, Ueguchi-Tanaka M, Angeles-Shim RB, Komura T, Satoh H, Kitano H, Matsuoka M, Ashikari M. 2009.** Isolation and characterization of dominant dwarf mutants, Slr1-d, in rice. *Molecular Genetics and Genomics* **281**: 223–231.
- Atkin OK, Bruhn D, Hurry V, Tjoelker MG. 2005.** The hot and the cold: unravelling the variable response of plant respiration to temperature. *Functional Plant Biology* **32**: 87–105.
- Atkin OK, Scheurwater I, Pons TL. 2006.** High thermal acclimation potential of both photosynthesis and respiration in two lowland *Plantago* species in contrast to an alpine congeneric. *Global Change Biology* **12**: 500–515.
- Atkinson LJ, Hellicar MA, Fitter AH, Atkin OK. 2007.** Impact of temperature on the relationship between respiration and nitrogen concentration in roots: an analysis of scaling relationships, Q_{10} values and thermal acclimation ratios. *New Phytologist* **173**: 110–120.
- Bari R, Jones JDG. 2009.** Role of plant hormones in plant defence responses. *Plant Molecular Biology* **69**: 473–488.
- Barlow KM, Christy BP, O’Leary GJ, Riffkin PA, Nuttall JG. 2015.** Simulating the impact of extreme heat and frost events on wheat crop production: A review. *Field Crops Research* **171**: 109–119.
- Barnabás B, Jäger K, Fehér A. 2008.** The effect of drought and heat stress on reproductive processes in cereals. *Plant, Cell & Environment* **31**: 11–38.
- Benková E, Hejácíko J. 2008.** Hormone interactions at the root apical meristem. *Plant Molecular Biology* **69**: 383–396.
- Bernard A. 1980.** Contribution à l’étude de la biologie et des méristèmes des vitacées.
- Berry J, Bjorkman O. 1980.** Photosynthetic Response and Adaptation to Temperature in Higher Plants. *Annual Review of Plant Physiology* **31**: 491–543.
- Boss PK, Buckeridge EJ, Poole A, Thomas MR. 2003.** New insights into grapevine flowering. *Functional Plant Biology* **30**: 593–606.

- Boss PK, Thomas MR. 2002.** Association of dwarfism and floral induction with a grape “green revolution” mutation. *Nature* **416**: 847–850.
- Brooks A, Farquhar GD. 1985.** Effect of temperature on the CO₂/O₂ specificity of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase and the rate of respiration in the light. *Planta* **165**: 397–406.
- Bruhn DAN, Leverenz JW, Saxe H. 2000.** Effects of tree size and temperature on relative growth rate and its components of *Fagus sylvatica* seedlings exposed to two partial pressures of atmospheric [CO₂]. *New Phytologist* **146**: 415–425.
- Bryla DR, Bouma TJ, Eissenstat DM. 1997.** Root respiration in citrus acclimates to temperature and slows during drought. *Plant, Cell & Environment* **20**: 1411–1420.
- Bunce JA. 2000.** Acclimation of photosynthesis to temperature in eight cool and warm climate herbaceous C₃ species: temperature dependence of parameters of a biochemical photosynthesis model. *Photosynthesis Research* **63**: 59–67.
- Bunce JA. 2007.** Direct and Acclimatory Responses of Dark Respiration and Translocation to Temperature. *Annals of Botany* **100**: 67–73.
- Candolfi-Vasconcelos MC, Koblet W. 1991.** Influence of partial defoliation on gas exchange parameters and chlorophyll content of field-grown grapevines _ Mechanism and limitations of the compensation capacity. *Vitis*: 129–141.
- Carbonell-Bejerano P, Santa María E, Torres-Pérez R, Royo C, Lijavetzky D, Bravo G, Aguirreolea J, Sánchez-Díaz M, Antolín MC, Martínez-Zapater JM. 2013.** Thermotolerance responses in ripening berries of *Vitis vinifera* L. cv Muscat Hamburg. *Plant and Cell Physiology* **54**: 1200–1216.
- Carbonneau A. 2010.** Evolution of vineyard canopy management: from history to new training systems. *Progres agricole et viticole* **127**: 109–130.
- Carlos Serrani J, Sanjuan R, Ruiz-Rivero O, Fos M, Luis Garcia-Martinez J. 2007.** Gibberellin regulation of fruit set and growth in tomato. *Plant Physiology* **145**: 246–257.
- Carmona MJ, Chaib J, Martinez-Zapater JM, Thomas MR. 2008.** A molecular genetic perspective of reproductive development in grapevine. *Journal of Experimental Botany* **59**: 2579–2596.
- Carmona MJ, Cubas P, Calonje M, Martinez-Zapater JM. 2007.** Flowering transition in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne De Botanique* **85**: 701–711.
- Carvalho RF, Campos ML, Pino LE, Crestana SL, Zsögön A, Lima JE, Benedito VA, Peres LE. 2011.** Convergence of developmental mutants into a single tomato model system: ‘Micro-Tom’ as an effective toolkit for plant development research. *Plant Methods* **7**: 1–14.
- Chaïb J, Torregrosa L, Mackenzie D, Corena P, Bouquet A, Thomas MR. 2010.** The grape microvine - a model system for rapid forward and reverse genetics of grapevines. *The Plant journal: for cell and molecular biology* **62**: 1083–1092.
- Chew YH, Wenden B, Flis A, Mengin V, Taylor J, Davey CL, Tindal C, Thomas H, Ougham HJ, de Reffye P, Stitt M, Williams M, Muetzelfeldt R, Halliday KJ, Millar AJ. 2014.** Multiscale digital Arabidopsis predicts individual organ and whole-organism growth. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **111**: E4127–E4136.

- Christophe A, Letort V, Hummel I, Cournède P-H, de Reffye P, Lecœur J. 2008.** A model-based analysis of the dynamics of carbon balance at the whole-plant level in *Arabidopsis thaliana*. *Functional Plant Biology* **35**: 1147.
- Chuine I, Yiou P, Viovy N, Seguin B, Daux V, Le Roy Ladurie E. 2004.** Historical phenology: grape ripening as a past climate indicator. *Nature* **432**: 289–290.
- Coombe BG. 1992.** Research on Development and Ripening of the Grape Berry. *American Journal of Enology and Viticulture* **43**: 101–110.
- Coombe B g. 1995.** Growth Stages of the Grapevine: Adoption of a system for identifying grapevine growth stages. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **1**: 104–110.
- Cox CM, Favero AC, Dry PR, McCarthy MG, Collins C. 2012.** Rootstock Effects on Primary Bud Necrosis, Bud Fertility, and Carbohydrate Storage in Shiraz. *American Journal of Enology and Viticulture* **63**: 277–283.
- Crafts-Brandner SJ, Salvucci ME. 2002.** Sensitivity of photosynthesis in a C4 plant, maize, to heat stress. *Plant physiology* **129**: 1773–1780.
- Dai Y, Dickinson RE, Wang Y-P. 2004.** A two-big-leaf model for canopy temperature, photosynthesis, and stomatal conductance. *Journal of Climate* **17**: 2281–2299.
- Dai ZW, Vivin P, Robert T, Milin S, Li SH, Génard M. 2009.** Model-based analysis of sugar accumulation in response to source–sink ratio and water supply in grape (*Vitis vinifera*) berries. *Functional Plant Biology* **36**: 527.
- Dambreville A, Normand F, Lauri P-É. 2013.** Plant growth co-ordination in natura: a unique temperature-controlled law among vegetative and reproductive organs in mango. *Functional Plant Biology* **40**: 280–291.
- Dan Y, Yan H, Munyikwa T, Dong J, Zhang Y, Armstrong CL. 2006.** MicroTom—a high-throughput model transformation system for functional genomics. *Plant Cell Reports* **25**: 432–441.
- Dewar R, Medlyn B, McMurtrie R. 1999.** Dewar et al_1999.pdf. *Global Change Biology* **5**: 615–622.
- Dimos N, Krstic M, Downey M. 2007.** Pruning effect on yield and quality. *australian & new zealand grapegrower & winemaker* **527**: 20–22.
- Dingkuhn M, Luquet D, Kim H, Tambour L, Clement-Vidal A. 2006.** EcoMeristem, a model of morphogenesis and competition among sinks in rice. 2. Simulating genotype responses to phosphorus deficiency. *Functional Plant Biology* **33**: 325–337.
- Dry PR, Longbottom ML, Mcloughlin S, Johnson TE, Collins C. 2010.** Classification of reproductive performance of ten winegrape varieties. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **16**: 47–55.
- Duchêne E, Jaegli N, Salber R, Gaudillere J-P. 2003.** Effects of ripening conditions on the following season's growth and yield components for pinot noir and Gewurztraminer grapevines (*Vitis vinifera* L.) in a controlled environment. *Journal International Des Sciences De La Vigne Et Du Vin* **37**: 39–49.
- Dunn GM. 2005.** Transforming flower to fruit. *ASVO Seminar* **10**: 116–124.

Dunn GM, MARTIN SR. 2000. Do temperature conditions at budburst affect flower number in *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon? *Australian Journal of Grape and Wine Research* **6**: 116–124.

Escalona J m., Tomàs M, Martorell S, Medrano H, Ribas-Carbo M, Flexas J. 2012. Carbon balance in grapevines under different soil water supply: importance of whole plant respiration. *Australian Journal of Grape and Wine Research*: no–no.

Eyshi Rezaei E, Webber H, Gaiser T, Naab J, Ewert F. 2015. Heat stress in cereals: Mechanisms and modelling. *European Journal of Agronomy* **64**: 98–113.

Fleet CM, Sun T. 2005. A DELLAcate balance: the role of gibberellin in plant morphogenesis. *Current Opinion in Plant Biology* **8**: 77–85.

FAOSTAT. 2014. <http://faostat.fao.org/>.

Franks T, Botta R, Thomas M. 2002. Chimerism in grapevines: implications for cultivar identity, ancestry and genetic improvement RID A-3117-2010. *Theoretical and Applied Genetics* **104**: 192–199.

FranceAgriMer. 2014. <http://www.franceagrimer.fr/>.

Giacomelli L, Rota-Stabelli O, Masuero D, Acheampong AK, Moretto M, Caputi L, Vrhovsek U, Moser C. 2013. Gibberellin metabolism in *Vitis vinifera* L. during bloom and fruit-set: functional characterization and evolution of grapevine gibberellin oxidases. *Journal of Experimental Botany* **64**: 4403–4419.

Gibon Y, Bläsing OE, Palacios-Rojas N, Pankovic D, Hendriks JHM, Fisahn J, Höhne M, Günther M, Stitt M. 2004. Adjustment of diurnal starch turnover to short days: depletion of sugar during the night leads to a temporary inhibition of carbohydrate utilization, accumulation of sugars and post-translational activation of ADP-glucose pyrophosphorylase in the following light period. *The Plant Journal* **39**: 847–862.

Glenn DM, Scorza R. 1992. Reciprocal grafts of standard and dwarf peach alter dry-matter partitioning and root physiology. *HortScience* **27**: 241–243.

Granier C, Massonnet C, Turc O, Muller B, Chenu K, Tardieu F. 2002. Individual Leaf development in *Arabidopsis thaliana*: a stable thermal-time based program. *Annals of Botany* **89**: 595–604.

Granier C, Tardieu F. 1998. Is thermal time adequate for expressing the effects of temperature on sunflower leaf development? *Plant, Cell & Environment* **21**: 695–703.

Greer DH, Weedon MM. 2011. Modelling photosynthetic responses to temperature of grapevine (*Vitis vinifera* cv. Semillon) leaves on vines grown in a hot climate. *Plant, Cell & Environment*: 1–15.

Greer DH, Weedon MM. 2012. Interactions between light and growing season temperatures on, growth and development and gas exchange of Semillon (*Vitis vinifera* L.) vines grown in an irrigated vineyard. *Plant Physiology and Biochemistry* **54**: 59–69.

Greer DH, Weston C. 2010. Heat stress affects flowering, berry growth, sugar accumulation and photosynthesis of *Vitis vinifera* cv. Semillon grapevines grown in a controlled environment. *Functional Plant Biology* **37**: 206–214.

Guilioni L, Wéry J, Lecoeur J. 2003. High temperature and water deficit may reduce seed number in field pea purely by decreasing plant growth rate. *Functional Plant Biology* **30**: 1151–1164.

- Guilioni L, Wery J, Tardieu F. 1997.** Heat stress-induced abortion of buds and flowers in pea: is sensitivity linked to organ age or to relations between reproductive organs? *Annals of Botany* **80**: 159–168.
- Gupta PK, Kulwal PL, Rustgi S. 2005.** Wheat cytogenetics in the genomics era and its relevance to breeding. *Cytogenetic and Genome Research* **109**: 315–327.
- Hannah L, Ikegami M, Hole DG, Seo C, Butchart SHM, Peterson AT, Roehrdanz PR. 2013.** Global Climate Change Adaptation Priorities for Biodiversity and Food Security (AJ Cannon, Ed.). *PLoS ONE* **8**: e72590.
- Hannah L, Roehrdanz PR, Ikegami M, Shepard AV, Shaw MR, Tabor G, Zhi L, Marquet PA, Hijmans RJ. 2013.** Climate change, wine, and conservation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **110**: 6907–6912.
- Heuvelink E. 1989.** Influence of day and night temperature on the growth of young tomato plants. *Scientia Horticulturae* **38**: 11–22.
- Higgins SS, Larsen FE, Bendel RB, Rademaker GK, Bassman JH, Bidlake WR, Al Wir A. 1992.** Comparative gas exchange characteristic of potted, glashouse-grown almond, apple, fig, grape, olive, peach and Asian pear. *Scientia Horticulturae* **52**: 313–329.
- Hikosaka K, Ishikawa K, Borjigidai A, Muller O, Onoda Y. 2006.** Temperature acclimation of photosynthesis: mechanisms involved in the changes in temperature dependence of photosynthetic rate. *Journal of Experimental Botany* **57**: 291–302.
- Hoch G, Körner C. 2003.** The carbon charging of pines at the climatic treeline: a global comparison. *Oecologia* **135**: 10–21.
- Holzappel BP, Smith JP. 2012.** Developmental stage and Climatic factors impact more on carbohydrate reserve dynamics of shiraz than cultural practice. *American Journal of Enology and Viticulture* **63**: 333–342.
- Holzappel BP, Smith JP, Field SK, Hardie WJ. 2010.** 3 Dynamics of Carbohydrate Reserves in Cultivated Grapevines. *Horticultural Reviews* **37**: 143–211.
- Huang X, Lakso AN, Eissenstat DM. 2005.** Interactive Effects of Soil Temperature and Moisture on Concord Grape Root Respiration. *Journal of Experimental Botany* **56**: 2651–2660.
- IPCC. 2007.** The Physical Science Basis, Summary for Policymakers.
- Jablonski LM, Wang X, Curtis PS. 2002.** Plant reproduction under elevated CO₂ conditions: a meta-analysis of reports on 79 crop and wild species. *New Phytologist* **156**: 9–26.
- Jones H. 1992.** *Plants and Microclimate: A quantitative approach to environmental plant physiology*. Press Syndicate of the University of Cambridge.
- Jones GV, White MA, Cooper OR, Storchmann K. 2005.** Climate Change and Global Wine Quality. *Climatic Change* **73**: 319–343.
- Jung CJ, Hur YY, Yu H-J, Noh J-H, Park K-S, Lee HJ. 2014.** Gibberellin Application at Pre-Bloom in Grapevines Down-Regulates the Expressions of VvIAA9 and VvARF7, Negative Regulators of Fruit Set Initiation, during Parthenocarpic Fruit Development (MA Blazquez, Ed.). *PLoS ONE* **9**: e95634.

Kang HG, Kim J, Kim B, Jeong H, Choi SH, Kim EK, Lee HY, Lim PO. 2011. Overexpression of FTL1/DDF1, an AP2 transcription factor, enhances tolerance to cold, drought, and heat stresses in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Science*.

Keeling PL, Bacon PJ, Holt DC. 1993. Elevated temperature reduces starch deposition in wheat endosperm by reducing the activity of soluble starch synthase. *Planta* **191**: 342–348.

Keller M, Tarara JM. 2010. Warm spring temperatures induce persistent season-long changes in shoot development in grapevines. *Annals of Botany* **106**: 131–141.

Keller M, Tarara JM, Mills LJ. 2010. Spring temperatures alter reproductive development in grapevines. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **16**: 445–454.

Kennedy J. 2002. Understanding grape berry development. *practical winery*.

Kirby E. 1988. Analysis of leaf, stem and ear growth in wheat from terminal spikelet stage to anthesis. *Field Crops Research* **18**: 127–140.

Kliewer WM, Lider L. 1970. Effects of day temperature and light intensity on growth and composition of *Vitis vinifera* L. fruits. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **95**: 766–769.

Kouressy M, Dingkuhn M, Vaksman M, Clément-Vidal A, Chantereau J. 2008. Potential contribution of dwarf and leaf longevity traits to yield improvement in photoperiod sensitive sorghum. *European Journal of Agronomy* **28**: 195–209.

Lafarge T, de Raïssac M, Tardieu F. 1998. Elongation rate of sorghum leaves has a common response to meristem temperature in diverse African and European environmental conditions. *Field Crops Research* **58**: 69–79.

Lakso AN, Intrigliolo D, Eissenstat DM. 2007. Modeling concord grapes with “VitiSim”, a simplified carbon balance model: understanding pruning effects. *VIII International Symposium on Modelling in Fruit Research and Orchard Management* 803.243–250.

Lebon G, Brun O, Magné C, Clément C. 2005. Photosynthesis of the grapevine (*Vitis vinifera*) inflorescence. *Tree physiology* **25**: 633–639.

Lebon E, Pellegrino A, Louarn G, Lecoeur J. 2006. Branch Development Controls Leaf Area Dynamics in Grapevine (*Vitis vinifera*) Growing in Drying Soil. *Annals of Botany* **98**: 175–185.

Lebon E, Pellegrino A, Tardieu F, Lecoeur J. 2004. Shoot development in grapevine (*Vitis vinifera*) is affected by the modular branching pattern of the stem and intra- and inter-shoot trophic competition. *Annals of Botany* **93**: 263–274.

Lebon G, Wojnarowicz G, Holzapfel B, Fontaine F, Vaillant-Gaveau N, Clement C. 2008. Sugars and flowering in the grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Journal of Experimental Botany* **59**: 2565–2578.

Van Leeuwen C, Schultz HR, Garcia de Cortazar-Atauri I, Duchene E, Ollat N, Pieri P, Bois B, Goutouly J-P, Quenol H, Touzard J-M, Malheiro AC, Bavaresco L, Delrot S. 2013. Why climate change will not dramatically decrease viticultural suitability in main wine-producing areas by 2050. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **110**: E3051–E3052.

Lescourret F, Génard M. 2005. A virtual peach fruit model simulating changes in fruit quality during the final stage of fruit growth. *Tree Physiology* **25**: 1303–1315.

- Lescourret F, Moitrier N, Valsesia P, Génard M. 2011.** QualiTree, a virtual fruit tree to study the management of fruit quality. I. Model development. *Trees* **25**: 519–530.
- Leymarie J, Lasceve G, Vavasseur A. 1999.** Elevated CO₂ enhances stomatal responses to osmotic stress and abscisic acid in *Arabidopsis thaliana*. *Plant, Cell & Environment* **22**: 301–308.
- Lobell DB, Asner GP. 2003.** Climate and Management Contributions to Recent Trends in U.S. Agricultural Yields. *Science* **299**: 1032–1032.
- Lobell DB, Field CB. 2007.** Global scale climate–crop yield relationships and the impacts of recent warming. *Environmental Research Letters* **2**: 014002.
- Loveys BR, Scheurwater I, Pons TL, Fitter AH, Atkin OK. 2002.** Growth temperature influences the underlying components of relative growth rate: an investigation using inherently fast-and slow-growing plant species. *Plant, Cell & Environment* **25**: 975–988.
- Luquet D, Dingkuhn M, Kim H, Tambour L, Clement-Vidal A. 2006.** EcoMeristem, a model of morphogenesis and competition among sinks in rice. 1. Concept, validation and sensitivity analysis. *Functional Plant Biology* **33**: 309–323.
- Madan P, Jagadish SVK, Craufurd PQ, Fitzgerald M, Lafarge T, Wheeler TR. 2012.** Effect of elevated CO₂ and high temperature on seed-set and grain quality of rice. *Journal of Experimental Botany* **63**: 3843–3852.
- Malcolm P, Holford P, McGlasson B, Conroy J, Barchia I. 2007.** Growth and its partitioning in *Prunus* rootstocks in response to root zone temperature. *Scientia Horticulturae* **112**: 58–65.
- Marti E. 2006.** Genetic and physiological characterization of tomato cv. Micro-Tom. *Journal of Experimental Botany* **57**: 2037–2047.
- Matsui T, Omasa K, Horie T. 2001.** The difference in sterility due to high temperatures during the flowering period among Japonica-rice varieties. *Plant Production Science* **4**: 90–93.
- May P. 2000.** From bud to berry, with special reference to inflorescence and bunch morphology in *Vitis vinifera* L. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **6**: 82–98.
- McCarthy MG. 1999.** Weight loss from ripening berries of Shiraz grapevines (*Vitis vinifera* L. cv. Shiraz). *Australian Journal of Grape and Wine Research* **5**: 10–16.
- McDowell NG. 2011.** Mechanisms Linking Drought, Hydraulics, Carbon Metabolism, and Vegetation Mortality. *Plant Physiology* **155**: 1051–1059.
- Meneghetti S, Gardiman M, Calo A. 2006.** Flower biology of grapevine. A review. **20**: 317–325.
- De Micco V, Paradiso R, Aronne G, De Pascale S, Quarto M, Arena C. 2014.** Leaf Anatomy and Photochemical Behaviour of *Solanum lycopersicum* L. Plants from Seeds Irradiated with Low-LET Ionising Radiation. *The Scientific World Journal* **2014**: 1–13.
- Miller AM, Iersel MW van, Armitage AM. 2001.** Whole-plant Carbon Dioxide Exchange Responses of *Angelonia angustifolia* to Temperature and Irradiance. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **126**: 606–610.
- Mira de Orduña R. 2010.** Climate change associated effects on grape and wine quality and production. *Food Research International* **43**: 1844–1855.

- Morandi B, Grappadelli LC, Rieger M, Lo Bianco R. 2008.** Carbohydrate availability affects growth and metabolism in peach fruit. *Physiologia Plantarum* **133**: 229–241.
- Mori K, Goto-Yamamoto N, Kitayama M, Hashizume K. 2007.** Loss of anthocyanins in red-wine grape under high temperature. *Journal of Experimental Botany* **58**: 1935–1945.
- Moriondo M, Jones GV, Bois B, Dibari C, Ferrise R, Trombi G, Bindi M. 2013.** Projected shifts of wine regions in response to climate change. *Climatic Change* **119**: 825–839.
- Mori K, Sugaya S, Gemma H. 2005.** Decreased anthocyanin biosynthesis in grape berries grown under elevated night temperature condition. *Scientia Horticulturae* **105**: 319–330.
- Nagai T, Makino A. 2009.** Differences Between Rice and Wheat in Temperature Responses of Photosynthesis and Plant Growth. *Plant and Cell Physiology* **50**: 744–755.
- Niinemets Ü, Oja V, Kull O. 1999.** Shape of leaf photosynthetic electron transport versus temperature response curve is not constant along canopy light gradients in temperate deciduous trees. *Plant, Cell & Environment* **22**: 1497–1513.
- Ow LF, Whitehead D, Walcroft AS, Turnbull MH. 2008.** Thermal acclimation of respiration but not photosynthesis in *Pinus radiata*. *Functional Plant Biology* **35**: 448.
- Palacio S, Hoch G, Sala A, Körner C, Millard P. 2014.** Does carbon storage limit tree growth? *New Phytologist* **201**: 1096–1100.
- Pallas B, Christophe A, Cournède P-H, Lecoeur J. 2009.** Using a mathematical model to evaluate the trophic and non-trophic determinants of axis development in grapevine. *Functional Plant Biology* **36**: 156.
- Parent B, Turc O, Gibon Y, Stitt M, Tardieu F. 2010.** Modelling temperature-compensated physiological rates, based on the co-ordination of responses to temperature of developmental processes. *Journal of Experimental Botany* **61**: 2057–2069.
- Parry ML. 2007.** *Climate Change 2007: Impacts, Adaptation and Vulnerability : Contribution of Working Group II to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press.
- Peng S, Huang J, Sheehy JE, Laza RC, Visperas RM, Zhong X, Centeno GS, Khush GS, Cassman KG. 2004.** Rice yields decline with higher night temperature from global warming. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **101**: 9971–9975.
- Peraudeau S, Roques S, O. Quiñones C, Fabre D, Van Rie J, Ouwerkerk PBF, Jagadish KSV, Dingkuhn M, Lafarge T. 2015.** Increase in night temperature in rice enhances respiration rate without significant impact on biomass accumulation. *Field Crops Research* **171**: 67–78.
- Petrie PR, Clingeleffer PR. 2006.** Crop thinning (hand versus mechanical), grape maturity and anthocyanin concentration: outcomes from irrigated Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L.) in a warm climate. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **12**: 21–29.
- Poni S, Gatti M, Bernizzoni F, Civardi S, Bobeica N, Magnanini E, Palliotti A. 2013.** Late leaf removal aimed at delaying ripening in cv. Sangiovese: physiological assessment and vine performance: Late defoliation and ripening. *Australian Journal of Grape and Wine Research*: 378–387.
- Poorter H, Niinemets Ü, Poorter L, Wright IJ, Villar R. 2009.** Causes and consequences of variation in leaf mass per area (LMA): a meta-analysis. *New Phytologist* **182**: 565–588.

- Poorter H, Niklas KJ, Reich PB, Oleksyn J, Poot P, Mommer L. 2012.** Biomass allocation to leaves, stems and roots: meta-analyses of interspecific variation and environmental control: Tansley review. *New Phytologist* **193**: 30–50.
- Poudel PR, Mochioka R, Beppu K, Kataoka I. 2009.** Influence of Temperature on Berry Composition of Interspecific Hybrid Wine Grape 'Kadainou R-1' (Vitis ficifolia var. ganebu x V. vinifera 'Muscat of Alexandria'). *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* **78**: 169–174.
- Pouget R. 1981.** Action de la température sur la différenciation des inflorescences et des fleurs durant les phases de prédébourrement et de post-débourrement des bourgeons latents de la vigne. *connaissance Vigne Vin* **15**: 65–79.
- Prasad PVV, Boote KJ, Allen LH, Sheehy JE, Thomas JMG. 2006.** Species, ecotype and cultivar differences in spikelet fertility and harvest index of rice in response to high temperature stress. *Field Crops Research* **95**: 398–411.
- Prasad PVV, Boote KJ, Allen L, Thomas JMG. 2002.** Effects of elevated temperature and carbon dioxide on seed-set and yield of kidney bean (Phaseolus vulgaris L.). *Global Change Biology* **8**: 710–721.
- Prasad PVV, Pisipati SR, Mutava RN, Tuinstra MR. 2008.** Sensitivity of Grain Sorghum to High Temperature Stress during Reproductive Development. *Crop Science* **48**: 1911.
- Prieto JA. 2011.** Simulation of photosynthesis and transpiration within grapevine (Vitis vinifera L.) Canopies based on a 3D architectural model. Application to training system evaluation.
- Pyl E-T, Piques M, Ivakov A, Schulze W, Ishihara H, Stitt M, Sulpice R. 2012.** Metabolism and Growth in Arabidopsis Depend on the Daytime Temperature but Are Temperature-Compensated against Cool Nights[W][OA]. *The Plant Cell* **24**: 2443–2469.
- Rajan AK, Betteridge B, Blackman GE. 1973.** Differences in the interacting effects of light and temperature on growth of four species in the vegetative phase. *Annals of Botany* **37**: 287–316.
- Rattalino Edreira JI, Budakli Carpici E, Sammarro D, Otegui ME. 2011.** Heat stress effects around flowering on kernel set of temperate and tropical maize hybrids. *Field Crops Research* **123**: 62–73.
- Rienth M, Dauzat M, Pellegrino A, Lopez G, Torregrosa L, Romieu C. 2012.** First observations of the microvine development under 100% LED (light emitting diodes) illumination. *Vitis* **51**: 167–173.
- Rienth M, Luchaire N, Chatbanyong R, Ageorges A, Kelly MT, Brillouet J-M, Muller B, Pellegrino A, Torregrosa L, Romieu C. 2013.** The microvine provides new perspectives for research on berry physiology. *Proc. GiESCO 2013, Portugal Ciencia e Tecnica Vitivinicola*. 412–417.
- Rienth M, Torregrosa L, Kelly MT, Luchaire N, Pellegrino A, Grimplet J, Romieu C. 2014.** Is transcriptomic regulation of berry development more important at night than during the day? *PLoS ONE* **9**: e88844.
- Rienth M, Torregrosa L, Luchaire N, Chatbanyong R, Lecourieux D, Kelly MT, Romieu C. 2014.** Day and night heat stress trigger different transcriptomic responses in green and ripening grapevine (vitis vinifera) fruit. *Bmc Plant Biology* **14**.
- Ristic R, Iland P. 2005.** Relationships between seed and berry development of Vitis Vinifera L. cv Shiraz: Developmental changes in seed morphology and phenolic composition. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **11**: 43–58.

Robert-Seilanianantz A, Grant M, Jones JDG. 2011. Hormone Crosstalk in Plant Disease and Defense: More Than Just JASMONATE-SALICYLATE Antagonism. *Annual Review of Phytopathology* **49**: 317–343.

Rogiers SY, Clarke SJ, Schmidtke LM. 2014. Elevated root-zone temperature hastens vegetative and reproductive development in Shiraz grapevines: Root-zone temperature and grapevine development. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **20**: 123–133.

Rogiers SY, Hardie WJ, Smith JP. 2011. Stomatal density of grapevine leaves (*Vitis vinifera* L.) responds to soil temperature and atmospheric carbon dioxide: Environmental influences on stomatal density. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **17**: 147–152.

Rogiers SY, Smith JP, Holzapfel BP, Hardie WJ. 2011. Soil temperature moderates grapevine carbohydrate reserves after bud break and conditions fruit set responses to photoassimilatory stress. *Functional Plant Biology* **38**: 899.

Le Roux X, Lacointe A, Escobar-Gutierrez A, Le Dizes S. 2001. Carbon-based models of individual tree growth: A critical appraisal. *Annals of Forest Science* **58**: 469–506.

Ruan Y-L, Jin Y, Yang Y, Li G, Boyer J. 2010. Sugar input, metabolism, and signaling mediated by invertase: roles in development, yield potential, and response to drought and heat. *Molecular Plant* **3**: 942–955.

Ruan Y-L, Patrick JW, Bouzayen M, Osorio S, Fernie AR. 2012. Molecular regulation of seed and fruit set. *Trends in Plant Science* **17**: 656–665.

Sadras VO, Montoro A, Moran MA, Aphalo PJ. 2012. Elevated temperature altered the reaction norms of stomatal conductance in field-grown grapevine. *Agricultural and Forest Meteorology* **165**: 35–42.

Sadras VO, Moran MA. 2013. Asymmetric warming effect on the yield and source:sink ratio of field-grown grapevine. *Agricultural and Forest Meteorology* **173**: 116–126.

Sadras VO, Petrie PR. 2011. Climate shifts in south-eastern Australia: early maturity of Chardonnay, Shiraz and Cabernet Sauvignon is associated with early onset rather than faster ripening. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **17**: 199–205.

Sage RF, Kubien DS. 2007. The temperature response of C3 and C4 photosynthesis. *Plant, Cell & Environment* **30**: 1086–1106.

Salazar-Parra C, Aranjuelo I, Pascual I, Erice G, Sanz-Sáez Á, Aguirreolea J, Sánchez-Díaz M, Irigoyen JJ, Araus JL, Morales F. 2015. Carbon balance, partitioning and photosynthetic acclimation in fruit-bearing grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Tempranillo) grown under simulated climate change (elevated CO₂, elevated temperature and moderate drought) scenarios in temperature gradient greenhouses. *Journal of Plant Physiology* **174**: 97–109.

Schultz H. 2000. Climate change and viticulture: A European perspective on climatology, carbon dioxide and UV-B effects. *Australian Journal of grape and wine research* **6**: 2–12.

Schwechheimer C. 2008. Understanding gibberellic acid signaling—are we there yet? *Current Opinion in Plant Biology* **11**: 9–15.

Serrani JC, Fos M, Atarés A, García-Martínez JL. 2007. Effect of Gibberellin and Auxin on Parthenocarpic Fruit Growth Induction in the cv Micro-Tom of Tomato. *Journal of Plant Growth Regulation* **26**: 211–221.

- Serrani JC, Ruiz-Rivero O, Fos M, García-Martínez JL. 2008.** Auxin-induced fruit-set in tomato is mediated in part by gibberellins. *The Plant Journal* **56**: 922–934.
- Shavrukov YN, Dry IB, Thomas MR. 2004.** Inflorescence and bunch architecture development in *Vitis vinifera* L. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **10**: 116–124.
- Shen H, Klein JA, Zhao X, Tang Y. 2009.** Leaf photosynthesis and simulated carbon budget of *Gentiana straminea* from a decade-long warming experiment. *Journal of Plant Ecology* **2**: 207–216.
- Silim SN, Ryan N, Kubien DS. 2010.** Temperature responses of photosynthesis and respiration in *Populus balsamifera* L.: acclimation versus adaptation. *Photosynthesis research* **104**: 19–30.
- Smart DR. 2004.** Exposure to elevated carbon dioxide concentration in the dark lowers the respiration quotient of *Vitis* cane wood. *Tree Physiology* **24**: 115–120.
- Smith AM, Stitt M. 2007.** Coordination of carbon supply and plant growth. *Plant, Cell & Environment* **30**: 1126–1149.
- Soar CJ, Collins MJ, Sadras VO. 2009.** Irrigated Shiraz vines (*Vitis vinifera*) upregulate gas exchange and maintain berry growth in response to short spells of high maximum temperature in the field. *Functional Plant Biology* **36**: 801–814.
- Srinivasan C, Mullins MG. 1980.** Flowering in *Vitis*: effects of genotype on cytokinin-induced conversion of tendrils into inflorescences. *Vitis* **19**: 293–300.
- Srinivasan C, Mullins MG. 1981.** Physiology of flowering in the grapevine—a review. *American Journal of Enology and Viticulture* **32**: 47–63.
- Staudt, G. 1982.** Pollen germination and pollen tube growth in vivo with *Vitis* and the dependence on temperature. *Vitis* **21**: 205–216.
- Tahir ISA, Nakata N. 2005.** Remobilization of nitrogen and carbohydrate from stems of bread wheat in response to heat stress during grain filling. *Journal of Agronomy and Crop Science* **191**: 106–115.
- Tahir ISA, Nakata N, Yamaguchi T, Nakano J, Ali AM. 2008.** Influence of High Shoot and Root-Zone Temperatures on Growth of Three Wheat Genotypes during Early Vegetative Stages. *Journal of Agronomy and Crop Science* **194**: 141–151.
- Talts P, Tiit P, Per G, Olav K. 2004.** Respiratory acclimation in *Arabidopsis thaliana* leaves at low temperature. *J Plant Physiol* **161**: 573–579.
- Talukder ASMHM, McDonald GK, Gill GS. 2014.** Effect of short-term heat stress prior to flowering and early grain set on the grain yield of wheat. *Field Crops Research* **160**: 54–63.
- Tashiro T, Wardlaw IF. 1989.** A Comparison of the Effect of High Temperature on Grain Development in Wheat and Rice. *Annals of Botany* **64**: 59–65.
- Tjoelker M, Oleksyn J, Reich PB, others. 1999.** Acclimation of respiration to temperature and CO₂ in seedlings of boreal tree species in relation to plant size and relative growth rate. *Global Change Biology* **5**: 679–691.
- Tjoelker MG, Oleksyn J, Reich PB, Żytkowiak R. 2008.** Coupling of respiration, nitrogen, and sugars underlies convergent temperature acclimation in *Pinus banksiana* across wide-ranging sites and populations: RESPIRATORY ACCLIMATION IN *PINUS BANKSIANA*. *Global Change Biology* **14**: 782–797.

Triboi E. 2003. Environmentally-induced changes in protein composition in developing grains of wheat are related to changes in total protein content. *Journal of Experimental Botany* **54**: 1731–1742.

Trought M. 2005. Fruitset - possible implication on wine quality. *ASVO Seminar*: 27–31.

Ueguchi-Tanaka M, Nakajima M, Motoyuki A, Matsuoka M. 2007. Gibberellin receptor and its role in gibberellin signaling in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* **58**: 183–198.

Vasconcelos MC, Greven M, Winefield CS, Trought MC, Raw V. 2009. The flowering process of *Vitis vinifera*: a review. *American Journal of Enology and Viticulture* **60**: 411–434.

Vasseur F, Pantin F, Vile D. 2011. Changes in light intensity reveal a major role for carbon balance in *Arabidopsis* responses to high temperature RID A-5637-2008. *Plant Cell and Environment* **34**: 1563–1576.

Vercambre G, Baldazzi valentina, Bertin N, Gautier H, Genard M. 2013. Ecophysiological Process-based model to simulate carbon fluxes in plant. 347–361.

Vile D, Pervent M, Belluau M, Vasseur F, Bresson J, Muller B, Granier C, Simonneau T. 2012. *Arabidopsis* growth under prolonged high temperature and water deficit: independent or interactive effects?: Plant responses to high temperature and water deficit. *Plant, Cell & Environment* **35**: 702–718.

Warren CR. 2008. Does growth temperature affect the temperature responses of photosynthesis and internal conductance to CO₂? A test with *Eucalyptus regnans*. *Tree physiology* **28**: 11–19.

Warren CR, Dreyer E. 2006. Temperature response of photosynthesis and internal conductance to CO₂: results from two independent approaches. *Journal of Experimental Botany* **57**: 3057–3067.

Watt AM, Dunn GM, May PB, Crawford SA, Barlow EWR. 2008. Development of inflorescence primordia in *Vitis vinifera* L. cv. Chardonnay from hot and cool climates. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **14**: 46–53.

Way DA, Sage RF. 2008. Thermal acclimation of photosynthesis in black spruce [*Picea mariana* (Mill.) B.S.P.]. *Plant, Cell & Environment* **31**: 1250–1262.

Way DA, Yamori W. 2014. Thermal acclimation of photosynthesis: on the importance of adjusting our definitions and accounting for thermal acclimation of respiration. *Photosynthesis Research* **119**: 89–100.

Webb LB, Watterson I, Bhend J, Whetton PH, Barlow EWR. 2013. Global climate analogues for winegrowing regions in future periods: projections of temperature and precipitation. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **19**: 331–341.

Wheeler T, Craufurd PQ, Ellis RH, Porter JR, Prasad P. 2000. temperature variability and the yield of annual crops. *Agriculture, Ecosystems & Environment* **82**: 159–167.

White MA, Diffenbaugh NS, Jones GV, Pal JS, Giorgi F. 2006. Extreme heat reduces and shifts United States premium wine production in the 21st century. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **103**: 11217–11222.

Will R. 2000. Effect of different daytime and night-time temperature regimes on the foliar respiration of *Pinus taeda*: predicting the effect of variable temperature on acclimation. *Journal of Experimental Botany* **51**: 1733–1739.

- Wu J, Kong X, Wan J, Liu X, Zhang X, Guo X, Zhou R, Zhao G, Jing R, Fu X, Jia J. 2011.** Dominant and Pleiotropic Effects of a GAI Gene in Wheat Results from a Lack of Interaction between DELLA and GID1. *PLANT PHYSIOLOGY* **157**: 2120–2130.
- Würth MKR, Peláez-Riedl S, Wright SJ, Körner C. 2005.** Non-structural carbohydrate pools in a tropical forest. *Oecologia* **143**: 11–24.
- Yamaguchi S. 2008.** Gibberellin metabolism and its regulation. *Annu. Rev. Plant Biol.* **59**: 225–251.
- Yamane T, Jeong S, Goto-Yamamoto N, Koshita Y, Kobayashi S. 2006.** Effects of temperature on anthocyanin biosynthesis in grape berry skins. *American Journal of Enology and Viticulture* **57**: 54–59.
- Yamori W, Nagai T, Makino A. 2011.** The rate-limiting step for CO₂ assimilation at different temperatures is influenced by the leaf nitrogen content in several C(3) crop species. *Plant, cell & environment* **34**: 764–777.
- Yamori W, Noguchi K, Hikosaka K, Terashima I. 2010.** Phenotypic Plasticity in Photosynthetic Temperature Acclimation among Crop Species with Different Cold Tolerances. *PLANT PHYSIOLOGY* **152**: 388–399.
- Yaxley JR, Ross JJ, Sherriff LJ, Reid JB. 2001.** Gibberellin biosynthesis mutations and root development in pea. *Plant physiology* **125**: 627–633.
- Zhang C, Sun J-L, Jia Y-H, Wang J, Xu Z-J, Du X-M. 2011.** Morphological characters, inheritance and response to exogenous hormones of a cotton super-dwarf mutant of *Gossypium hirsutum*: Morphology and inheritance of a cotton super-dwarf mutant. *Plant Breeding* **130**: 67–72.
- Zhao D, Reddy KR, Kakani VG, Koti S, Gao W. 2005.** Physiological causes of cotton fruit abscission under conditions of high temperature and enhanced ultraviolet-B radiation. *Physiologia Plantarum* **124**: 189–199.
- Zhao J, Hartmann H, Trumbore S, Ziegler W, Zhang Y. 2013.** High temperature causes negative whole-plant carbon balance under mild drought. *New Phytologist* **200**: 330–339.
- Zsófi Z, Váradi G, Bálo B, Marschall M, Nagy Z, Dulai S. 2009.** Heat acclimation of grapevine leaf photosynthesis: mezo- and macroclimatic aspects. *Functional Plant Biology* **36**: 310.
- Zufferey V, Murisier F, Schultz HR, others. 2000.** A model analysis of the photosynthetic response of *Vitis vinifera* L. cvs Riesling and Chasselas leaves in the field: I. Interaction of age, light and temperature. *Vitis* **39**: 19–26.

Chapter 1: Microvine, a new model for exploring grapevine response to climate warming

**Microvine, a new model for exploring grapevine response to
climate warming**

**Luchaire N^{1,3}, Rienth M^{3,+}, Romieu C⁴, Nehe A¹, Chatbanyong R³, Houel C³, Ageorges
A⁵, Gibon Y⁶, Turc O², Muller B², Torregrosa L³, Pellegrino A^{1,*}**

¹ *Montpellier SupAgro, UMR LEPSE - Laboratoire d'Ecophysiologie des Plantes sous Stress
Environnementaux, 34060 Montpellier, France*

² *INRA, UMR LEPSE - Laboratoire d'Ecophysiologie des Plantes sous Stress Environnementaux,
34060 Montpellier, France*

³ *Montpellier SupAgro, UMR AGAP - Amélioration et Génétique de l'Adaptation des Plantes,
34060 Montpellier, France*

⁴ *INRA, UMR AGAP - Amélioration et Génétique de l'Adaptation des Plantes, 34060 Montpellier,
France*

⁵ *INRA, UMR Sciences pour l'Œnologie, 34060 Montpellier, France*

⁶ *INRA Bordeaux Aquitaine - Univ. Bordeaux, UMR1332 Biologie du Fruit et Pathologie, Bordeaux
Metabolome Platform, 33883 Villenave D'Ornon, France*

**Corresponding author: A. Pellegrino, 33 (0)4 99 61 31 82, Fax: 33 (0)4 67 52 21 16, Email:
anne.pellegrino@supagro.fr*

Submission date: 17/04/2015

Number of tables: 2

Number of figure: 6

Number of words: 9 714

Footnotes :

⁺ Present address : *CHANGINS, Haute école de viticulture et oenologie, route de duillier 50, 1260
Nyon, Suisse*

RUNNING TITLE : *Microvine*, a new model for grapevine

ABSTRACT

Background and Aims: Wine-growing regions worldwide exposition to ongoing climate change prompts the need for better understanding grapevine developmental and physiological responses to temperature. However, the fluctuation of climatic variables over the two years-period of reproductive development under vineyard conditions makes this challenging. *Microvine*, a natural gibberellic acid insensitive mutant of grapevine, may facilitate short-term experiments under controlled environments, thanks to its dwarf stature and the presence of the full sequence of reproductive development along the stem.

Methods: Seven experiments were carried out on Potted plants of *Microvine*, five in control conditions in greenhouse and two in contrasted temperature conditions in growth chambers. Organ growth was monitored and organ size, weight, starch and soluble sugars content was determined at harvest.

Key Results: The present work questioned the suitability of using *Microvine* for grapevine studies under abiotic stress. The individual growth patterns of leaf, internode and berry were insensitive to phytomer positions. They were also spatially robust along the main axis among contrasted phenological stages or experiments. The rate of phytomer emergence (phyllochron) was used as a mean to infer temporal patterns from a single spatial pattern. The resulting temporal dynamics were close to the measured temporal dynamics. Moreover, changes of berry size and concentrations of sugar, potassium and organic acids along the main axis were consistent with the typical temporal dynamics reported for grapevine. When a +8°C day and night temperature was imposed, biomass and volumetric growths were highly uncoupled in different vegetative and reproductive organs, and carbohydrate massively accumulated under the lowest temperature regime.

Conclusions: We raise the conclusions that (i) temperature elevation disturbs the balance between grapevine growth and carbohydrates storage with likely impairments in fruit quality and (ii) *Microvine* appears as a promising plant model to address the impact of climate warming on grapevine development.

KEYWORDS

Microvine, Climate change, Elevated temperature, Leaf and Berry developments, Carbohydrates, Spatial patterns.

I. INTRODUCTION

Air temperature increased by 0.5°C during the past 50 years, and it is expected to rise further by 1 to 3 °C over the next 50 years (Parry 2007). Elevated temperatures are suspected to be responsible for high yield reduction both in annual (Peng *et al.*, 2004; Madan *et al.*, 2012) and perennial crops, including grapevine (Atkinson *et al.*, 1998; Greer and Weston 2010; García-Inza *et al.*, 2014). In this context, crop sustainability is at stake and a decrease in crop production can already be observed and correlated to climate changes in some areas (Lobell and Field 2007). However, the succession of adaptive mechanisms at the whole plant level underlying yield and quality responses to elevated temperatures remains largely unknown.

Elevated temperatures trigger many developmental and physiological responses in plants. The growing cycle, and more specifically the reproductive period, are shortened under warm conditions (Kim *et al.*, 2011). Grapevine is no exception to these trends (Chaine *et al.*, 2004). For instance, the season duration between budburst and harvest is predicted to decrease by 4 to 35 days by 2050 in different Australian wine regions (Webb *et al.*, 2007). In addition, budburst is expected to shift up to 18 days earlier, thus exposing key stages such as flowering and pericarp development to unusual warmer and/or more stressful conditions (Webb *et al.*, 2007; Springate and Kover 2014). As the plant cycle gets shorter, under warm temperatures, cumulated light interception and thus biomass accumulation also decreases (Guilioni *et al.*, 2003; Peng *et al.*, 2004). Moreover, the photosynthesis rate diminishes beyond a temperature optimum (Zufferey *et al.*, 2000; Warren and Dreyer 2006; Greer and Weedon 2011; Yamori *et al.*, 2011), while respiration gradually increases when temperature rises (Jones, 1992). Carbon partitioning is ultimately suspected to be altered by elevated temperatures (Zhao *et al.*, 2013), with a notable reduction of carbohydrates allocation toward reproductive sinks, as observed in rice (Cheng *et al.*, 2010) and maize (Suwa *et al.*, 2010). Grapevine buds fruitfulness and thus yield sustainability was shown to highly rely on the carbohydrates reserves pool in perennial organs (Holzapfel *et al.*, 2010; Jones *et al.*, 2013). Elevated temperatures do not only decrease crop production but also negatively impact crop quality. Impairment of starch accumulation and protein composition were reported under warm temperatures in cereals (Tashiro and Wardlaw, 1989; Tribou 2003; Barnabás *et al.*, 2007). In grapevine, elevated temperatures tend to decrease berry acidity (Buttrose *et al.*, 1971; Barnaud *et al.*, 2014) and anthocyanin concentration (Yamane *et al.*, 2006). Warm temperatures advance the onset of berry sugar accumulation (Sadras *et al.*, 2012, Keller *et al.*, 2010), while heat stress (beyond 35°C) produces the opposite effect (Greer & Wetson, 2010).

Several factors hamper our capacity to decipher the interplay between grapevine vegetative growth, berry development and carbon balance, and how they may be impacted by elevated temperature. First, because of its large size and long juvenile stage, grapevine physiology is most often studied under

field conditions, where climatic factors erratically vary, within and between days, seasons and years (Soar *et al.*, 2009). Second, similarly to other perennial crops, grapevine reproductive development on the proleptic axis is spread over two consecutive seasons and it is thus not synchronized with the annual vegetative development (Carmona *et al.*, 2008). In addition, grapevine maximum carbohydrate pool, and its seasonal variations, highly depend on vineyard management practices including pruning, trellis systems, crop thinning or leaf removal (Petrie and Clingeleffer, 2006; Carbonneau, 2010; Holzapfel and Smith, 2012; Poni *et al.*, 2013). Fruiting cuttings grown in controlled conditions overcome, at least partly, these difficulties. But they highly differ from grapevine, regarding their strongly reduced carbohydrate reserve pool, particularly in relation with the development of an adventitious root system. As a result, fruits weights at maturity are on average generally lower compared with those of grapevine plants (Geny *et al.*, 1998). An innovative grapevine model, called *Microvine*, may be an alternative to fruiting cuttings to address the specific grapevine responses to climate warming. *Microvine* is a natural *gai* (gibberellic acid insensitive) mutant of *Vitis vinifera* obtained by somatic regeneration of the L1 cell layer of Pinot Meunier (Franks *et al.*, 2002; Boss and Thomas, 2002). Its dwarf stature allows experiments to be performed under fully controlled environments in small growth chambers (Rienth *et al.*, 2012). Moreover, *Microvine* reproductive development is continuous, displaying the whole sequence of reproductive development simultaneously on its proleptic and sylleptic axes (Rienth *et al.*, 2013). Due to its biological features, *Microvine* has been proposed as a model for genetics studies (Chaïb *et al.*, 2010), as it potentially boosts both reverse and forward genetics. It recently emerged as a relevant tool to study berry molecular responses to abiotic factors (Rienth, Torregrosa, Luchaire, *et al.*, 2014; Rienth, Torregrosa, Kelly, *et al.*, 2014). The synchronism of vegetative and reproductive developments simplifies studies on the interactions between both processes, since all combinations of leaf to fruit ratio at each phenological stage are testable. Moreover, experimental design is no longer imposed by seasonal patterns.

The present study aimed at evaluating the virtues of *Microvine* as a model for assessing grapevine responses to climate warming in controlled environment. We first compared vegetative and reproductive variables, between *Microvine* and grapevine. Then, the robustness of spatial patterns in reproductive and vegetative growths and developments along the axis was evaluated. Temporal leaf and berry growth patterns were inferred from their spatial distribution along the proleptic axis by using the phyllochron to convert the plastochron index into time. This approach was validated by comparing predicted and measured temporal data. The interplay between above-ground organs biomass growth, volumetric growth and carbohydrate storage under elevated temperature was ultimately addressed.

Table 1: Environmental conditions of the experiments

<i>Exp.</i>	Number of plants	Budburst date	Duration in days	Average maximal and minimal temperatures (°C)	Average PAR (mol.m ⁻² .d ⁻¹)	Average daily maximal and minimal VPD (kPa)
1	8	Nov 2010	58	22.28 12.68	19.0	1.77 1.08
2	8	Nov 2010	29	29.73 19.54	19.0	1.30 0.44
3	6	Nov 2010	175	23.39 16.82	18.6	1.96 1.34
4	6	Apr 2012	76	25.36 15.88	25.3	1.49 0.89
5	20	Nov 2012	66	24.01 15.16	19.9	1.42 0.62
6	20	Dec 2012	65	23.62 14.93	19.9	1.44 0.66
7	20	Jan 2013	78	24.86 15.00	23.88	1.36 0.61

II. MATERIALS AND METHODS

II.1. Plant material and growing conditions

Seven experiments (*Exp. 1* to 7) were performed at Montpellier SupAgro-INRA campus on two-year-old own-rooted potted *Microvines* (line ML1, similar production method and biological properties as the original L1 mutant described by Chaïb *et al.*, 2010). Pots (3L) were filled with loam. Plants were thinned to one main axis, and laterals were removed, as soon as they appeared. Drip irrigation was supplied to fit maximal evapotranspiration. *Exp. 1* and 2 (2011) were performed over a 1-month (*Exp. 2*) to 2-months (*Exp. 1*) period in growth chamber, after an initial phase of plant growth under greenhouse conditions (up to 55 unfolded leaves, see Table 1). All other experiments (*Exp. 3* in 2011; *Exp. 4* in 2012 and *Exp. 5, 6 and 7* in 2013) were performed in greenhouse during 2 to 6 months at different periods of the year (Table 1). Climatic variables were set in *Exp. 1* to reach temperatures of 22/12°C (day/night), a VPD of 1 kPa and a PAR of 19.0 mol.m⁻².d⁻¹ over a 14 hours photoperiod (Table 1). In *Exp. 2*, temperatures and VPD were set at 30/20°C (day/night) and 1 kPa, respectively. In *Exp. 3* to 7, temperatures and VPD were set at 25/15°C (day/night) and 1 kPa, respectively.

II.2. Temporal reproductive and vegetative variables measurements

The date of budburst (modified E.L. stage 4), as defined by (Coombe, 1995), was recorded for each plant in all experiments and was the time-origin of individual plant development. Several variables were non-destructively recorded twice a week in all plants, namely the number of unfolded leaves (*Exp. 1* to 7), the plastochron index of the most apical phytomer at flowering (50% of open flowers, modified E.L. stage 23) and *véraison* (onset of ripening, modified E.L. stage 35) (Coombe, 1995) stages (*Exp. 1* to 4), the diameter of at least 10 median berries, the leaf main vein and internode lengths at each phytomer position (or every 3 phytomers from axis base to apex) (*Exp. 3* and 4). Leaves were considered as unfolded, when the two foliar lobes separated by the main vein were in the same phyllotaxic plan.

II.3. Spatial reproductive and vegetative variables measurements

The same variables as described above, as well as berry number, were measured at each phytomer position at least once at the end of each experiment when 30 to 79 leaves were unfolded (*Exp. 1* to 7, Table 1). Six additional phenotyping were performed in *Exp. 3* at contrasted plant developmental stages (Table 2). In addition, berries, leaf disks and internodes were harvested and weighted at the end of *Exp. 1* and 2. They were then frozen in liquid nitrogen and stored at -80°C for further biochemical analyses.

Table 2: Variables measured during and at the end of the experiments.

<i>Exp.</i>	Total unfolded leaves numbers	Final measurement at harvest			Continuous measurement during <i>Exp.</i>		
		Phenology (flowering + véraison)	Leaf, internode, and berry sizes	Leaf, internode and berry sugar contents	Leaf emergence rate	Phenology (flowering + véraison)	Leaf and berry sizes
<i>1</i>	75	✓	✓	✓	✓	✓	
<i>2</i>	75	✓	✓	✓	✓	✓	
<i>3</i>	55, 58, 65, 69, 73, 79	✓	✓		✓	✓	✓
<i>4</i>	40	✓	✓		✓	✓	✓
<i>5</i>	35	✓	✓		✓		
<i>6</i>	30	✓	✓		✓		
<i>7</i>	35	✓	✓		✓		

II.4. Biochemical analyses

Frozen berries of *Exp.1* and 2 were ground in liquid nitrogen. The powder obtained was assayed for malic acid, tartaric acid, glucose and fructose concentrations using HPLC, as described by (Rienth, Torregrosa, Kelly, *et al.*, 2014). Frozen leaf disks and internodes of *Exp.1* and 2 were ground in liquid nitrogen. The powder obtained was assayed for glucose, fructose, sucrose and starch concentrations using enzymatic assays as described by (Gibon *et al.*, 2009). Total soluble sugars concentration was calculated as the sum of glucose, fructose and sucrose concentrations. Total soluble sugars and starch contents per organ were calculated from organ fresh weights. An aliquot of the powder was oven-dried for the determination of dry matter.

II.5. Calculations of leaf area, internode and berry volume, phyllochron and spatio-temporal conversion

The individual leaf area (LA; cm²) was calculated from leaf main vein length (LL; mm) using an allometric relationship parameterized for line ML1 (eq. 1):

$$LA = 0.0096 LL^2 + 0.1343 LL. \quad (\text{eq. 1})$$

Internode volume (IV, mm³) was calculated using internode length (IL, mm) and diameter (ID, mm), and considering internodes as cylinders (eq. 2).

$$IV = \pi \times \left(\frac{ID}{2}\right)^2 \times IL \quad (\text{eq. 2})$$

Berry volume (BV, mm³) was calculated using berry diameter (BD, mm), and considering berries as spheres (eq. 3).

$$BV = \frac{4}{3} \pi \times \left(\frac{BD}{2}\right)^3 \quad (\text{eq. 3})$$

Thermal time was calculated for each day *i* (DDi) from mean day and night temperatures (Tday and Tnight, respectively), photoperiod (14 hours) and a base temperature of 10°C (Winkler and Williams, 1939)

$$DDi = [(14 \times Tday(i) + 10 \times Tnight(i)) \div 24] - 10 \quad (\text{eq. 4})$$

Thermal time was cumulated from budburst (CDD). The change of the number of unfolded leaves (*Nul*) as a function of CDD was fitted using a simple linear regression:

$$Nul = LER \times CDD + b \quad (\text{eq. 5})$$

where LER is the leaf emergence rate. The thermal time between the emergence of two successive leaves (phyllochron) was calculated as the reverse of LER. Individual phyllochron for each

environmental condition (greenhouse or growth chamber) and for each experiment were calculated as follows:

$$\text{Phyllochron } (^{\circ}\text{C d}) = \frac{1}{\text{LER}} \quad (\text{eq. 6})$$

The time of phytomer emergence (i.e. when its leaf was unfolded) was calculated for each phytomer #N with eq. 5 as the time (CDD_{PN}) when the number of unfolded leaves (Nul) equaled N. At a given date t , the age of phytomer N from its emergence was the time elapsed between CDD_{PN} and t .

For each plant at any time, the plastochron index (PI) of phytomer N was defined as:

$$PI = Nul - N + 1 \quad (\text{eq. 7})$$

The age of each phytomer since its emergence was calculated as the product of PI by the phyllochron. In *Exp. 1* and *2*, during which plants were transferred in a growth chamber, we distinguished phytomers emerging before transfer from those emerging after, and applied the corresponding values of phyllochron to calculate phytomer age. Age in thermal time was converted into calendar time by reversing eq. 4.

II.5. Statistical analysis

Linear and non-linear models were fitted with the conventional least squares method, using R (R2.13.2, Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

Leaf area and biomass, internodes length, biomass and volume, berry biomass and volume as a function of plastochron index (PI) or CDD were adjusted using the model of eq. 8.

$$y = \text{Asymp} / [1 + \exp((x_{mid} - x) / \text{Scal})] \quad (\text{eq. 8})$$

where Asymp is the maximum value of the logistic curve, x_{mid} is the x value when $y = \text{Asymp}/2$ and Scal represents the curvature of the sigmoid curve.

Biomass and volume fluxes as a function of CDD were calculated using the derivative of equation 8 (eq. 9):

$$dy = \text{Asymp} \times \left(\exp\left(\frac{x_{mid}-x}{\text{scal}}\right) \times \left(\frac{1}{\text{scal}}\right) \right) / \left(1 + \exp\left(\frac{x_{mid}-x}{\text{scal}}\right) \right)^2 \quad (\text{eq. 9})$$

Specific leaf weight, internodes and berry density were calculated as the ratio between organ dry weight and organ area or volume.

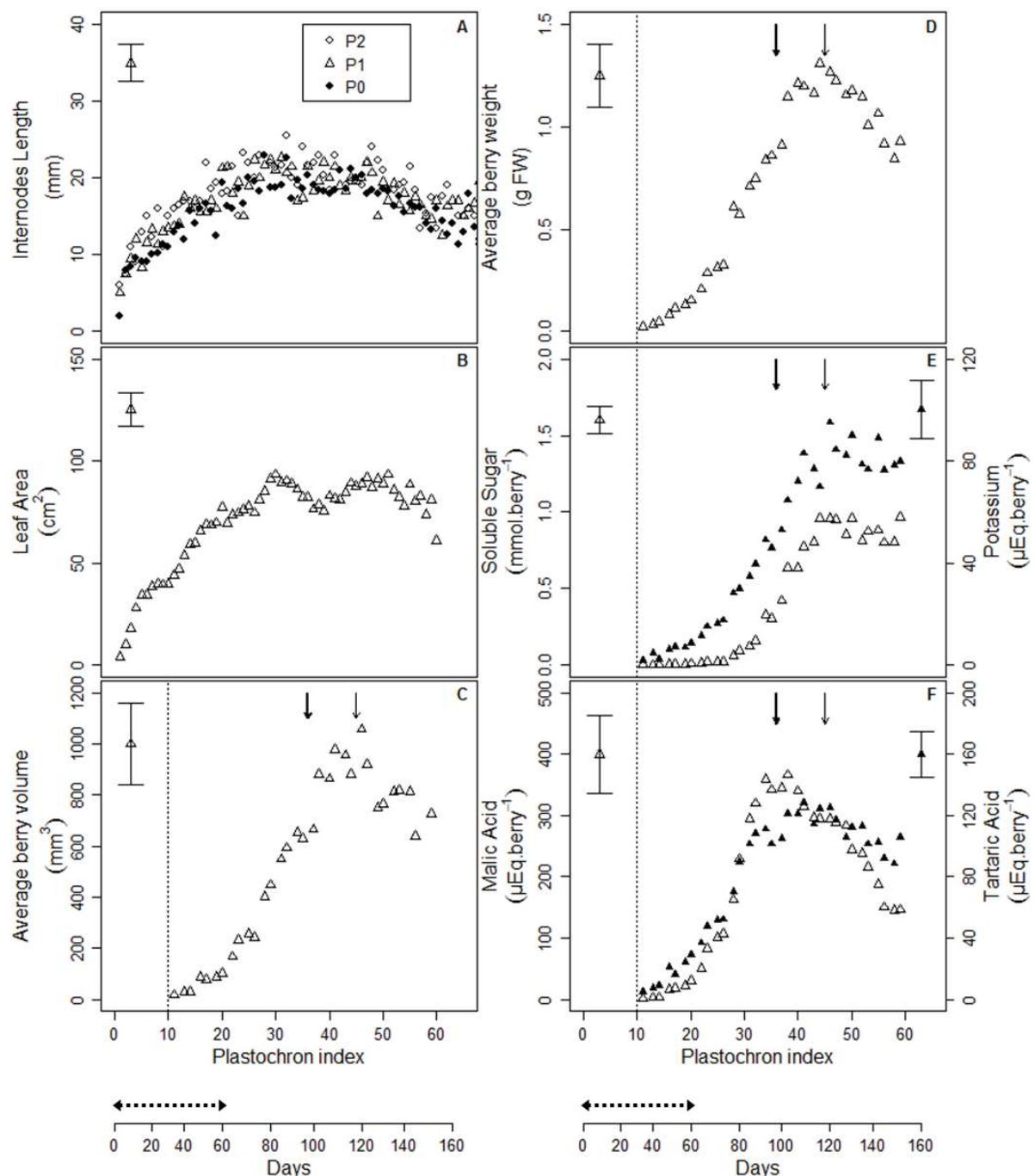


Figure 1: Spatial changes along the main axis of *Microvine* internode length for P0-, P1- or P2-type phytomers (A), leaf area (B), average berry volume (C), berry fresh weight (D), total soluble sugar (open symbols) and potassium content (closed symbols) (E), malic acid (open symbols) and tartaric acid content (closed symbols) (F) at the end of *Exp. 1*. The plastochron indexes (PI) on the main axis were converted into days (see methods). Each point is the average of 10 plants and 10 berries per cluster. Dotted vertical lines represent flowering stage (50% of open flowers). Arrows represent the onset of ripening (5% of berries coloured, bold) and maturity (non-bold). Horizontal dotted arrow represent the duration of *Exp. 1* in growth chambers. Bars indicate average standard deviations.

Shapiro-Wilk normal distribution tests, with subsequent standard two-sided student-t or Wilcoxon signed-rank tests, were performed for means comparison. Fitting lines were compared using Fisher's least significant difference (LSD).

III. RESULTS

III.1. *Microvine spatial patterns mimic grapevine dynamic patterns for vegetative and reproductive developments and berry metabolite accumulation*

The spatial patterns of vegetative and reproductive developments along the main axis of *Microvine* at the end of *Exp. 1* are illustrated in Fig. 1. The different variables were measured once at each phytomer position, and the phytomer rank was numbered from apex *i.e.* the plastochron index (PI). These spatial patterns resemble dynamic patterns and may constitute a proxy of the temporal changes of the considered variable at any phytomer by deducing phytomer age (x-axis in days in Fig. 1) from PI and phyllochron (see methods). Internode length and leaf area increased from PI 1 to PI 20, then reached a plateau. Maximum internode length and leaf area were 20 mm and 90 cm², respectively (Fig. 1A and 1B), *i.e.* largely smaller than observed in grapevine, for example 100 mm and 150 cm² in Grenache N. (Lebon *et al.*, 2004). Internodes lengths and inflorescence morphogenesis displayed the classical ternary rhythmicity, with phytomers without inflorescence (P0) being shorter than the ones bearing an inflorescence (P1 and P2, Fig. 1 A).

Flowering and fruiting were continuous along the *Microvine* axis (Fig. 1C to 1F) and their spatial patterns showed little variation among the plants despite the large variability of the number of flowers or berries per phytomer which ranged from 10 to 48 (data not shown). Berry development displayed the two typical growth periods characterized by (1) the accumulation of tartaric and malic acids as major osmoticums during green growth stage, and (2) the accumulation of sugars while malate is degraded and tartrate is kept roughly constant in quantity per fruit unit (Fig 1 D, E, F) during ripening. The volume of green berries increased sharply from PI 10 to PI 30, and more slowly afterward (lag phase), until it reached the 5% *véraison* stage at PI 36 (Fig. 1C). Ripening started at PI 36, when 5% of berries turned red (*véraison* stage), and fruit growth ceased simultaneously with K⁺ loading at PI 45 (Fig. 1 D, E). Berry slightly resumed growth during the ripening phase from PI 36 to PI 45. During this stage, berry weight doubled to reach the same weight in ML1 than in Pinot meunier cv. from which it derives (not shown). The ripening period was followed by a reduction of berry volume at constant K⁺ and sugars (Fig. 1 C, E), probably due to berry shriveling. Phloem and xylem unloading was thus definitively stopped at PI 45 (physiologically ripe berries). Berries at PI 45, thus before the over-ripening period (PI 45 to 60), contained on average 0.8 mol.kg⁻¹ FW of soluble sugars, 90 µEq.berry⁻¹ of potassium, 240 µEq.berry⁻¹ of malic acid and 110 µEq.berry⁻¹ of tartaric acid (Fig. 1 E, F). Berry weight (Fig. 1 D) displayed a similar growth shape compared with berry volume. When berries reached maturity (PI 45), their fresh weigh and volume were 1.2 g and 800 mm³, respectively.

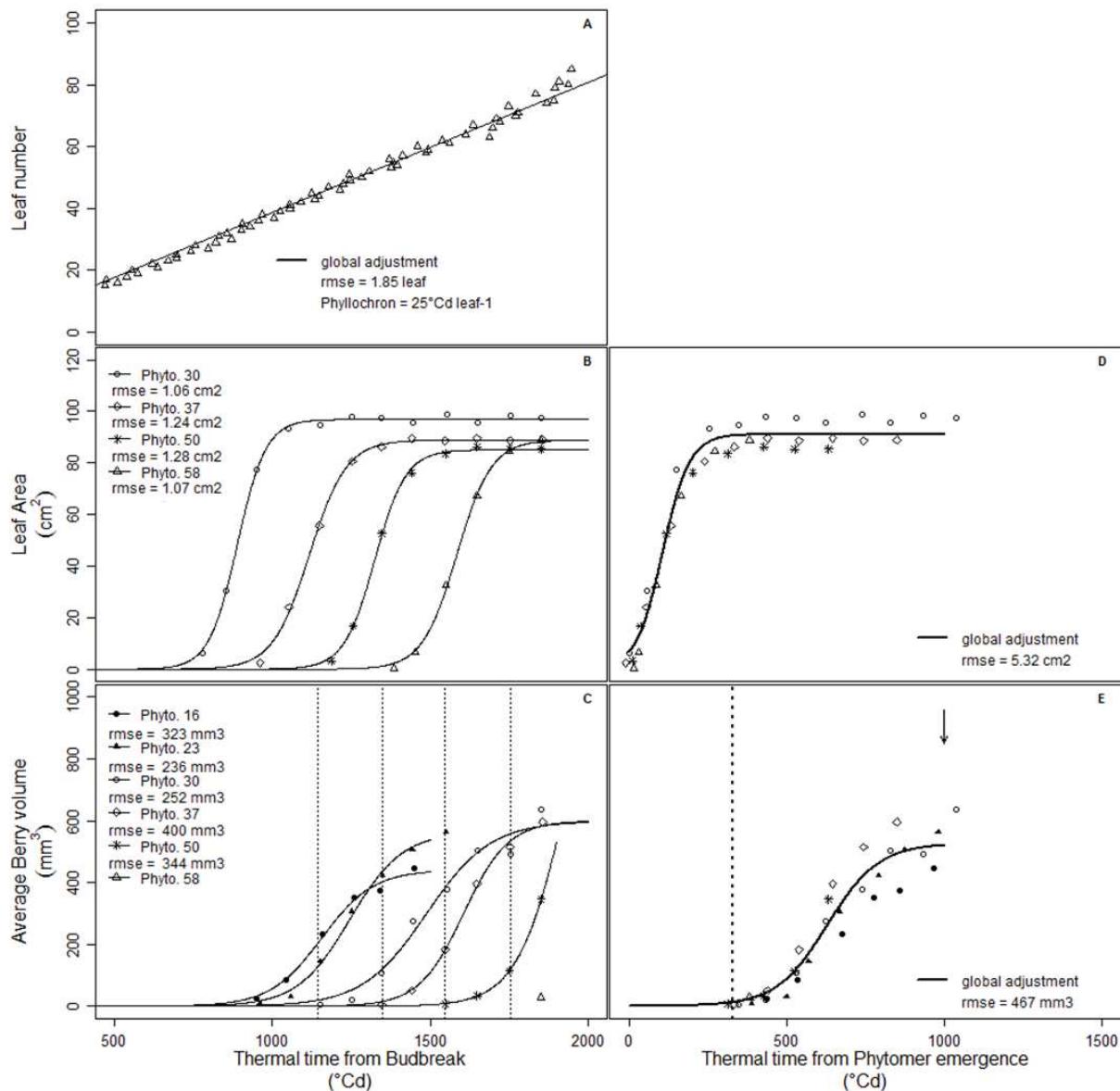


Figure 2: *Microvine* unfolded leaf number as a function of thermal time after bud break (A) and temporal changes for different phytomer positions of leaf area or berry volume (first growth phase) as a function of thermal time after bud break (B and C, respectively) or thermal time after phytomer emergence (D and E, respectively) for *Exp. 3*. Dotted lines represent flowering stage (50% of open flowers). Each point is the average of 3 to 6 leaves or 10 berries from 3 to 6 clusters. Arrow represents the onset of ripening (5% of berries coloured).

Temporal developmental patterns (in days), were inferred from the plastochron index, using the phyllochron (period of emergence of a specified phytomer), as shown in Fig. 1. Inferring phytomer age from PI indicated that the *véraison* occurred 50 days after flowering, potassium accumulated over an 80-days period after flowering, while sugars accumulated during 40 days after the onset of ripening. These temporal patterns are similar to those generally reported in grapevine when grown under similar temperature ranges (Mullins *et al.*, 1992).

III.2. *The temporal changes in berry and leaf sizes were conserved among phytomers*

We aimed at examining if the temporal patterns inferred from the spatial patterns were conserved or not along the microvine proleptic axis. *Exp. 3* was dedicated to this question. The number of unfolded leaves increased linearly with thermal time (Fig. 2A), allowing the calculation of the date of emergence at each phytomer position. *Microvine* leaf appearance rate was remarkably constant over the 1500°Cd period (*i.e.* 75 days at 25/15°C Day/Night temperatures). The phyllochron was 25°Cd leaf⁻¹, similarly to Grenache grapevine cv. (Lebon *et al.*, 2004). Temporal changes in leaf area and berry volume were also followed non-destructively in this *Exp.* and compared at 4 to 5 different positions along the main axis, from phytomers 30 to 58 for leaves and from phytomers 16 to 58 for berries (Fig. 2B to 2E). Leaf area and berry volume (first berry growth phase), as a function thermal time after budbreak, both followed sigmoidal patterns at all phytomer positions (Fig. 2B and 2C). The leaf area dynamics overlapped when they were plotted as a function of cumulated degree days after phytomer emergence (Fig. 2D), with no difference between the fittings ($P=0.17$). Consequently, the mean duration of leaf expansion (estimated from CDD between 5% and 95% of the maximal calculated leaf area) was 220°Cd, irrespective of the phytomer rank (Fig. 2D). Similarly, berry volume profiles were not distinguishable among the different phytomers, when they were plotted as a function of thermal time after phytomer emergence ($P=0.10$). The mid-flowering stage occurred 320°Cd after phytomer emergence for all ranks ($P=0.40$). The berry growth lag phase started 400°Cd after mid-flowering. The second phase of berry growth was only observed for phytomer 58. Based on observations at this position, it started 625°Cd after mid-flowering (Fig. 2 E).

III.3. *The spatial changes in berry, leaf and internode sizes were stable over time*

Spatial patterns of internodes length, leaf area and berry volume were compared in *Exp. 3* among contrasted phenological stages, corresponding to 58 to 79 unfolded leaves on the main axis (Fig. 3A-C). For each variable, all sigmoidal fittings at the different plant stages overlapped ($P > 5\%$), indicating that spatial growth patterns were stable over the season. The 25°Cd leaf⁻¹ phyllochron (Fig. 2A) was used to calculate thermal time from plastochron index, in order to infer temporal patterns of internodes, leaf and berry growth from their spatial patterns (Fig. 3).

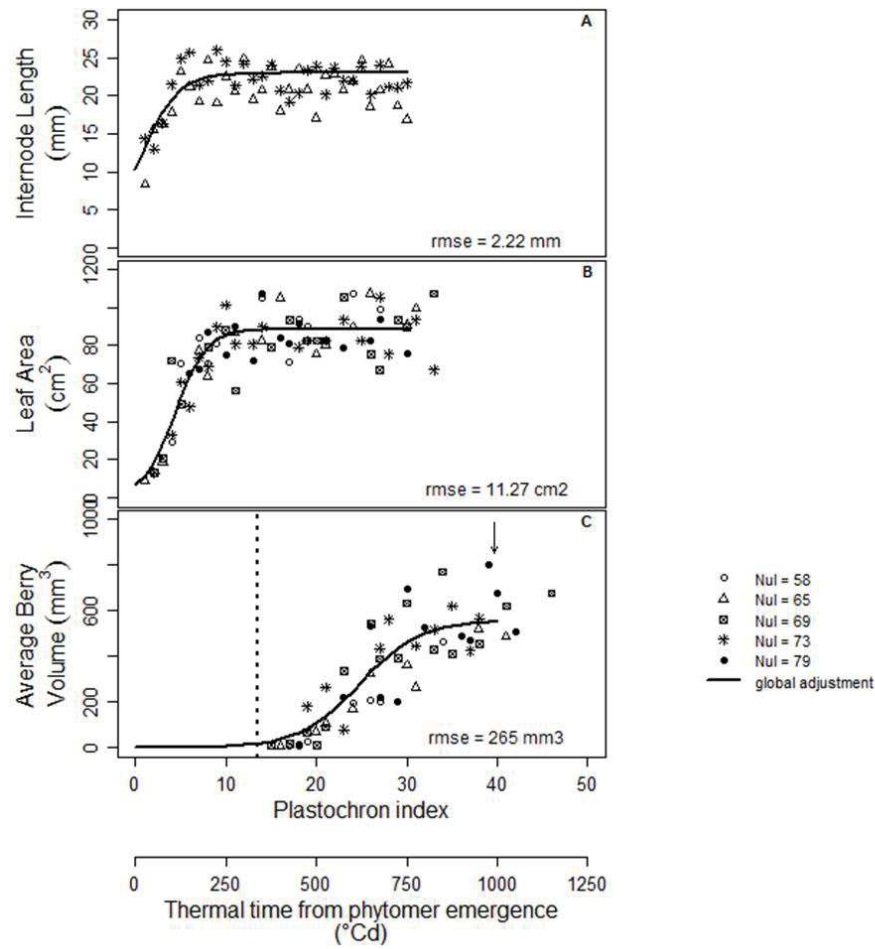


Figure 3: Spatial patterns of *Microvine* internode length (A), leaf area (B) and average berry volume (C) at different phenological stages during *Exp. 3*, corresponding to different numbers of unfolded leaves (*Nul*). The plastochron index along the axis was converted into thermal time from phytomer emergence using the phyllochron. The dotted line represents flowering stage (50% of open flowers). Each point is the average of 6 plants and 10 berries per cluster. Arrow represents the onset of ripening (5% of berries coloured).

Then, the robustness of the spatial profiles of internodes length, leaf area and berry volume both within and between experiments was analyzed by combining data from 5 independent experiments (*Exp. 3 to 7*). When plotted as a function of PI (Fig. 4A, 4B and 4C), the internode and leaf growth patterns varied significantly between the experiments (Fig. 4A, 4B; $P < 5\%$). However, after PI was converted into thermal time from phytomer emergence, the dispersion was reduced at the early stages of development and the resulting fittings did not differ ($P > 5\%$) both within and between years (Fig. 4E, 4F & 4G), although the plateau reached by internode length and leaf area differed among experiments. In all cases, the temporal patterns were inferred, by using the individual phyllochron of each experiment which ranged between $21.2^{\circ}\text{Cd leaf}^{-1}$ for *Exp. 4* and $28.6^{\circ}\text{Cd leaf}^{-1}$ for *Exp. 7* (Fig. 4D; $P < 5\%$).

III.4. *The temporal leaf and berry developments patterns were accurately inferred from spatial profiles along the axis*

Measured temporal changes in leaf area and berry volume at different phytomer positions along the axis (*Exp. 3*, Fig. 2) were compared with their temporal changes inferred after the conversion of spatial patterns (*Exp. 3*, Fig. 3). All phytomers were gathered for this analysis. The sigmoidal adjustments for leaf area and for berry growth were similar between the inferred and the measured temporal profiles (Fig. 5A, B; $P > 5\%$), thus indicating that the temporal growth patterns can be rebuilt from a single time-point spatial phenotyping.

III.5. *Elevated temperature uncoupled biomass from volumetric growth, cut down starch storage in internodes and delayed ripening*

Based on the possibility to infer temporal variation from spatial patterns, we evaluated the impact of a 8°C temperature difference ($30/20^{\circ}\text{C}$ vs. $22/12^{\circ}\text{C}$ for day/night temperature) on biomass, volume or surface growth as well as carbohydrate storage in leaf, internode and berries (Fig. 6). Plants were initially grown in greenhouse until they reached 55 unfolded leaves and they showed the full sequence of first reproductive stages, from inflorescence differentiation to fruit set. Then, they were transferred into growth chambers set at the target temperature treatments over a 450°Cd -period. Light and VPD were identical in both control and high temperature chambers. Biomass, surface and volume accumulations over time were inferred from spatial profiles using the specific phyllochrons for each experimental condition (Fig. 6D). Phyllochrons were not different between treatments, although they were different between the initial phase of growth and the treatment period. Only the leaves and internodes unfolded over the 450°Cd period in growth chamber were considered in the analysis and are shown on the graphs. In addition, only the first phase of berry growth was represented (*i.e.* from flowering at 350°Cd to $350 + 450 = 800^{\circ}\text{Cd}$ after phytomer emergence).

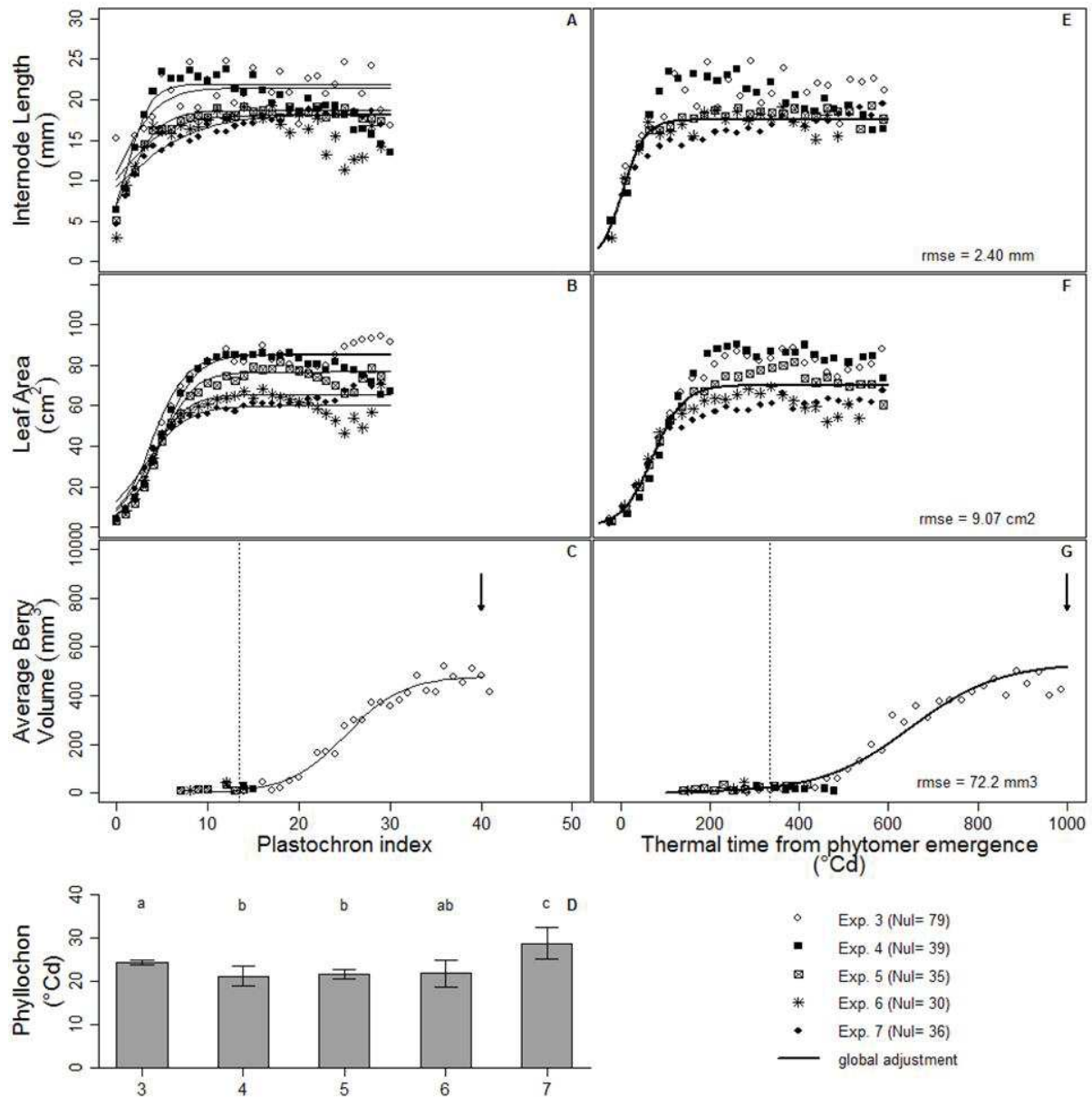


Figure 4: Spatial and temporal patterns inferred from spatial profiles of *Microvine* internodes length (A and E, respectively), leaf area (B and F, respectively) and average berry volume (C and G, respectively) for *Exp.* 3 to 7. The plastochron index was converted into thermal time from phytomers emergence using the individual phyllochron for each *Exp.* (D). Letters in (D) represent significant differences at $P = 0.05$. Bars represent standard deviation (D). Each point is the average of all plants (6 to 20 plants, depending on *Exp.*). The dotted line represents flowering stage (50% of open flowers). Arrows represent the onset of ripening (5% of berries coloured).

Biomass and dimension of all organs followed a truncated sigmoidal shape for both temperatures (Fig. 6A-C, 6E-G). Elevated temperature tended to increase both internode biomass and volume, thus, resulting in an unchanged internode tissue density. By contrast, elevated temperature dramatically reduced starch accumulation in the internode (insert in Fig. 6H). As shown for internodes, elevated temperature accelerated leaf biomass and leaf surface growth. Specific leaf weight (*i.e.* leaf mass per area) was lower under elevated temperature ($P < 5\%$), while leaf soluble sugar concentration remained unchanged ($P > 5\%$, insert in Fig. 6I). Almost no starch was found in those leaves (data not shown). Elevated temperatures slowed down berry biomass and volume growth, in particular for the oldest berries in the 450°Cd window. Strikingly, elevated temperatures dramatically delayed *véraison* by 300°Cd, (*i.e.* 12 days under 30/20°C thermal regime). By contrast, neither final berry density, nor berry soluble sugar content *at véraison* were affected by the thermal treatment (Fig. 6J, K).

The fitting of the temporal trends of each variable was derived to estimate rates of biomass or volume increase among organs. As expected, these were dramatically altered by the thermal regime, both in amplitude and timing (inserts in Fig. 6 A-C; E-G). Elevated temperature promoted in time and amplitude vegetative growth (with instantaneous differences in rates up to 2-fold higher) and by contrast reduced and delayed reproductive growth.

IV. DISCUSSION

IV.1. *Microvine*, a model that resembles grapevine

Microvine vegetative and reproductive developmental patterns were close to those of grapevine. Its phyllochron was on average 25°Cd, similar to that reported for Grenache (Lebon *et al.*, 2004), a common cultivar in south France. Leaf and internode sigmoidal growth at a given phytomer level, or inferred from spatial observations along the proleptic axis, resembled that of other grapevine cultivars. Leaves grew over a 400°Cd period (18 days), similarly to Grenache (Lebon *et al.*, 2004), although their final sizes were 2-fold smaller. Growth duration of individual internodes of *Microvine* and grapevine were also similar, close to 150°Cd (around 6 days, (Schultz and Matthews, 1988). However, internodes were 5-fold shorter in *Microvine*, compared with Semillon (Greer *et al.*, 2010), resulting in the dwarf plant stature.

Similarly to grapevine, *Microvine* mid-flowering occurred 350°Cd after phytomer emergence (approx. 30 days at 17°C), and onset of ripening (*véraison*) started 600°Cd (approx. 50 days at 17°C) after mid-flowering (Mullins *et al.*, 1992; Coombe and McCarthy, 2000; Ojeda *et al.*, 2001). Individual berry development followed the typical three-phase growth pattern of grapevine fruit (Mullins *et al.*, 1992) although the fruit growth lag phase was somehow obscured when berries were pooled, probably due to the asynchronism of ripening between berries (Coombe and McCarthy, 2000). The 2-fold increase of berry weight during the sugar accumulation period was consistent with other observations on

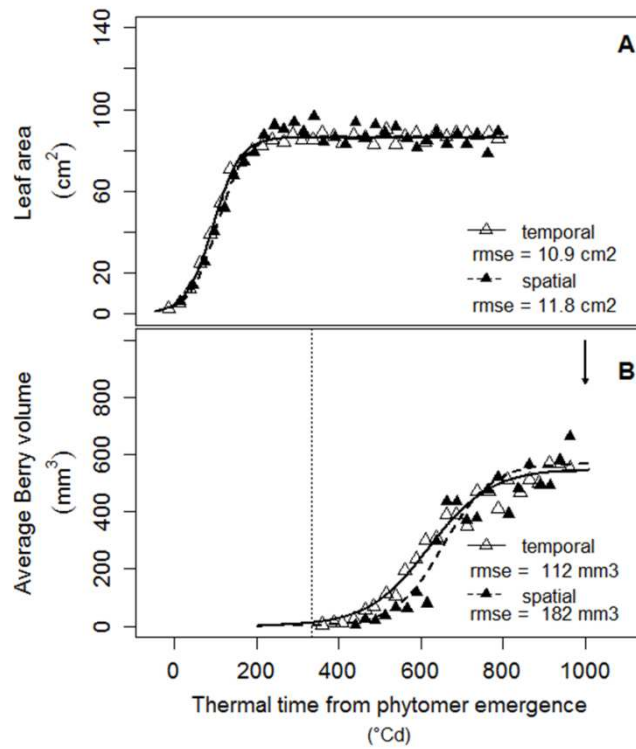


Figure 5: Comparison of the *Microvine* temporal pattern measured and inferred from spatial profiles of leaf area (A) and berry volume during the first growing phase (B) for *Exp. 3*. Each point corresponds to the average of at least 5 leaves or berries. The dotted line represents flowering stage (50% of open flowers). Arrow represents the onset of ripening (5% of berries coloured).

grapevine (Houel *et al.*, 2013). After the physiological maturity (900°Cd or 40 days after the onset of ripening), berries lost weight and their sugar concentration increased, suggesting they were shriveling because of evaporation (Rogiers *et al.*, 2006). Interestingly, berry biochemical changes over the three developmental phases were similar to those typically encountered in grapevines under field conditions in temperate climates (Mullins *et al.*, 1992). The unlimited water availability, and rather cool temperature conditions experimented here, may be responsible for the slightly lower sugar concentration observed in ripe fruits (Chaves *et al.*, 2010). Overall, all phases of berry development covered a 1850°Cd period (120 days) in *Microvine*, similar to the values reported for common grapevine cultivars (Mullins *et al.*, 1992; Ojeda *et al.*, 1999).

IV.2. *Microvine*, a grapevine model with continuous and regular vegetative and reproductive development

One of the remarkable biological features of *Microvine* is its continuous rhythm of reproductive growth and development along the main axis. Vegetative and reproductive developments were robust both spatially (along the axis) and temporally (different periods of the year), as also observed in other species with *indeterminate* development such as pea or tomato (Ney and Turc, 1993; Turc and Lecoeur, 1997). *Microvine* developmental pattern was even conserved among experiments differing in budburst date and thus in light conditions during the cropping season, even though final organ dimensions changed, probably depending on light conditions. The permanent regime of development was used in the past in other species to infer temporal patterns from spatial gradients (e.g. Guilioni *et al.*, 1997) on a large variety of variables such as leaf expansion (Snyder and Bunce, 1983; Groot and Meicenheimer, 2000; Pantin *et al.*, 2011), carbon balance (Gagnon and Beebe, 1996; Ade-Ademilua and Botha, 2005) or gene expression (Efroni *et al.*, 2008). Similarly, *Microvine* temporal changes in leaf and berry growth could be deduced from the main axis spatial pattern. This feature was then used to address the overall above-ground organs responses to elevated temperatures. It can thus be concluded that the response to abiotic stress of the whole sequence of vegetative and reproductive development can theoretically be assessed after relatively short-term experiments, providing the experimental treatment lasts enough time to reveal responses. Such property opens the door to studying abiotic stresses impact on large genetic population such as those used for QTL identification and gene annotation (Chaïb *et al.*, 2010; Chatbanyong *et al.*, 2014).

IV.3. *Microvine*, a grapevine model with a few limitations

While phyllochron was mostly constant in our experiment under greenhouse conditions, it was occasionally variable between experiments under greenhouse conditions, as well as when plants were transferred from greenhouse to growth chamber. When the temporal patterns were inferred from the spatial patterns, this imposed to consider those phytomers emerged before and after the transfer

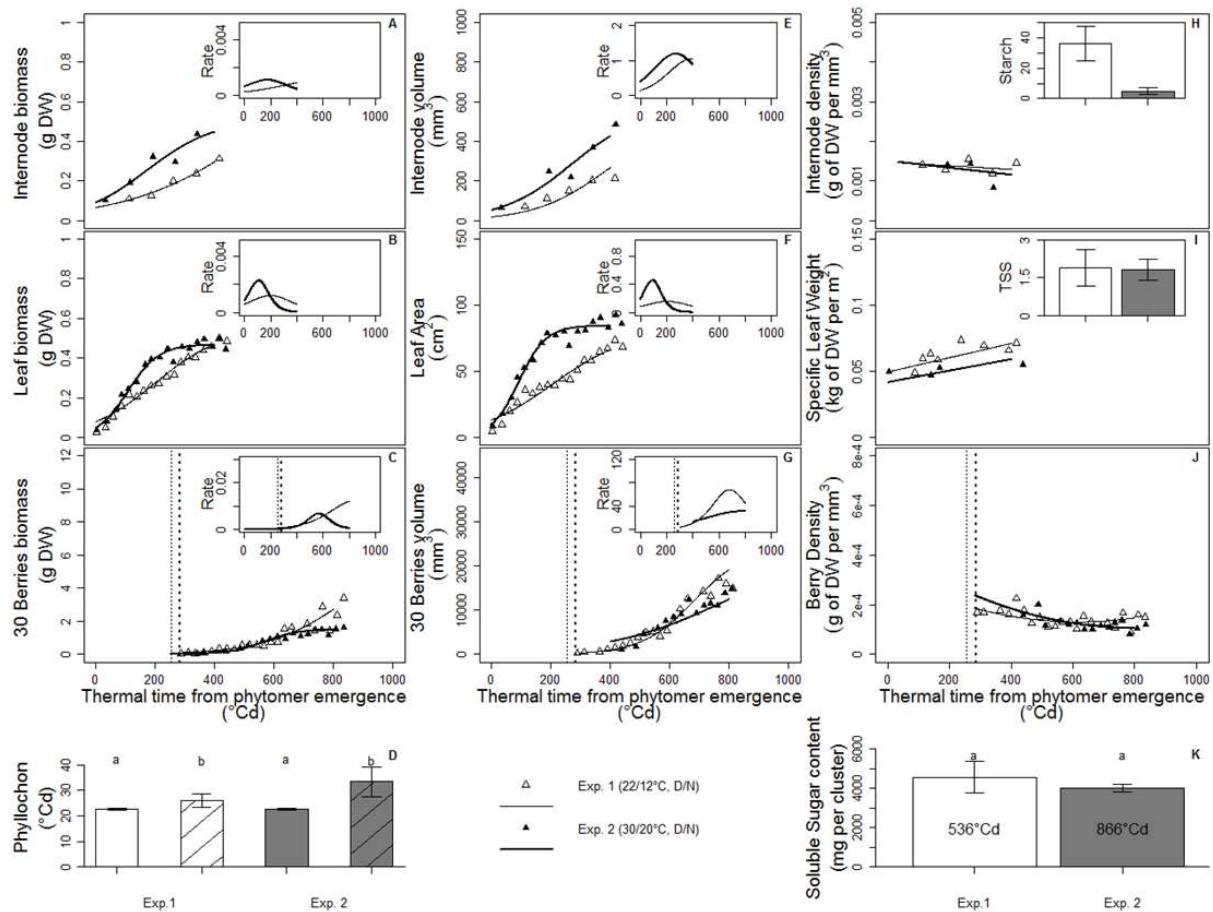


Figure 6: Impact of a 8°C (day and night) difference on the kinetics of biomass or dimension changes and carbohydrates accumulations inferred from spatial profiles of *Microvine* for *Exp. 1* (22/12°C d/n) and *Exp. 2* (30/20°C d/n). Graphs show internode biomass (A) and volume (E), leaf biomass (B), and surface (F), berries biomass (C) and volume (G). Insets in A, B, C, E, F and G represent rates derived from the corresponding kinetics fitting. Graphs H, I and J are for internode mass per volume, leaf mass per area and berry mass per volume, respectively. Inserts in H and I show the average contents of starch in internodes and soluble sugars in leaves. Soluble sugars content at onset of ripening is presented in K. The onset of ripening in °Cd after flowering is indicated (K). All carbohydrate contents are expressed in mg per phytomer. Plastochron index along the axis was converted into thermal time from phytomer emergence, using the individual phyllochron values for each *Exp.* before (blank) and during temperature treatment (dashed) (D). Each point represents the average of 8 plants. Berries values correspond to an average cluster of 30 average berries. The dotted lines represent flowering stage (50% of open flowers) for *Exp. 1* (non-bold) and *Exp. 2* (bold). Bars represent standard deviations, and letters represent significant differences at $P = 0.05$ (D and K).

separately. Two hypotheses can be advanced to explain this variability in phyllochron. A first hypothesis is related to crop loads (*i.e.* berry biomass to leaf area ratio). Indeed, crop load was controlled (by leaf or cluster pruning) at the onset of each experiment around 1 m² of leaf area per kg⁻¹ of berries fresh weight, which is the range recommended for vineyards to support good conditions of ripening (Murisier, 1996). However, the developmental stage of oldest clusters varied from berry set *Exp.* 4 to 7, to maturity in *Exp.* 1 to 3. Thus, *Microvine* proleptic axis development would resemble the grapevine sylleptic axes whose phyllochron are negatively impacted by crop load (Pallas *et al.*, 2008). A second hypothesis relates to climatic conditions during budburst and early stages of axis development (Keller and Tarara, 2010). Budburst dates were different in experiments 4 to 7, distributed from November to January. While air temperature and vapor pressure deficit were reasonably stable among the experiments, maximal radiation, light quality and day length significantly varied. Importantly, in spite of these differences in phyllochron between experiments, it remained highly constant under stabilized environments, *i.e.* under stabilized light and temperature regime allowing spatio-temporal inference.

The apical and the basal zones of the axis were considered separately. Indeed, at the end of the temperature treatments, only the apical most phytomers were exposed to the new condition over their entire life. Lower phytomers experienced an increasing part of their life in the greenhouse conditions. As a result, the spatial patterns (as well as the temporal patterns inferred) of those phytomers emerged during the treatments could be directly compared. By contrast, the comparison of lower phytomers would have required to consider the status (or size) of that phytomer at the onset of the treatment. This may require both non-destructive and destructive initial measurements, which could possibly add noise to the results and make comparison less straightforward. In the present study, we considered the most apical zone corresponding to the 450°Cd duration of the treatment. These precautions being taken, the model and the method proposed allowed the derivation of a variety of indicators related to organ growth in size and volume as well as carbohydrate management.

IV.4. *Microvine*, a model for addressing grapevine responses to abiotic stresses

In order to illustrate the potential of *Microvine* as a tool to study the impact of abiotic stresses on grapevine development, plants were exposed to contrasted temperature regimes. Elevated temperature had clear-cut and contrasting effects on vegetative *vs.* reproductive growth, on biomass *vs.* volumetric growth as well as on the patterns of carbohydrate accumulation in leaves, internodes and berries. A first striking difference was found between vegetative and reproductive functions. While elevated temperature accelerated and increased the amplitude of vegetative growth, it delayed reproductive growth. Indeed, the onset of ripening (*véraison*) stage was delayed both on thermal time (300°Cd) and calendar days (20 days) bases, with berry biomass and sugar content *at véraison* ultimately remaining close. Such an imbalance between vegetative and reproductive development triggered by temperature

has already been reported in a range of species (Peraudeau *et al.*, 2015). Moreover, our model allowed the precise temporal mapping of the series of events involved in this modification. The increase in vegetative rates by elevated temperature occurred earlier than the decrease of reproductive rates suggesting that the later may not be a simple consequence of the former. A second striking feature was related to the differential impact of elevated temperature on biomass vs. volumetric growth. It did not alter the coupling between these two functions in internode (resulting in unchanged volumetric mass) but significantly uncoupled these two functions in leaves (resulting in decreased specific leaf mass). Such specific leaf mass decrease under elevated temperatures (contributed by both leaf density and thickness, Witkowski and Lamont, 1991) has already been reported (Gunn and Farrar, 1999). This could be related to the differential sensitivity of volumetric growth vs photosynthesis sensitivities to elevated temperature (Wang *et al.*, 2012). Indeed, photosynthesis is much more sensitive to elevated temperature than expansive growth ((Parent *et al.*, 2010) leading to biomass dilution. In our study, this uncoupling was observed in leaves but not in the internode. A reason could be the mobilization of starch reserves that were totally absent from the internodes at elevated temperature while they represented a significant proportion of biomass under low temperature. Consistently, starch is known to be a major form of carbohydrate storage in grapevine stem (Mullins *et al.*, 1992). By contrast, leaves contained almost no starch reserves to buffer variation in carbohydrate provision due to elevated temperature. Thus, starch content in internodes could act as an adjustment variable in case of carbon excess or starvation.

In contrast with vegetative organs, reproductive organs showed no alteration of either volumetric mass or of sugar content, as described by Mori *et al.* (2005, 2007) and Yamane *et al.* (2006). However, elevated temperature strongly delayed development since the onset of ripening occurred 22 days later under high temperature, which apparently partially contradicts the observations made in field conditions, upon limited temperature increases and with fluctuant VPD and water status, where ripening is advanced (Webb *et al.*, 2007, 2012). A major reason for this delay could be the reduction of carbon assimilation under high temperature associated to a boost of vegetative growth. Indeed, the experimental duration, based on thermal time was 450°Cd for the two thermal treatments, representing 30 days for elevated temperature vs 60 days for low temperature. Thus, plants exposed to high temperature produced the same number of phytomers than plants in the low temperature treatment but twice faster on calendar days, therefore strongly limiting the capacity for the plant to capture carbon during a shorter duration. An elevated temperature may even decrease carbon capture, due to the classically reported negative effect of temperature on photosynthesis. In grapevine, photosynthesis is known to be reduced beyond a 25-30°C optimum (Zufferey *et al.*, 2000). Another source of carbon unbalance could be the increased night respiration, in particular of the root system which is known to be strongly responding to elevated temperature (Huang *et al.*, 2005). Consistently, low root reserves due to high respiration were reported for grapevine under high temperature (Rogiers *et al.*, 2011).

Ultimately, *Microvines* plants used in this study were 1 year old with probably limited root reserves at the start of the experiment. Interestingly, these responses globally resemble those observed under shading or leaf to fruit ratio alteration (Kliewer and Lider, 1968; Petrie and Clingeleffer, 2006).

Our results thus globally fit previous findings on grapevine response to elevated temperature such as the maintenance of biomass accumulation in vegetative organs, the reduction of carbon storage towards woody reserves (Sadras and Moran, 2013), as well as the delayed berry ripening (Greer and Weston, 2010). The consistency of those data with regard to previous work and the added value provided by the fact that (i) impacts can be identified down to the phytomer level, (ii) temporal changes (and therefore fluxes) can be inferred from one sampling date only and (iii) a single treatment can be designed to affect the whole developmental sequence, make the *Microvine* a convenient perennial model for studying the impact of climate warming, and more generally abiotic factors, taking advantage of climate manipulation in well controlled environment.

V. CONCLUSION

Microvine a natural *Vvgail* mutant of grapevine was evaluated for its potentialities for studying responses to climate change and more precisely climate warming. *Microvine* was similar to grapevine, regarding phyllochron, leaf and internode growth duration, as well as berry development and biochemistry. Moreover, temporal and spatial patterns of development in *Microvine* were robust along the primary axis as well as between seasons, although phyllochron slightly varied as well as final organ dimensions. Under stabilized phyllochrons, plastochron index could be converted into (thermal) time to derive temporal patterns from spatial patterns. We used this feature to analyze the impact of a 8°C temperature difference during both nights and days over several weeks. Elevated temperatures accelerated vegetative organ development but either lowered their tissue density or carbohydrate storage. In contrast, reproductive development was delayed under elevated temperatures while sugar content of fruits at the onset of ripening was unaffected. Temperature elevation is thus likely to disrupt the balance between growth and storage, possibly leading to impairments in berry quality. These conclusions could be drawn from one single set of phenotypic measurements at harvest suggesting that *Microvine* is indeed a promising tool for studying the impact of climate change on grapevine reproductive and vegetative development, composition and quality.

VI. AKNOLEDGMENTS

This study was supported by ANR-Genopole (project ANR-2010-GENM-004-01) and the Poupelain foundation. The authors gratefully acknowledge A. Bediee, G. Rolland, M. Dauzat, C. Balsera, F. Bouvery, E. Suard, G. Lopez, M. Farnos, I. Gil, C. Verries, T. Marlin, S. Vialet, C. Roux, V. Miralles, F. Novelli, A. Adivèze, C. Roux, P. Ballias and D. Prodhomme for their technical assistance.

VII. REFERENCES

- Ade-Ademilua OE, Botha CEJ. 2005.** A re-evaluation of plastochron index determination in peas - a case for using leaflet length. *South African Journal of Botany* **71**: 76–80.
- Atkinson CJ, Taylor L, Taylor JM, Lucas AS. 1998.** Temperature and irrigation effects on the cropping, development and quality of 'Cox's Orange Pippin' and 'Queen Cox' apples. *Scientia Horticulturae* **75**: 59–81.
- Barnabás B, Jäger K, Fehér A. 2007.** The effect of drought and heat stress on reproductive processes in cereals. *Plant, Cell & Environment* **31**: 11–38.
- Barnuud NN, Zerihun A, Mpelasoka F, Gibberd M, Bates B. 2014.** Responses of grape berry anthocyanin and titratable acidity to the projected climate change across the Western Australian wine regions. *International Journal of Biometeorology* **58**: 1279–1293.
- Boss PK, Thomas MR. 2002.** Association of dwarfism and floral induction with a grape "green revolution" mutation. *Nature* **416**: 847–850.
- Buttrose MS, Hale CR, Kliewer WM. 1971.** Effect of temperature on the composition of 'Cabernet Sauvignon' berries. *American Journal of Enology and Viticulture* **22**: 71–75.
- Carbonneau A. 2010.** Evolution of vineyard canopy management: from history to new training systems. *Progres agricole et viticole* **127**: 109–130.
- Carmona MJ, Chaib J, Martinez-Zapater JM, Thomas MR. 2008.** A molecular genetic perspective of reproductive development in grapevine. *Journal of Experimental Botany* **59**: 2579–2596.
- Chaïb J, Torregrosa L, Mackenzie D, Corena P, Bouquet A, Thomas MR. 2010.** The grape microvine - a model system for rapid forward and reverse genetics of grapevines. *The Plant journal: for cell and molecular biology* **62**: 1083–1092.
- Chatbanyong R, Houel C, Rienth M, Doligez A, Luchaire N, Adiveze A, Roux C, Miralles V, Lopez G, Farnos M, François P, Gil I, Alcantara Novelli Dias F, Pellegrino A, This P, Romieu C, Torregrosa L. 2014.** QTLs for Grapevine Adaptation to Elevated Temperature. *Proc. XIth Int. Conf. Grape Genetics & Breeding*, Beijing, China.
- Chaves MM, Zarrouk O, Francisco R, Costa JM, Santos T, Regalado AP, Rodrigues ML, Lopes CM. 2010.** Grapevine under deficit irrigation: hints from physiological and molecular data. *Annals of Botany* **105**: 661–676.

Cheng W, Sakai H, Yagi K, Hasegawa T. 2010. Combined effects of elevated [CO₂] and high night temperature on carbon assimilation, nitrogen absorption, and the allocations of C and N by rice (*Oryza sativa* L.). *Agricultural and Forest Meteorology* **150**: 1174–1181.

Chuine I, Yiou P, Viovy N, Seguin B, Daux V, Le Roy Ladurie E. 2004. Historical phenology: grape ripening as a past climate indicator. *Nature* **432**: 289–290.

Coombe B g. 1995. Growth Stages of the Grapevine: Adoption of a system for identifying grapevine growth stages. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **1**: 104–110.

Coombe BG, McCarthy MG. 2000. Dynamics of grape berry growth and physiology of ripening. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **6**: 131–135.

Efroni I, Blum E, Goldshmidt A, Eshed Y. 2008. A Protracted and Dynamic Maturation Schedule Underlies Arabidopsis Leaf Development. *Plant Cell* **20**: 2293–2306.

Franks T, Botta R, Thomas M. 2002. Chimerism in grapevines: implications for cultivar identity, ancestry and genetic improvement RID A-3117-2010. *Theoretical and Applied Genetics* **104**: 192–199.

Gagnon MJ, Beebe DU. 1996. Establishment of a plastochron index and analysis of the sink-to-source transition in leaves of *Moricandia arvensis* (L) DC (Brassicaceae). *International Journal of Plant Sciences* **157**: 262–268.

García-Inza GP, Castro DN, Hall AJ, Rousseaux MC. 2014. Responses to temperature of fruit dry weight, oil concentration, and oil fatty acid composition in olive (*Olea europaea* L. var. “Arauco”). *European Journal of Agronomy* **54**: 107–115.

Geny L, Ollat N, Soyer J. 1998. Les boutures frutiferes de vigne: validation d’un modèle d’étude de la physiologie de la vigne. II. Etude du developpment de la grappe. *Journal international de la vigne et du vin* **32**: 83–90.

Gibon Y, Pyl E-T, Sulpice R, Lunn JE, Hoehne M, Guenther M, Stitt M. 2009. Adjustment of growth, starch turnover, protein content and central metabolism to a decrease of the carbon supply when Arabidopsis is grown in very short photoperiods RID B-9919-2011. *Plant Cell and Environment* **32**: 859–874.

Greer DH, Weedon MM. 2011. Modelling photosynthetic responses to temperature of grapevine (*Vitis vinifera* cv. Semillon) leaves on vines grown in a hot climate. *Plant, Cell & Environment* **35**: 1050–1064.

Greer DH, Weston C. 2010. Heat stress affects flowering, berry growth, sugar accumulation and photosynthesis of *Vitis vinifera* cv. Semillon grapevines grown in a controlled environment. *Functional Plant Biology* **37**: 206–214.

Greer DH, Weston C, Weedon M. 2010. Shoot architecture, growth and development dynamics of *Vitis vinifera* cv. Semillon vines grown in an irrigated vineyard with and without shade covering. *Functional Plant Biology* **37**: 1061–1070.

Groot E, Meicenheimer R. 2000. Comparison of leaf plastochron index and allometric analyses of tooth development in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Plant Growth Regulation* **19**: 77–89.

Guilioni L, Wéry J, Lecoœur J. 2003. High temperature and water deficit may reduce seed number in field pea purely by decreasing plant growth rate. *Functional Plant Biology* **30**: 1151–1164.

Guilioni L, Wery J, Tardieu F. 1997. Heat stress-induced abortion of buds and flowers in pea: is sensitivity linked to organ age or to relations between reproductive organs? *Annals of Botany* **80**: 159–168.

Gunn S, Farrar JF. 1999. Effects of a 4 °C increase in temperature on partitioning of leaf area and dry mass, root respiration and carbohydrates. *Functional Ecology* **13**: 12–20.

Holzapfel BP, Smith JP. 2012. Developmental stage and Climatic factors impact more on carbohydrate reserve dynamics of shiraz than cultural practice. *American Journal of Enology and Viticulture* **63**: 333–342.

Holzapfel BP, Smith JP, Field SK, Hardie WJ. 2010. 3 Dynamics of Carbohydrate Reserves in Cultivated Grapevines. *Horticultural Reviews* **37**: 143–211.

Houel C, Martin-Magniette M-L, Nicolas SD, Lacombe T, Le Cunff L, Franck D, Torregrosa L, Conéjéro G, Lalet S, This P, Adam-Blondon A-F. 2013. Genetic variability of berry size in the grapevine (*Vitis vinifera* L.): Berry size. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **19**: 208–220.

Huang X, Lakso AN, Eissenstat DM. 2005. Interactive Effects of Soil Temperature and Moisture on Concord Grape Root Respiration. *Journal of Experimental Botany* **56**: 2651–2660.

Jones H. 1992. *Plants and Microclimate: A quantitative approach to environmental plant physiology*. Press Syndicate of the University of Cambridge.

Jones JE, Lee G, Wilson SJ. 2013. A Statistical Model to Estimate Bud Fruitfulness in Pinot noir. *American Journal of Enology and Viticulture* **64**: 274–279.

- Keller M, Tarara JM. 2010.** Warm spring temperatures induce persistent season-long changes in shoot development in grapevines. *Annals of Botany* **106**: 131–141.
- Keller M, Tarara JM, Mills LJ. 2010.** Spring temperatures alter reproductive development in grapevines. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **16**: 445–454.
- Kim J, Shon J, Lee C-K, Yang W, Yoon Y, Yang W-H, Kim Y-G, Lee B-W. 2011.** Relationship between grain filling duration and leaf senescence of temperate rice under high temperature. *Field Crops Research* **122**: 207–213.
- Kliewer WM, Lider L. 1968.** Influence of cluster exposure to the sun on the composition of Thompson seedless fruit. *American Journal of Enology and Viticulture* **19**: 175–184.
- Lebon E, Pellegrino A, Tardieu F, Lecoecur J. 2004.** Shoot development in grapevine (*Vitis vinifera*) is affected by the modular branching pattern of the stem and intra- and inter-shoot trophic competition. *Annals of Botany* **93**: 263–274.
- Lobell DB, Field CB. 2007.** Global scale climate–crop yield relationships and the impacts of recent warming. *Environmental Research Letters* **2**: 014002.
- Madan P, Jagadish SVK, Craufurd PQ, Fitzgerald M, Lafarge T, Wheeler TR. 2012.** Effect of elevated CO₂ and high temperature on seed-set and grain quality of rice. *Journal of Experimental Botany* **63**: 3843–3852.
- Mori K, Goto-Yamamoto N, Kitayama M, Hashizume K. 2007.** Loss of anthocyanins in red-wine grape under high temperature. *Journal of Experimental Botany* **58**: 1935–1945.
- Mori K, Sugaya S, Gemma H. 2005.** Decreased anthocyanin biosynthesis in grape berries grown under elevated night temperature condition. *Scientia Horticulturae* **105**: 319–330.
- Mullins MG, Bouquet A, Williams LE. 1992.** *Biology of the grapevine*. Cambridge University Press.
- Murisier F. 1996.** Determining the optimal leaf/fruit ratio of grapevine for yield quality and storage of reserve carbohydrates. Relation between yield and chlorosis. *Ecole polytechnique federale de Zurich*: 132.
- Ney B, Turc olivier. 1993.** Heat-Unit-Based Description of the Reproductive Development of Pea. *Crop Science* **33**: 510–514.
- Ojeda H, Deloire A, Carbonneau A. 2001.** Influence of water deficits on grape berry growth. *VITIS-GEILWEILERHOF* **40**: 141–146.

Ojeda H, Deloire A, Carbonneau A, Ageorges A, Romieu C. 1999. Berry development of grapevines : relations between the growth of berries and their DNA content indicate cell multiplication and enlargement. *Vitis* **38**: 145–150.

Pallas B, Louarn G, Christophe A, Lebon E, Lecoeur J. 2008. Influence of intra-shoot trophic competition on shoot development in two grapevine cultivars (*Vitis vinifera*). *Physiologia Plantarum* **134**: 49–63.

Pantin F, Simonneau T, Rolland G, Dauzat M, Muller B. 2011. Control of Leaf Expansion: A Developmental Switch from Metabolics to Hydraulics. *Plant Physiology* **156**: 803–815.

Parent B, Turc O, Gibon Y, Stitt M, Tardieu F. 2010. Modelling temperature-compensated physiological rates, based on the co-ordination of responses to temperature of developmental processes. *Journal of experimental botany* **61**: 2057–2069.

Parry ML. 2007. *Climate Change 2007: Impacts, Adaptation and Vulnerability : Contribution of Working Group II to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press.

Peng S, Huang J, Sheehy JE, Laza RC, Visperas RM, Zhong X, Centeno GS, Khush GS, Cassman KG. 2004. Rice yields decline with higher night temperature from global warming. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **101**: 9971–9975.

Peraudeau S, Roques S, O. Quiñones C, Fabre D, Van Rie J, Ouwerkerk PBF, Jagadish KSV, Dingkuhn M, Lafarge T. 2015. Increase in night temperature in rice enhances respiration rate without significant impact on biomass accumulation. *Field Crops Research* **171**: 67–78.

Petrie PR, Clingeleffer PR. 2006. Crop thinning (hand versus mechanical), grape maturity and anthocyanin concentration: outcomes from irrigated Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L.) in a warm climate. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **12**: 21–29.

Poni S, Gatti M, Bernizzoni F, Civardi S, Bobeica N, Magnanini E, Palliotti A. 2013. Late leaf removal aimed at delaying ripening in cv. Sangiovese: physiological assessment and vine performance: Late defoliation and ripening. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **19**: 378–387.

Rienth M, Dauzat M, Pellegrino A, Lopez G, Torregrosa L, Romieu C. 2012. First observations of the microvine development under 100% LED (light emitting diodes) illumination. *Vitis* **51**: 167–173.

Rienth M, Luchaire N, Chatbanyong R, Agorges A, Kelly MT, Brillouet J-M, Muller B, Pellegrino A, Torregrosa L, Romieu C. 2013. The microvine provides new perspectives for research on berry physiology. *Proc. GiESCO 2013, Portugal Ciencia e Tecnica Vitivinicola*.412–417.

Rienth M, Torregrosa L, Kelly MT, Luchaire N, Pellegrino A, Grimplet J, Romieu C. 2014. Is transcriptomic regulation of berry development more important at night than during the day? *PLoS ONE* **9**: e88844.

Rienth M, Torregrosa L, Luchaire N, Chatbanyong R, Lecourieux D, Kelly MT, Romieu C. 2014. Day and night heat stress trigger different transcriptomic responses in green and ripening grapevine (*Vitis vinifera*) fruit. *Bmc Plant Biology* **14**: 108-126.

Rogiers SY, Greer DH, Hatfield JM, Orchard BA, Keller M. 2006. Solute transport into shiraz berries during development and late-ripening shrinkage. *American Journal of Enology and Viticulture* **57**: 73–80.

Rogiers SY, Hardie WJ, Smith JP. 2011. Stomatal density of grapevine leaves (*Vitis vinifera* L.) responds to soil temperature and atmospheric carbon dioxide: Environmental influences on stomatal density. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **17**: 147–152.

Sadras VO, Moran MA. 2013. Nonlinear effects of elevated temperature on grapevine phenology. *Agricultural and Forest Meteorology* **173**: 107–115.

Schultz H, Matthews MA. 1988. Vegetative growth distribution during water deficits in *Vitis vinifera* L. *Functional Plant Biology* **15**: 641–656.

Snyder F, Bunce JA. 1983. Use of the plastochron index to evaluate effects of light, temperature and nitrogen on growth of soya bean (*glycine-max l merr*). *Annals of Botany* **52**: 895–903.

Soar CJ, Collins MJ, Sadras VO. 2009. Irrigated Shiraz vines (*Vitis vinifera*) upregulate gas exchange and maintain berry growth in response to short spells of high maximum temperature in the field. *Functional Plant Biology* **36**: 801–814.

Springate DA, Kover PX. 2014. Plant responses to elevated temperatures: a field study on phenological sensitivity and fitness responses to simulated climate warming. *Global Change Biology* **20**: 456–465.

Suwa R, Hakata H, Hara H, El-Shemy HA, Adu-Gyamfi JJ, Nguyen NT, Kanai S, Lightfoot DA, Mohapatra PK, Fujita K. 2010. High temperature effects on photosynthate partitioning and sugar

metabolism during ear expansion in maize (*Zea mays* L.) genotypes. *Plant Physiology and Biochemistry* **48**: 124–130.

Tashiro T, Wardlaw IF. 1989. A Comparison of the Effect of High Temperature on Grain Development in Wheat and Rice. *Annals of Botany* **64**: 59–65.

Triboi E. 2003. Environmentally-induced changes in protein composition in developing grains of wheat are related to changes in total protein content. *Journal of Experimental Botany* **54**: 1731–1742.

Turc O, Lecoeur J. 1997. Leaf Primordium Initiation and Expanded Leaf Production are Co-ordinated through Similar Response to Air Temperature in Pea (*Pisum sativum* L.). *Annals of Botany* **80**: 265–273.

Wang D, Heckathorn SA, Wang X, Philpott SM. 2012. A meta-analysis of plant physiological and growth responses to temperature and elevated CO₂. *Oecologia* **169**: 1–13.

Warren CR, Dreyer E. 2006. Temperature response of photosynthesis and internal conductance to CO₂: results from two independent approaches. *Journal of Experimental Botany* **57**: 3057–3067.

Webb LB, Whetton PH, Barlow EWR. 2007. Modelled impact of future climate change on the phenology of winegrapes in Australia. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **13**: 165–175.

Webb LB, Whetton PH, Bhend J, Darbyshire R, Briggs PR, Barlow EWR. 2012. Earlier wine-grape ripening driven by climatic warming and drying and management practices. *Nature Climate Change* **2**: 259–264.

Winkler A, Williams W. 1939. The heat requirement to bring Tokay grapes to maturity. *Proceedings of the American society of Horticultural Science* **37**: 51–54.

Witkowski ETF, Lamont BB. 1991. Leaf specific mass confounds leaf density and thickness. *Oecologia* **88**: 486–493.

Yamane T, Jeong S, Goto-Yamamoto N, Koshita Y, Kobayashi S. 2006. Effects of temperature on anthocyanin biosynthesis in grape berry skins. *American Journal of Enology and Viticulture* **57**: 54–59.

Yamori W, Nagai T, Makino A. 2011. The rate-limiting step for CO₂ assimilation at different temperatures is influenced by the leaf nitrogen content in several C(3) crop species. *Plant, cell & environment* **34**: 764–777.

Zhao J, Hartmann H, Trumbore S, Ziegler W, Zhang Y. 2013. High temperature causes negative whole-plant carbon balance under mild drought. *New Phytologist* **200**: 330–339.

Zufferey V, Murisier F, Schultz HR, others. 2000. A model analysis of the photosynthetic response of *Vitis vinifera* L. cvs Riesling and Chasselas leaves in the field: I. Interaction of age, light and temperature. *Vitis* **39**: 19–26.

Microvine developmental and metabolic responses to elevated temperature

I. Introduction

Climate change is a major concern for agriculture. According to climatic models, an increase of temperature ranging from 0.5 to 2.0°C is expected across the northern hemisphere in the next 50 years (Webb *et al.*, 2013). Such a massive change in a short period of time could lead to dramatic effects on agriculture production in quantity and quality. Indeed, temperature elevation was found to have both a positive and a negative effect on plants agronomical traits depending on range of temperatures and period of plant cycle considered (Penfield, 2008). For instance, cold temperatures are favorable for vernalisation and bud dormancy breakage between 0 to 12 °C, but can cause chilling and frost injuries under 10°C (Jones, 1992; Atwell *et al.*, 1999). In general, plant organogenesis is favored by temperature elevation (Lafarge *et al.*, 1998), except for extreme temperatures as temperature responses classically follow Arrhenius-Johnson curves (Parent *et al.*, 2010) with an exponential like increase with increasing temperature, followed by a plateau and a steep decrease above supraoptimal temperature. Agronomists often simplify the first part of this response to a linear response which proves robust for a large range of situations in both annuals and perennial plants. Consistent with this, leaf production rate increases linearly with temperature in most if not all annual species (see for instance Grimstad and Frimanslund (1993) and Turc and Lecoœur (1997) for cucumber and pea, respectively), and also in perennials such as grapevine where vegetative development is indeterminate (Lebon *et al.*, 2004b). As a result, leaf production rate is constant when expressed in thermal time (Turc and Lecoœur, 1997), *i.e.* when temperature is integrated over time, above a base temperature threshold (classically 10°C for grapevine). Vegetative organ production rate is not the only variable that is linearly related to temperature. Leaf expansion rate is also linearly increased by temperature as shown in several species such as sorghum (Lafarge *et al.*, 1998) sunflower or *Arabidopsis* (Granier and Tardieu, 1998; Granier *et al.*, 2002). Because all developmental processes ultimately need to be coordinated, it is not surprising that cell division in the leaf also follows the same thermal response, with an identical base temperature (Granier *et al.* 1998). If developmental stability is maintained in a large range of suboptimal to optimal temperatures, rapid decreases in phenological rates are observed upon elevated temperatures, excluding the use of linear thermal time for supraoptimal ranges (Parent *et al.*, 2010).

Beyond development, biomass accumulation in plants is also affected by temperature. Using the classical breakdown of biomass accumulation as the product of (i) biomass accumulation per unit leaf area, (ii) leaf mass fraction (*i.e.* the proportion of plant mass into the leaf) and (iii) specific leaf area (leaf area per unit leaf mass), Poorter *et al.* (2012) in successive meta-analyses of published data showed consistent responses of biomass partitioning between several species of various types. Across species, plant leaf mass fraction is increased in response to temperature, even though specific leaf area (SLA) is increased (Poorter *et al.*, 2009). On the opposite, plant stem mass fraction (*i.e.* the proportion

of biomass into stems) is decreased by temperature elevation (Poorter *et al.*, 2012), although stem biomass is increased by temperature (Malcolm *et al.*, 2007). As for stems, plant root mass fraction is decreased by elevated temperatures (Vile *et al.*, 2012). This trend is observed despite the fact that single root elongation is increased in response to temperature, leading to thinner roots (Cumbus and Nye, 1982). In conclusion, elevated temperature profoundly alters biomass acquisition, partitioning between and within organs, resulting in altered balance between volume and surface with globally thinner and/or less dense organs.

Temperature elevation also modifies the partitioning towards non-structural carbohydrate storage. In annual plants, short-term reserves (*i.e.* those supporting night growth and showing day-night fluctuation) are located in vegetative organs such as stem and leaves, while long-term, transgenerational reserves accumulate in reproductive organs such as grains and fruits. Short-term storage displays strong homeostasis with regard to the prevailing environmental conditions, since changes in temperature or photoperiod are compensated by changes in synthesis and degradation rates (Gibon *et al.*, 2004; Pyl *et al.*, 2012). By contrast, elevated temperatures tend to negatively impact long-term storage into total non-structural carbohydrates (TNC), as shown by a lower TNC accumulation in cereal grains (Keeling *et al.*, 1993) or fleshy fruits like tomato (Adams *et al.*, 2001) under elevated temperature.

In perennial plants, short-term reserves are located in the leaves as in annual plants, but long-term reserves are located both in perennial organs such as roots and stems, and in reproductive organs. In perennials such as grapevine, elevated temperatures reroute carbon storage toward woody reserves (Sadras and Moran, 2013) and increase respiration, resulting in lower root reserves (Rogiers *et al.*, 2011a). Moreover, temperature elevation alters TNC content (Poudel *et al.*, 2009; Carbonell-Bejerano *et al.*, 2013). The general trend in perennials is thus a global decrease of the long-term storage by temperature elevation.

As an important component of plant yield, fruit set can be hampered by elevated temperature (Rattalino Edreira *et al.*, 2011; Gupta *et al.*, 2015). In annual plants, seed-set is impacted by elevated temperature during anthesis (Matsui *et al.*, 2001; Prasad *et al.*, 2008; Talukder *et al.*, 2014). In perennials such as grapevine, heat stress during flowering leads to flower abortion (Greer and Weston, 2010). Beyond temperature effects, Ruan *et al.* (2012) have proposed that fruit and seed sets are generally controlled by photo-assimilate availability. This hypothesis is also supported by Lebon *et al.* (2008), who showed the success of grapevine fruit set is determined at anthesis, a key stage during which the plant switches from heterotrophy to autotrophy. Consistent with this, Rogiers *et al.* (2011c) showed that photo-assimilatory stresses such as defoliation or shading decrease grapevine fruit set. Thus, fruit set is decreased by both elevated temperature and reduced carbon balance. We therefore

raised the hypothesis that the lower fruit set under elevated temperature is due to an altered carbon balance under those supraoptimal conditions.

In this chapter, we analyzed *Microvine* developmental responses to day and night temperature elevation over two sets of experiments performed in 2011 and 2013 under contrasting conditions. In all cases, the plants were grown in the greenhouse for 3 to 4 months after bud break and then transferred to the growth chamber where they were imposed different thermal charts. In 2011, a warm treatment (+ 8 °C) was imposed during both days and nights (day/night regimes: 22/12 vs. 30/20) whereas in 2013, the experiments were designed to study the influence of day and night temperature variation independently (day/night regimes: 30/15 vs. 25/15 and 30/25). Moreover, the plants were left in the thermal treatment for the same duration in thermal time (400°Cd) or in calendar time (30 days) in 2011 and 2013, respectively. Finally, 2011 plants were older (in terms of time elapsed since bud break and number of visible phytomers), were bearing more leaves (leaf area twice higher than in 2013) and were harboring ripening berries at the onset of the experiment. By contrast, the 2013 plants had lower expanded phytomers with green berries at the onset of the temperature treatments. The former were pruned to the lag phase (*i.e.* the plateau of berry dimension reached before *véraison*) at the beginning of the experiment whereas the later were pruned to flowering (*i.e.* all reproductive organs beyond that stage were removed).

Under these conditions, we examined temperature effects on *Microvine* organogenesis and phenology. Then, we determined the effect of temperature on spatial pattern of organ size, biomass and TNC content. Finally, we analyzed the effect of elevated temperature on *Microvine* fruit set, and attempted to link the variability observed in yield together with the changes on spatial profiles of vegetative and reproductive development and biomass accumulation. In the next chapter (3), we will attempt to relate fruit set to carbon balance using gas exchange measurements and a simple model to infer carbon balance of *Microvine* in these various thermal charts.

II. Materials & Methods

III.1. Plant material and growing conditions

Five experiments were conducted on two-year-old own-rooted potted *Microvines* in 2011 (*Exp. 1, 2*) and in 2013 (*Exp. 6, 7 and 8*) in growth rooms at Montpellier SupAgro-INRA campus (see general materials and methods, Table 1). Plants were initially grown, up to 30 to 55 unfolded leaves, under control climatic conditions in greenhouse (*i.e.* day/night temperatures of 25°C/15°C; VPD of 1.28 kPa and daily PAR over a 14-hours photoperiod of 19.2 mol.m⁻².d⁻¹). Then, contrasted temperatures treatments were applied in growth rooms of 1m² (*Exp. 1, 2, 6 & 7*) or 20m² (*Exp. 8*). Temperature



Figure 1: *Microvine* cleaned root system at the end of the experiment (2 years old ML1 plants).



Figure 2: *Microvine* coulure measurement device. Net on bunches were placed on P1 phytomers before flowering in order to retain dropped flowers and berries due to fruit set failure.

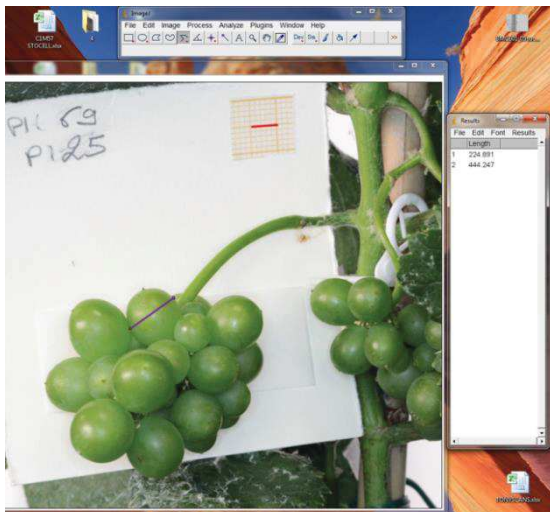


Figure 3: *Microvine* berry diameter determination, using ImageJ software (Rasband , National Institutes of Health, USA). Red line represent the 1 cm scale measured on the image, purple line represent the measured berry diameter.

treatments lasted 2-months for *Exp. 1* and 1-month for *Exp. 2, 6, 7 & 8*. Day/night temperatures were set to reach 22°C/12°C and 30°C/20°C, respectively for *Exp. 1* and 2. For *Exp. 6, 7 and 8*, they were set to reach 30/15°C, 30/25°C and 25/15°C, respectively. Other climatic variables were similar for all experiments in 2011 and 2013. Average daily VPD ranged from 0.7 kPa for *Exp. 1* to 0.96 kPa for *Exp. 7*. Average daily PAR over a 14-hours photoperiod was 19-19.5 mol.m⁻².d⁻¹ for all *Exp.* Crop load control consisted in removing clusters beyond mid-flowering at T0 for *Exp. 6* to 8 or beyond the lag phase at T0 for *Exp. 1 & 2*, thus corresponding to the ‘All. Inflo’ treatment in general materials and methods Table 1.

III.2. Development and growth measurements at the plant level

The date of budburst (modified E.L. stage 4; Coombe, 1995), was assessed from buds observations twice a week on each plant for all *Exp.* (see general materials and methods, Table 2). Then, the number of unfolded phytomers was counted twice a week from the beginning (T0) to the end (Tf) of the experiments in growth chambers. A phytomer was considered unfolded when the two foliar lobes separated by the main vein were in the same phyllotaxic plan. The phyllochron was calculated for each plant from these measurements, as detailed in chapter 1.

The total plant leaf area and the total flower and berry numbers were determined at T0 and Tf in all *Exp.* These variables were obtained from the sum of individual leaf area and from flowers or berries numbers at each phytomer position (see below). The last PI lignified was noted at Tf (LLPI).

The leaf to fruit ratio (L:F), *i.e.* the ratio between total plant leaf area (m²) and the total flower and berries fresh weight (kg), and the plant root to shoot dry weights were determined at Tf in *Exp. 6* to 8 (R:S). For this purpose, total berry fresh weight and total shoot dry weight were calculated from the sum of all berries weight or all above organs weights (leaves, internodes, rachis, flowers and berries) at each phytomer level (see below). The entire root systems were cleaned and oven-dried at 60°C for 7 days (Fig. 1). Total root dry weight was then measured (R0_MS). Dry root systems were then ground with a Retsch Ultra Centrifugal Mill ZM200 (Retsch, Dusseldorf, Germany) and stored in a dry compartment for further carbohydrate assays.

III.2. Development and growth measurements at phytomer levels

Spatial development and growth along the proleptic axis were described both at T0 and at Tf in all experiments (*Exp. 1* to 2 & 6 to 8; see general materials and methods, Table 2). The presence of any cluster at each P1 and P2 phytomer position (P0 phytomer bearing no inflorescence) was recorded. Flower buds and berry numbers per cluster were counted from non-destructive observations on attached cluster at T0. Destructive counting of flower and berries were performed on non-attached clusters at Tf. In *Exp. 6*, nets were used to collect and count the aborted inflorescences, flower buds, flowers and berries over the one-month period in growth chamber (Fig. 2). Nets were positioned on

Table 1: PCA variables description. Highlighted variables are related to inflorescence abortion.

PCA variable	Description	period	Year
LA_T0	Plant total leaf area	T0	2011, 2013
F&Bnb_T0	Plant total flower and berry number	T0	2011, 2013
Id-PI20_T0	Internode PI20 diameter	T0	2011, 2013
L:F	Leaf to fruit ratio	TF	2011, 2013
AZL	Inflorescence abscission zone length	TF	2011, 2013
AMPI	Median PI of Abortion Zone	TF	2011, 2013
Abs.rate	Plant inflorescence abscission rate	TF	2011, 2013
Ro_MS	Root system total dry weight	TF	2013
R:S	Root: Shoot ratio	TF	2013
Ro_TNC	Root total non structural carbohydrates content	TF	2013
I-PI10_DW	Internode PI10 dry weight	TF	2011, 2013
I-PI10_d	Internode PI10 diameter	TF	2011, 2013
I-PI10_TNC	Internode PI10 TNC content	TF	2011, 2013
LLPI	Last PI lignified	TF	2011, 2013
I-PI40_DW	Internode PI40 dry weight	TF	2011, 2013
I-PI40_diam	Internode PI40 diameter	TF	2011, 2013
I-PI40_TNC	Internode PI40 TNC content	TF	2011, 2013
L-PI10_DW	Leaf PI10 dry weight	TF	2011, 2013
L-PI10_SLA	Leaf PI10 SLA	TF	2011, 2013
L-PI10_TNC	Leaf PI10 TNC content	TF	2011, 2013
R-PI10_DW	Rachis PI10 dry weight	TF	2011, 2013
R-PI10_TNC	Rachis PI10 TNC content	TF	2011, 2013
R-50flo+12PI_DW	Rachis 50% flo + 12 PI dry weight	TF	2011, 2013
R-50flo+12PI_TNC	Rachis 50% flo + 12 PI TNC content	TF	2011, 2013
B-50flo+12PI_DW	Berries 50% flo + 12 PI dry weight	TF	2011, 2013
B-50flo+12PI_TSS	Berries 50% flo + 12 PI TSS	TF	2011
B-50flo+27PI_DW	Berries 50% flo + 27 PI dry weight	TF	2011, 2013
B-50flo+27PI_TSS	Berries 50% flo + 27 PI TSS	TF	2011
DT°	Day temperature		
NT°	Night temperature		
AvgT°	Diel Average temperature		

each inflorescence as soon as flowers were separated (modified E.L., stage 17) and removed at pea size stage (modified E.L. stage 31). For all *Exp.*, phytomer positions where mid-flowering (50% of open flowers, modified E.L. stage 23; Coombe, 1995) and the onset of véraison (5% of véraison, modified E.L. stage 35; Coombe, 1995) occurred, together with the limit of cane maturation (last lignified PI, LLPI), were determined at T0 and Tf.

The diameters of 10 to 40 median berries per cluster were measured at T0 and Tf on all phytomers beyond the one which reached mid-flowering, at T0 and Tf in all *Exp.* A digital caliper was used for that purpose in *Exp.* 1 and 2. In *Exp.* 6 to 8, pictures of the clusters were taken with a Canon EOS 600D and a macro lens 100 mm ISO 1600 (CANON, Courbevoie, FRANCE). Berry diameters were determined from these pictures (Fig. 3), using ImageJ software (Rasband, National Institutes of Health, USA). In addition, the leaf main vein length and the internode lengths were measured at each phytomer position in all *Exp.* Internodes diameters were measured on P1 phytomers only. Berry volume, leaf area and internode volumes were calculated from these measurements, as described in chapter 1.

Berries, inflorescence rachis, leaf disks and internodes were collected at each P1 phytomer and weighted at Tf for all experiments. Part of the leaf disks samples was oven-dried at 60°C during five days for leaf specific area determination. All other samples were frozen and ground in liquid nitrogen. The powders obtained were aliquoted for dry weight measurements, and stored at -80°C for further biochemical analyses.

III.3. Biochemical analyses

Berry glucose and fructose concentrations for *Exp.* 1 & 2 were assayed by HPLC (Rienth *et al.*, 2014). Leaf, internodes, rachis and roots for *Exp.* 1 to 8 were assayed for glucose, fructose, sucrose and starch concentrations using enzymatic assays as described by Gibon *et al.* 2009. Total soluble sugars (TSS) concentration was calculated as the sum of glucose, fructose and sucrose concentrations. Total non-structural carbohydrates (TNC) concentration was calculated as the sum of TSS and starch concentrations. Total soluble sugars and starch contents per organ were calculated from organ fresh weights or dry weight.

III.4. Calculations of inflorescence abortion rates

Plant inflorescence abortion rate was calculated by considering separately two zones on the proleptic axes, based on their plastochron indexes (PI, see determination in chapter 1). The distal zone included the PI differentiated after T0 (PI_{new}), while the proximal zone included the PI bearing inflorescences prior to the flowering stage at T0 ($PI_{T0 < flo}$). The inflorescence abortion rate (Abs.rate) was determined from the ratio of the actual inflorescences number to the potential inflorescences number within the two zones at TF and T0 as follow (eq. 1):

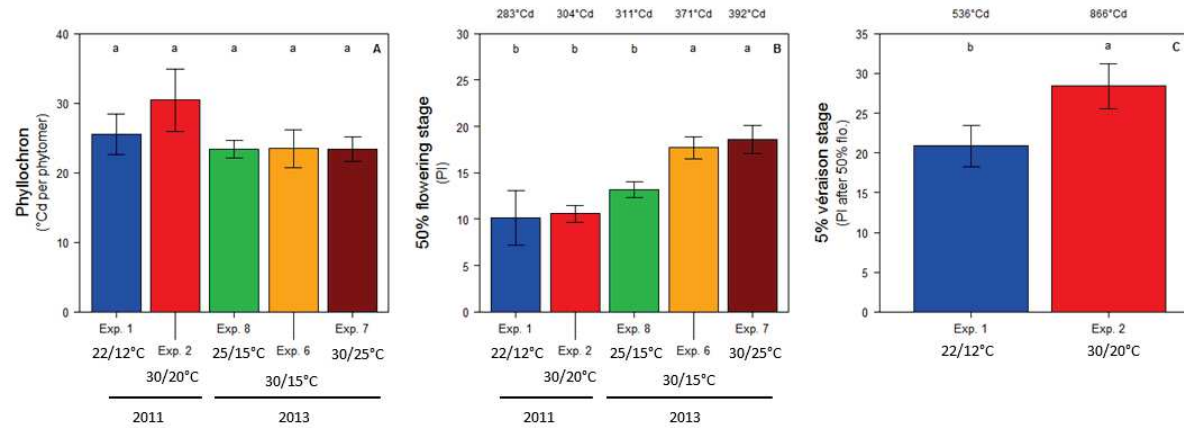


Figure 4: Phyllochron and phenology of *Microvine* during the five experiments. **(A)** The individual phyllochron for each *Exp.* **(B)** Spatial location of flowering stage (50% of open flowers) expressed in plastochron index. **(C)** Spatial location of véraison (5% of coloured berries) expressed in PI after 50% flowering. Letters represent significant differences at $P = 0.05$. Bars represent standard deviation. Each value is the average of all plants (8 to 10 plants, depending on *Exp.*). Values above B and C correspond to bar values converted into thermal time.

$$Abs.rate (\%) = \frac{Actual\ inflo.number\ (PI_{new})_{Tf} + Actual\ inflo.number\ (PI_{T0} < flo)_{Tf}}{Potential\ inflo.number\ (PI_{new})_{Tf} + Actual\ inflo.number\ (PI_{T0} < flo)_{T0}} \times 100$$

(eq. 1)

The abscission zone (AZ) was defined as the zone from the first to the last PI on the proleptic axis where inflorescence aborted, the length of this zone was calculated in PI (AZL). The median PI of AZ (AMPI) was also determined.

III.5. Statistical analyses

Statistical analyses were performed with R (R2.13.2, Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) (see general materials and methods). Spatial changes in leaf area along the proleptic axis were fitted for all *Exp.* 1 to 2 and 6 to 8 using a sigmoidal-type fitting model, with the conventional least squares method (see chapter 1). The maximum leaf area and leaf expansion duration were determined from the parameters of the model. Loess (locally weighted) smoothing was used for TNC graph charts. Pair-correlations between all plant variables were analyzed based on the Pearson's *r* value. Unbiased *r* value for each pair was computed by bootstrap resampling, based on 1,000 bootstrap replicates. The non-parametric approximate bootstrap correlations *r* were then calculated at 0.999 confidence levels. In addition, a principal component analysis (PCA) was performed to study the relationships between plant variables and temperature among the *Exp.* of 2011 (*Exp.* 1 and 2) or 2013 (*Exp.* 6 to 8). The variables used for the PCA are presented in Table 1.

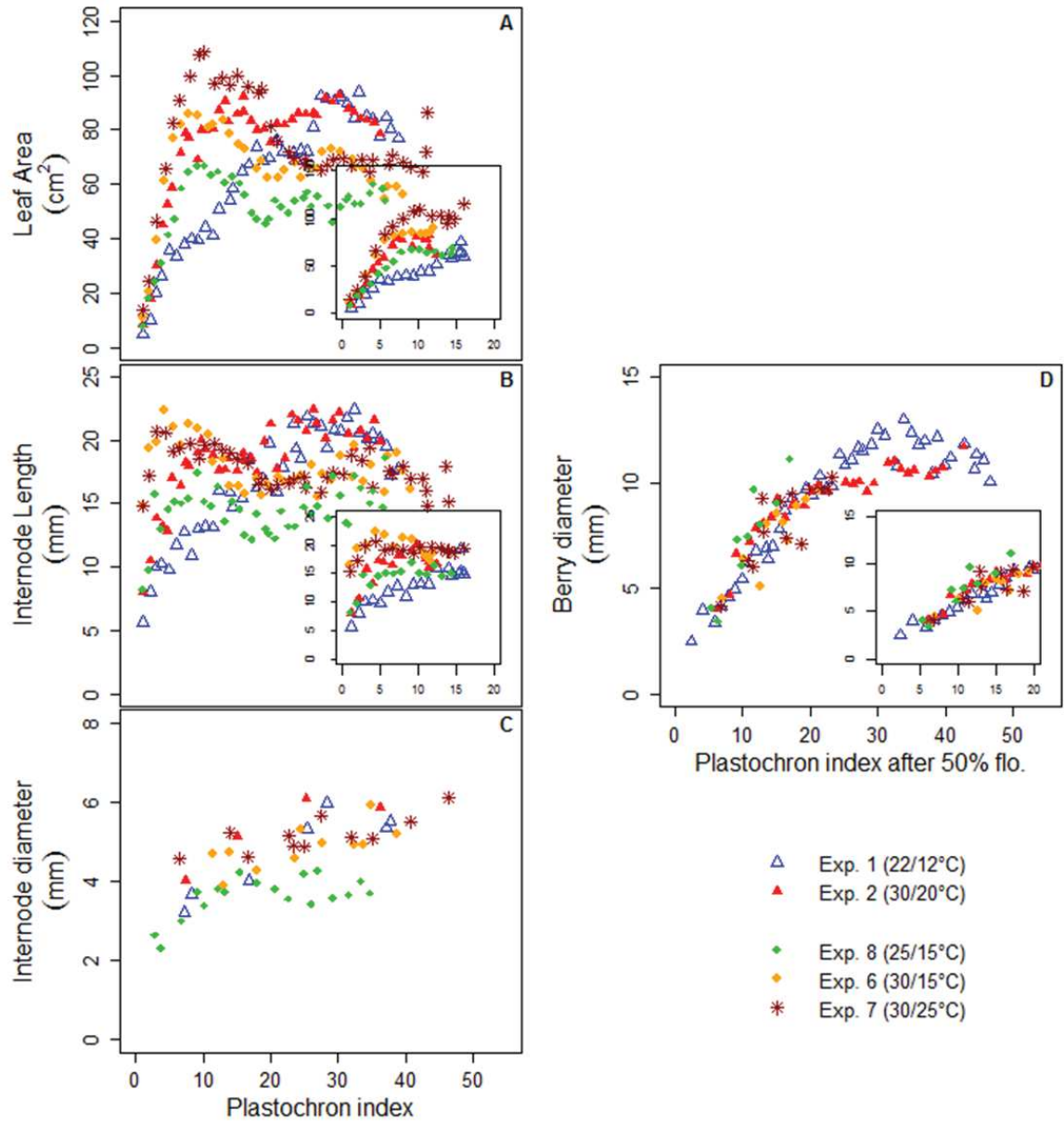


Figure 5: Organ size spatial profiles. Leaf area (A), internode length (B) and diameter (C) are expressed as a function of plastochron index. Berry diameter is expressed as a function of plastochron index after 50% flowering (50% of open flowers) (D). Each point is the average of 8 to 10 plants and of at least 3 clusters. Inserts in A, B and D correspond to plastochron indexes emitted during experiments.

III. Results

The rate of vegetative development was neither affected by years nor by temperature, in contrast with reproductive development

The rate of vegetative development (as measured by the time between the emergence of two successive leaves, *i.e.* the phyllocron) of the *Microvine* was unexpectedly stable, reaching around 25 °Cd irrespective of temperature treatment or experiment (Fig. 4A). In contrast, reproductive development was severely affected by temperature and experiments (Fig. 4B, 4C). Based on the spatial patterns observed at harvest, flowering (recorded when half of the flowers are open) occurred between plastochron index (PI) 10 to 18 depending on the experiment. It occurred at a lower PI in 2011 (10 to 11) as compared to 2013 (13 to 18) and it was moved towards higher PI under elevated temperatures in 2013 (13 to 18). In addition, *véraison* (onset of ripening, observed only in 2011 since the 2013 experiments were not designed to reach *véraison*) was observed 20 and 28 PI after flowering at low (22°C/12°C, *Exp.* 1) and high (30°C/20°C) respectively. In conclusion, elevated temperature delayed reproductive development, either through delayed flowering, or through delayed *véraison*, but apparently not both (based on 2011 data).

Similarities observed in phyllochron allowed us to directly compare spatial profiles from different experiments when expressed in PI and thus infer temporal patterns from spatial patterns (see Chap I). The conversion of PI into thermal time after emergence was not deemed necessary to compare treatments. In order to simplify the analyses and avoid errors due to scale conversion, PI-scaled spatial profiles were thus left unchanged. Moreover, because reproductive development was slowed down and delayed under elevated temperature, all inter-treatments comparisons of reproductive development performed later in this chapter, were re-scaled to PI after flowering.

Spatial profiles of organ size, biomass and TNC concentration were altered by temperature

Whole plant spatial profiles expressed along a PI scale were analyzed at harvest for organ (leaf, internodes, inflorescence rachis as well as flower or berry) dimensions (either surface or volume), biomass (dry) and total non-structural carbohydrate (TNC) concentration in each of the 5 experiments performed. Spatial profiles of organ dimensions are shown in Fig. 5. In all cases, profiles can be described in two parts. The first part of the profiles, from PI 1 to 17 (zoomed in insets in Fig 5), corresponds to organs produced during the thermal treatment. In this first part, leaf area and internode length and diameter showed a strong and consistent (with similar trends between years) effect of temperature, with warmest experiments showing largest organ size and, in the case of leaf area and internode length, a steeper increase along the PI-scale. A sigmoid curve was fitted to the data corresponding to those leaves produced during the thermal treatment in order to infer leaf expansion

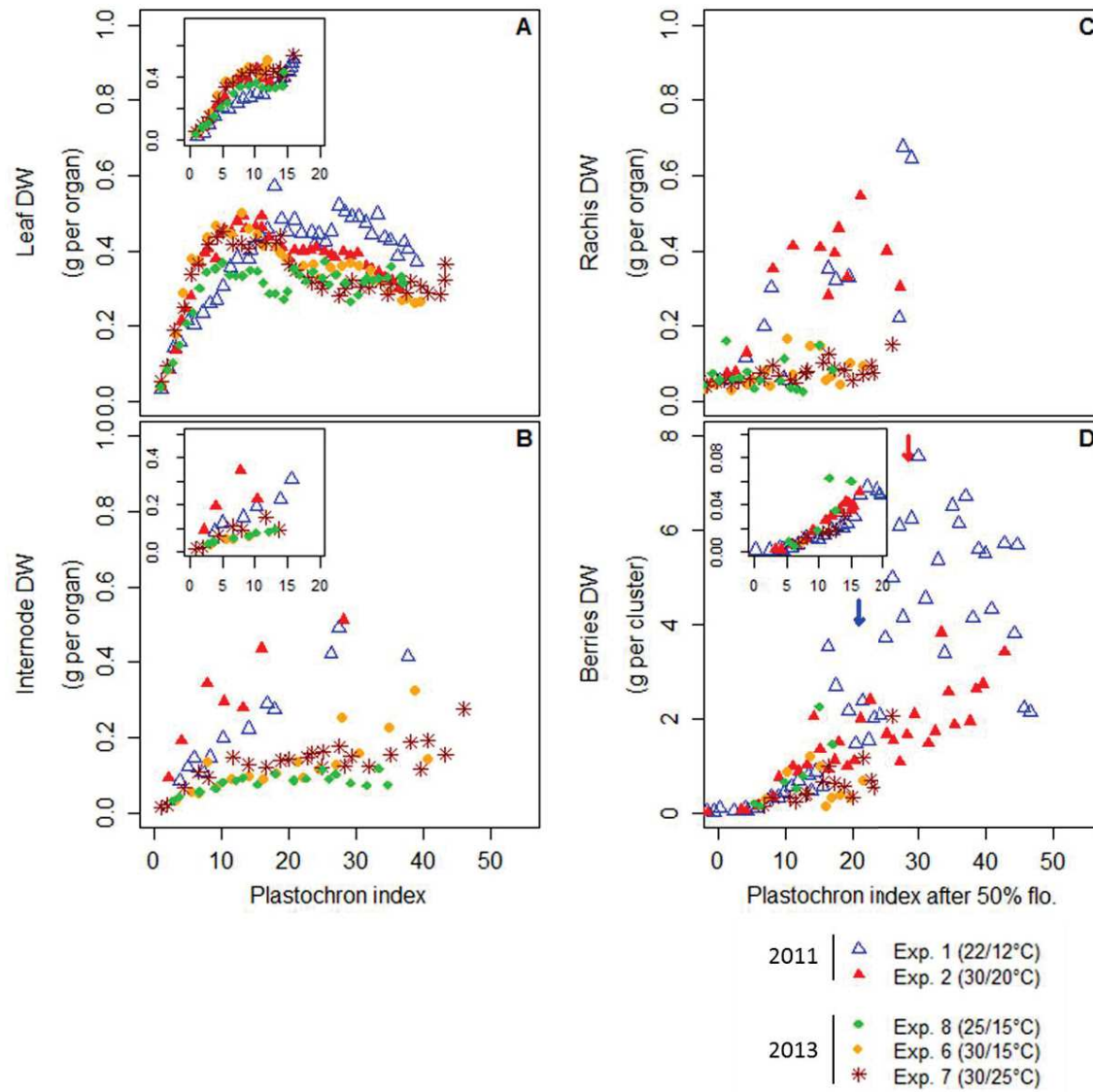


Figure 6: Organ biomass spatial profiles. Leaf (A) and internode (B) dry weights are expressed as a function of plastochron index. Rachis (C) and berries dry weight are expressed as a function of plastochron index after 50% flowering (50% of open flowers) (D). Each point is the average of 8 to 10 plants and of at least 3 clusters. Arrows represent the onset of ripening (5% of berries coloured). Inserts in A, B and D correspond to plastochron indexes emitted during experiments.

rate and duration (Fig. 9). Consistent with observation of raw data, maximal leaf area was increased by elevated temperature (Fig. 9A). It ranged between 45 cm² in *Exp.* 1 (the coolest treatment) and 110 cm² in *Exp.* 7 (the warmest treatment with the highest night temperature). By contrast, leaf expansion duration was unchanged by temperature, and showed an average of 7.5 PI (Fig. 9B). Altogether, these data suggest an increase of leaf expansion rate in response to temperature.

Leaf and internode biomass were also evaluated along the PI scale (Fig. 6), with a focus on the first 17 PI (Inset). In the first part of the profiles (PI < 17), the warmest experiments led to heavier leaves all along the PI scale. However, the average biomass at the plateau of the spatial pattern (around PI 13) was not significantly different in the various treatments (Fig. 7) because biomass accumulation was prolonged for a longer period in the coldest treatments. In the same zone, a tendency towards heavier internode with elevated temperature was also detected but the most striking difference was found between years with much heavier organs in 2011 (Fig. 6B and 7B).

The second part of the profiles (after ~ PI 17) corresponds to organs that were already present at the beginning of the experiment and, in the case of leaves and internode, already had reached their final dimension after PI 20. Leaf area profiles were very similar after PI 20 for plants of both treatments performed in 2011 and for 2 of the 3 treatments performed in 2013. However, there were clear differences between years with leaves being larger in 2011 than in 2013. The same essentially held true for internode dimensions.

As expected from leaf area and biomass, specific leaf area (leaf area per unit of leaf mass) consistently increased under elevated temperature all over the PI produced during the thermal treatments (Fig. 8). The SLA reached by mature leaves produced during the thermal treatment followed the same trend (Fig. 9C). However, the ranking was not consistent across years since the warmest treatment in 2011 reached the same value than the coldest treatment in 2013. It is noteworthy that SLA was strongly increased by night temperature at the same day temperature (*Exp.* 7 vs. *Exp.* 8) whereas an increase of the day temperature at the same night temperature (*Exp.* 8 vs. *Exp.* 6) had no effect. Internode density was strongly affected by the year of the experiment, being 3 times higher in 2011 as compared to 2013. By contrast, no clear trend with temperature was detected.

Remarkably, berry diameter followed a consistent pattern of increase as a function of PI after flowering independently of year or thermal regime (Fig. 5D). Berry biomass pattern was little affected by temperature whereas rachis biomass patterns were similar to internode biomass patterns, with a strong difference between 2011 and 2013. This effect of the year occurred late in development since rachis DW at flowering were independent of year or thermal regimes (Fig 7D). While early patterns of berries DW were similar between treatments and years (Fig. 5D and 6D), strong differences occurred

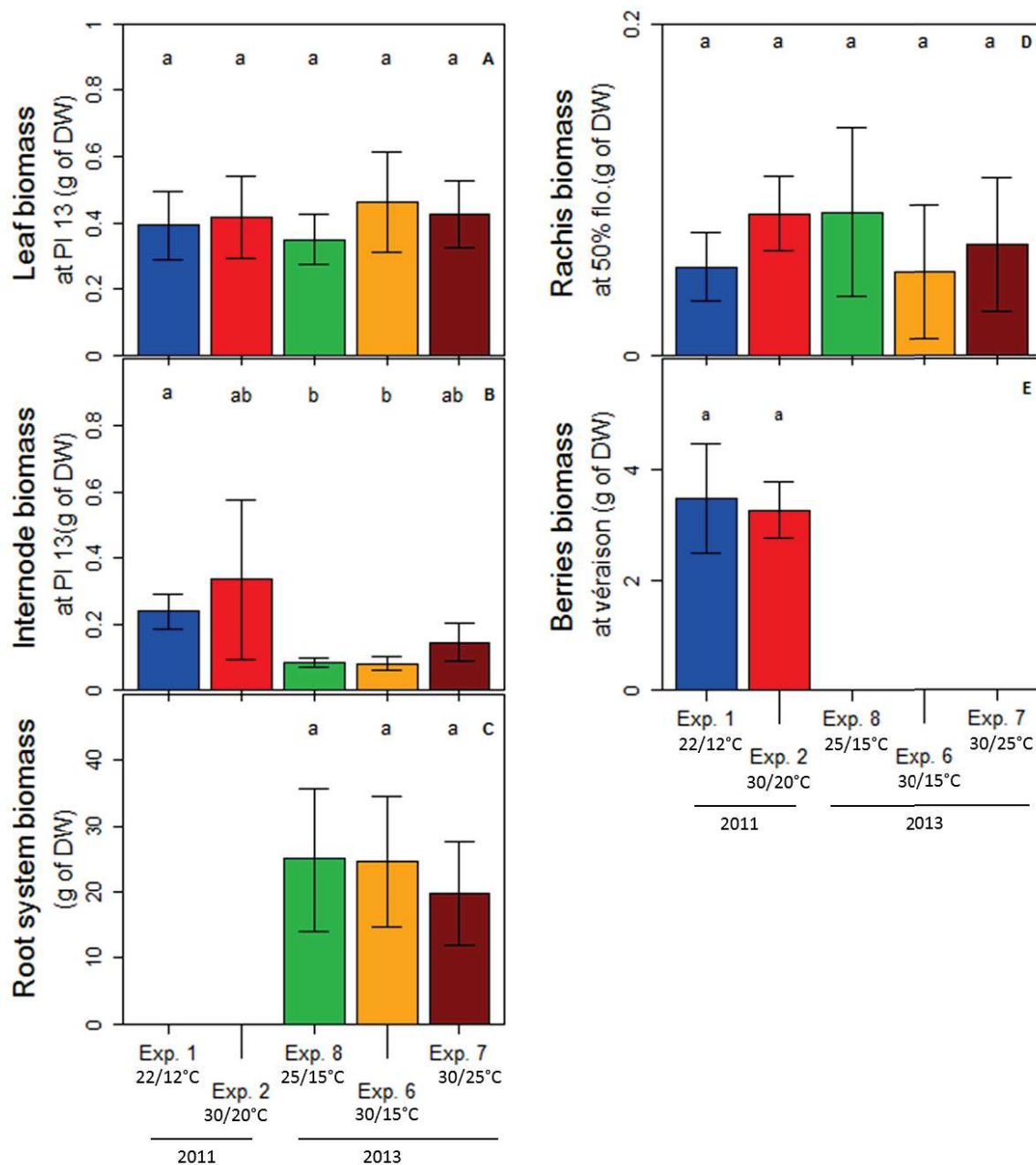


Figure 7: Biomass partitioning response to temperature. Leaf (A), internode (B), rachis (D), berries (E) and total root system (D) biomass. Leaf and Internodes biomasses are the average of the five oldest organs emitted during experiments (PI 11 to 15). Rachis biomasses are the average of the five plastochron index surrounding 50% flowering ($n > 6$). Berries biomasses are the average of the five plastochron index surrounding véraison (5% of berry colored) in Exp. 1 and Exp. 2 ($n > 6$). Letters represent significant differences at $P = 0.05$. Bars represent standard deviation.

later in development with large increases under the coolest temperature regimes. This was particularly striking in 2011 with berry growth and biomass accumulation occurring at lower PI in the coolest treatment (Fig. 5D and 6D). As a consequence and as already highlighted, *véraison* occurred at much lower PI in the low as compared to the high temperature treatment in 2011. By contrast, berry biomass at *véraison* was not affected by temperature (Fig. 7E).

Finally, root biomass, measured in 2013 at the end of the experiment was not statistically different between the 3 thermal regimes (Fig. 7C).

To conclude, several trends were observed:

- (i) a consistent increase of vegetative organ dimension with elevated temperature, not fully compensated by an increase in biomass in leaves (leading to a much increased SLA), but compensated in internodes (leading to an unchanged tissue density)
- (ii) no effect of either temperature or year on the early pattern on berry volumetric increase
- (iii) a massive year effect on vegetative organ biomass as observed on organs produced before (leaves and internodes) or during (rachis) the thermal treatments
- (iv) a delay in biomass increase imposed by elevated temperature, but similar berries biomass at *véraison*

Total non-structural carbohydrates (TNC) concentrations were measured in all aerial, vegetative and reproductive organs of each experiment in both years (Fig. 10 to 14; Appendix 1, Fig. 1). Moreover, TNC were measured in roots in 2013 (Fig. 14C). TNC were measured as individual carbohydrates, glucose, fructose sucrose and starch. All data presented here were measured at the end of the night, as very little differences were observed in leaves between measurements realized at the end of the day or the night (Appendix 1, Fig. 1). As *véraison* was not reached by the end of the thermal treatment in 2013, no TNC concentration in berries was measured that year. The first picture emerging from these data is the massive difference between 2011 and 2013. In 2011, leaf TNC concentration was about 100 mg . g⁻¹ DW (*i.e.* close to 10%) irrespective of the treatment, while it was around 20-30 mg . g⁻¹ DW in 2013 (Fig. 10). Leaf sugar was essentially sucrose in both years. Internodes essentially concentrated starch in 2011 and more balanced proportion of sugars in 2013 with a dramatic accumulation in older internodes in the cold treatment in 2011 only (Fig. 11). Rachis essentially behaved as internodes suggesting there is a strong coupling between these two organs at a given phytomer (Fig. 12). Moreover, for all organs except leaves, the temperature effect was clear-cut and massive in 2011, with internodes, rachis and berries showing much higher TNC concentration at low compared to elevated temperature, with an increased accumulation towards older phytomers (Fig. 11 to 13). For instance, in

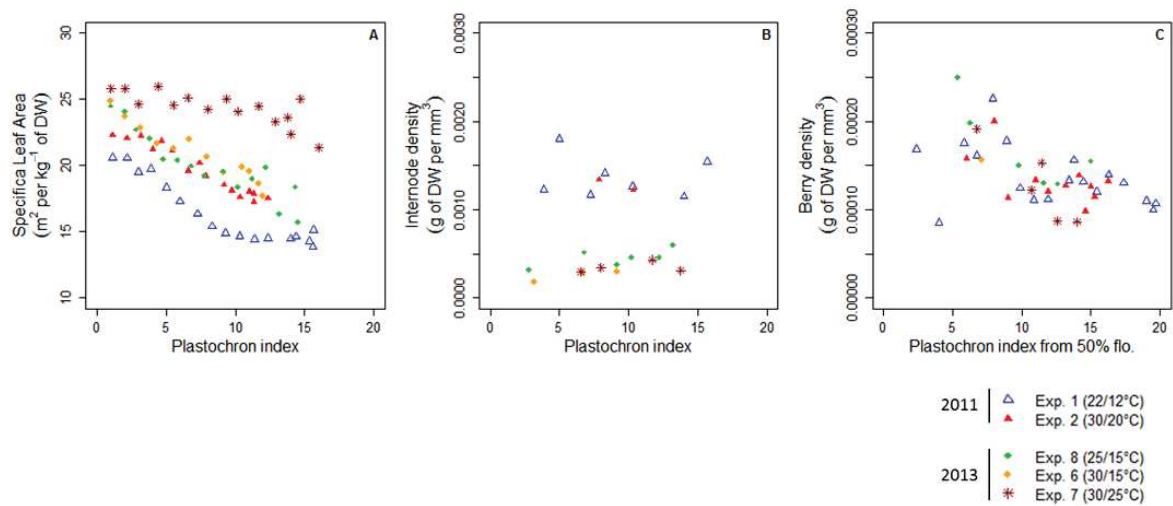


Figure 8: Organ density spatial profiles of plastochron indexes emitted during experiments. Specific leaf area (A) and internode density (B) are expressed as a function of plastochron index. Berry density (C) is expressed as a function of plastochron index after 50% flowering (50% of open flowers). Each point is the average of 8 to 10 plants and of all the berries of at least 3 clusters.

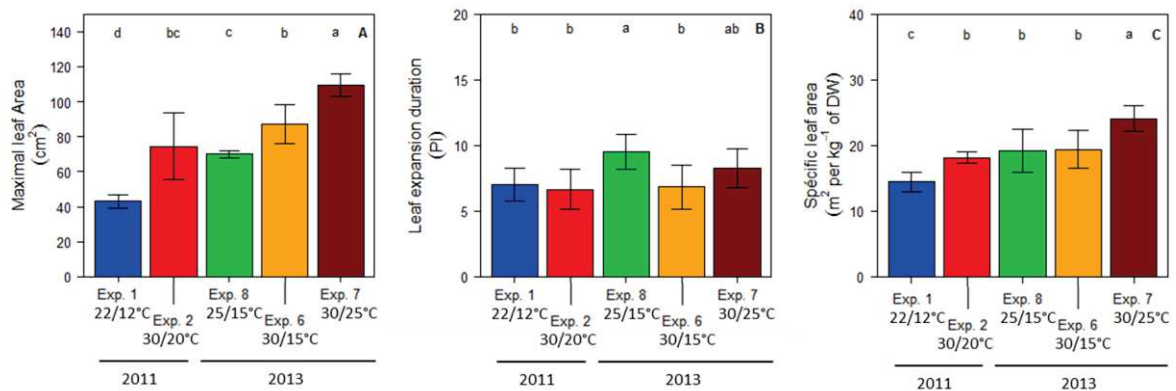


Figure 9: Leaf expansion and specific leaf area response to temperature. Maximal leaf area (A) and leaf expansion duration (B) were obtained from sigmoidal fittings of spatial profiles of leaf area of organ emitted during experiments ($n > 6$). Specific leaf area is the average of fully expanded leaves of organ emitted during experiments (PI 11 to 15, $n > 6$; C). Letters represent significant differences at $P = 0.05$. Bars represent standard deviation.

Exp. 1, TNC concentration in internodes reached average values of 75 mg.g⁻¹ DW and 10 mg.g⁻¹ DW around PI 20, and of 100 mg.g⁻¹ DW and 40 mg.g⁻¹ DW, around PI 45 in the low and high temperature treatment, respectively. Only leaves under high temperatures showed slightly higher concentrations at younger phytomers as compared to low temperatures (Fig. 10). Berries increased in TNC (glucose and fructose, since sucrose and starch were not present at quantifiable levels) at much younger phytomers (ie faster) in the low temperature as compared to the high temperature treatment (Fig. 13).

In 2013, the TNC picture was dramatically different. Leaf TNC were marginally affected by thermal regime although there was a trend towards lower concentration in the coldest treatment (Fig. 10C, 10D and 10E). By contrast, both internode and rachis patterns were indistinguishable whatever the thermal regime (Fig. 11 and 12). For all measured organs, starch content was higher in 2011 than in 2013, representing for example 85 % of internodes TNC in 2011 but only 20% of TNC in 2013 (Appendix 1, Fig. 3 to 5).

In order to compare concentrations for similar growth stages of each organ, TNC were compared in the oldest leaves and internodes produced during the thermal regime (*i.e.* at PI 11-15), rachis TNC were compared at flowering, and berries TNC were compared at *véraison* (Fig. 14). Beyond the large year effect (Fig. 14), a positive effect of temperature was detected on leaves in 2011, while a negative effect of temperature was found on internodes and rachis in the same year (due to massive accumulation of starch). As in the case of DW, berries TNC at *véraison* were unaffected by temperature (Fig. 14E). Finally, root TNC (measured in 2013 only; Fig. 14C) concentration was lowest under the warmest thermal regime.

Fruitfulness was lower under elevated temperatures, due to inflorescences abortions

Coulure, defined by flower and berry abscission, was not observed in *Microvine*. Indeed, flower and berry abscission, collected using a net attached to bunches (Fig. 2), reached an average rate of 1% in *Exp. 6* (data not shown), and was considered as negligible. By contrast, whole inflorescence abortion was observed. The comparison of spatial patterns at harvest and before temperature treatment indicated that inflorescences sensitivity to abortion was high before mid-flowering but insignificant thereafter (Fig. 15A). Notably, elevated temperatures increased inflorescence abortion from PI 3 to PI 35, depending on the number of unfolded phytomers during the temperature treatment (Fig. 15A). The rate of inflorescence abortion was increased with elevated temperatures and this trend could be seen in both years (Fig. 15B). Inflorescence abortion ranged from 3% in *Exp. 8* up to 28 % in *Exp. 2*. As there was no compensation through flower or berry numbers on the remaining inflorescences (data not shown), about one quarter of the potential yield was lost during *Exp. 2*. The abscission zone varied in position and length between years. In *Exp. 1* and 2 (2011), the median PI of the abscission zone was PI 8 while in *Exp. 6* to 8 (2013) it was PI 18 (Fig. 15A). Moreover, there was a trend towards an

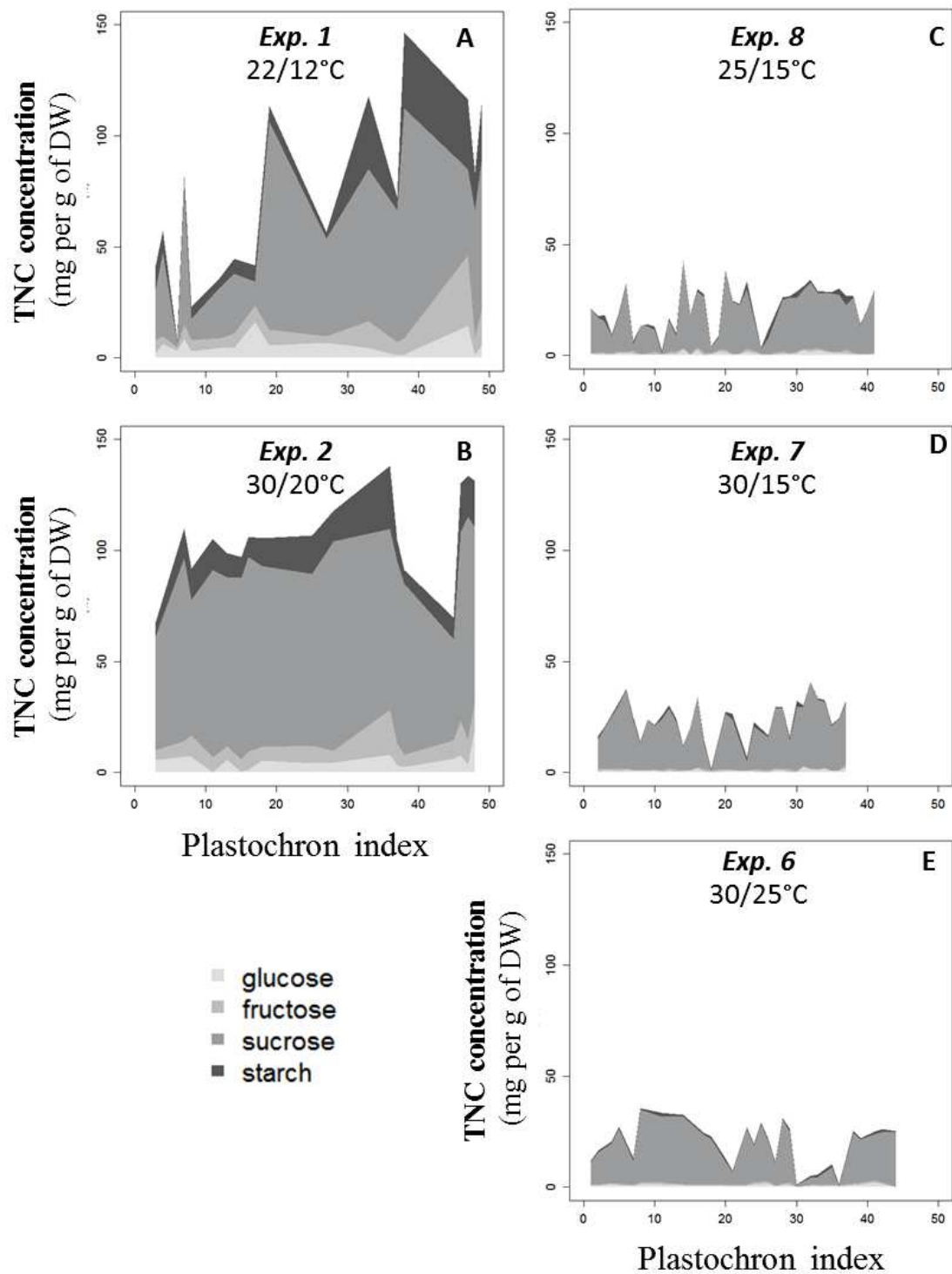


Figure 10: Total non-structural carbohydrates (TNC) concentrations in leaves in Exp. 1 (A), 2 (B), 8 (C), 6 (D) and 7 (E) expressed as a function of plastochron index. TNC concentrations are represented by average values. Each point is the average of at least 3 plants.

increase of the length of the abscission zone by increased by temperature which could be observed in both years.

Plants were different at the onset of the experiments in 2011 and 2013

Considering the differences observed between 2011 and 2013 experiments for a large spectrum of the responses to temperature, we suspected that differences in plant vigor between the years could be involved. Total leaf area were different among plants and experiments at T0 (the beginning of the experiment, Fig. 16A, Table 2), although plant leaf area was manually homogenized 2 days before each experiment. The number of phytomers, that depended on the time elapsed between budbreak and the beginning of the experiment, was different between years (58 in 2011 and 32 in 2013, Fig. 16A, Table 2). Moreover, more clusters at older PI were left resulting in more flowers and more berries present at the beginning of the thermal treatment in 2011 as compared to 2013 (500 flowers and berries vs. 50 flowers and berries, Fig. 16B). Furthermore, crop load through cluster removal was differentially managed between 2011 and 2013. In 2011, the last cluster kept was at the lag phase, just before *véraison*, while in 2013 the last cluster kept was at mid-flowering. This difference was about 20 phytomers, corresponding to 13 clusters or almost 390 berries. In addition, in 2013, some plants presented hardly any quantifiable flowers or berries and showed aborted inflorescences below PI 6, the rank where floral buds are big enough to be counted, enabling any quantification of fruitfulness. As a result of plant height and vigor differences, the total internode volume was dramatically different, 20 dm³ and 8 dm³ in 2011 and 2013 respectively.

Day vs. Night temperature

The 2013 experiments open the possibility to compare the effect of day vs. night temperature by comparing *Exp.* 6 and 7 for night temperature and *Exp.* 8 and 6 for day temperature. This synthesis is shown in Tab. 3. It shows that night temperature had less impact on the different variables than day temperature. In particular, inflorescence drop was at least as high under 15°C than 25°C night temperature (Fig. 15), suggesting a 10°C change in night temperature had no effect on the timing of flowering (Fig. 4).

IV. Discussion

Vegetative development is stable under elevated temperatures, but reproductive development is delayed

Microvine phyllochron was stable, irrespective of temperature treatments, and reached about 25°Cd, similarly to grapevine (Lebon *et al.*, 2004b). Stability of phyllochron has been extensively used for 60 years to standardize developmental stages of growing plants (Meicenheimer, 2014) and *Microvine* makes no exception to this rule whatever the thermal treatment. By contrast, reproductive development

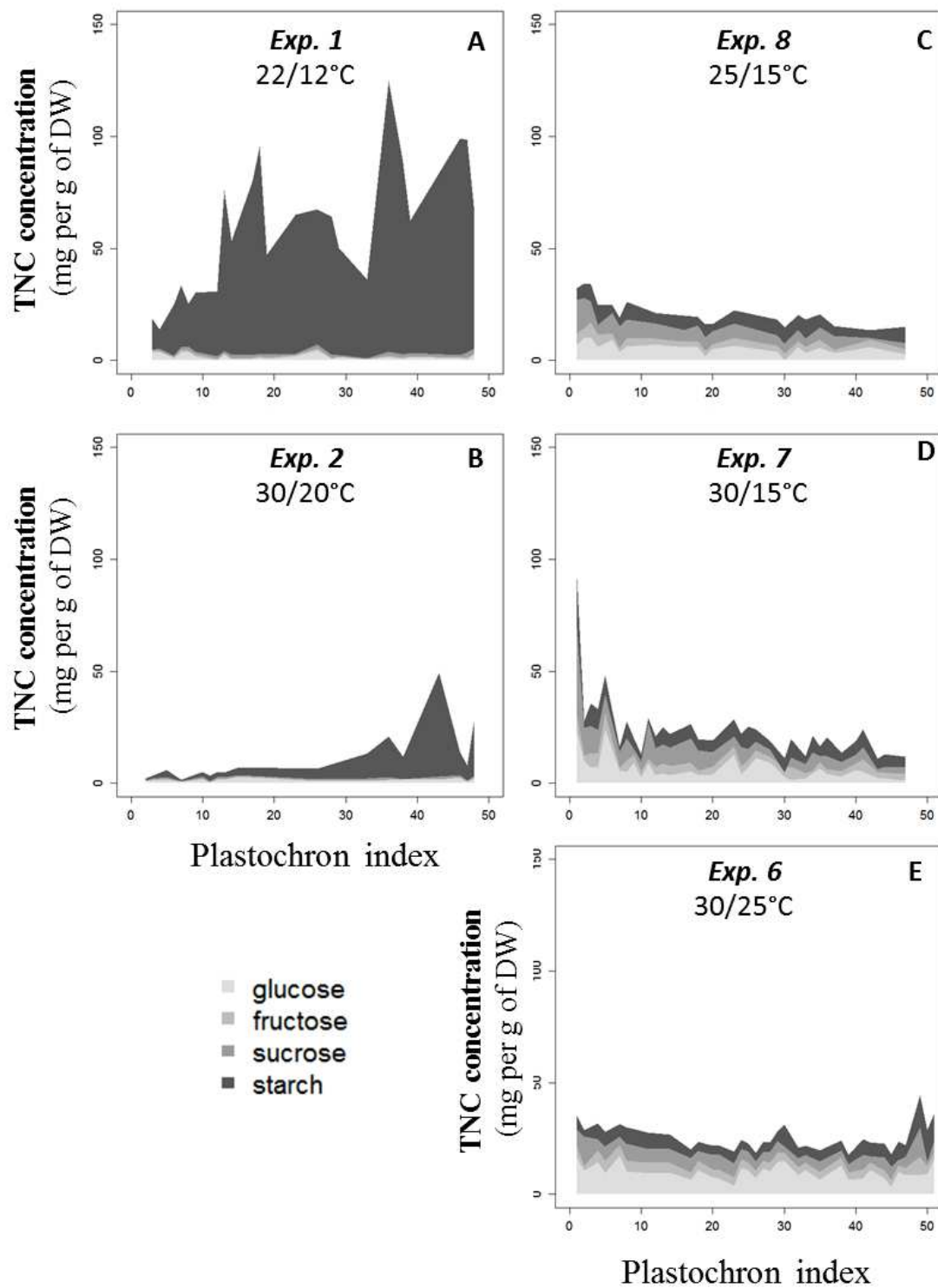


Figure 11: Total non-structural carbohydrates (TNC) concentrations in internodes in Exp. 1 (A), 2 (B), 8 (C), 6 (D) and 7 (E) expressed as a function of plastochron index. TNC concentrations are represented by average values. Each point is the average of at least 3 plants.

was delayed by temperature. Flowering was significantly delayed when expressed in PI and in thermal time but in 2013 plants only. This differential response could be related to the different carbohydrate and/or vigor status between 2011 and 2013 plants, the later showing less internode biomass and density and less TNC in most organs. Thus, elevated temperature could delay flowering only when the plant status is already unfavorable. Moreover, *véraison* in 2011 was also delayed upon an 8°C increase in temperature by as much as 8 PI or 330°Cd. Such a delay in reproductive development under elevated temperature has already been reported tomato (Adams *et al.*, 2001) or strawberry (Civello *et al.*, 1997), pointing out that thermal time is a poor predictor of the time of ripening. In grapevine, the same high temperature treatment has higher impacts when applied towards more advanced phenological stages (Sadras and Moran, 2013). Thus, thermal effects on phenology could be modulated by the interplay between resource-driven growth and temperature-driven development, leading to an enhanced thermal effect (*i.e.* more than expected from the thermal time model) on berry ripening at low source:sink ratio. This interpretation fits well with our data. Finally, Sadras and Petrie (2011a,b) showed that elevated temperature accelerates the onset of ripening according to an expected thermal time model, but not the interval between *véraison* and maturity. This observations fits with the distinction between developmental processes following essentially thermal rules, and those suspected to follow source limitation rules that depend on carbohydrate provision through reserve mobilization and light interception (which is clearly the case of rapid sugar accumulation during ripening).

Elevated temperatures fasten and increase leaf and internode expansion, but not berry growth

The consistent increase of leaf expansion rate, and internode elongation rate and maximum size as a function of temperature was unexpected since the impact of temperature on development was taken into account by representing variables as a function of PI. Indeed, it has been regularly reported that leaf area and internode length increase as a function of thermal time follows essentially invariant patterns both in annuals (Turc and Lecoœur, 1997; Granier and Tardieu, 1998) and in perennials, at least those with indeterminate growth (Lebon *et al.*, 2004b; Dambreville *et al.*, 2013). In the case of leaf, this occurred in the absence of effect on the duration of expansion, suggesting a consistent increase of leaf expansion rate (on a thermal time basis) in response to temperature, again in contradiction with several studies. One possibility is that these responses are the signature of the shade avoidance syndrome. Indeed, it has recently been proposed that elevated temperatures lead to similar phenotypes as the so-called shade avoidance syndrome (de Wit *et al.*, 2014) and that this could contribute to reduce leaf temperature and prevent damage to the leaf metabolic apparatus (Franklin, 2008; Crawford *et al.*, 2012). This syndrome leads to increases in specific leaf area and internode length as observed in our experiments. Moreover, architectural changes induced by elevated temperature and shade avoidances share common signaling pathway, both mediated by PIF transcription factors that regulate auxin biosynthesis (de Wit *et al.*, 2014; Franklin *et al.*, 2014).

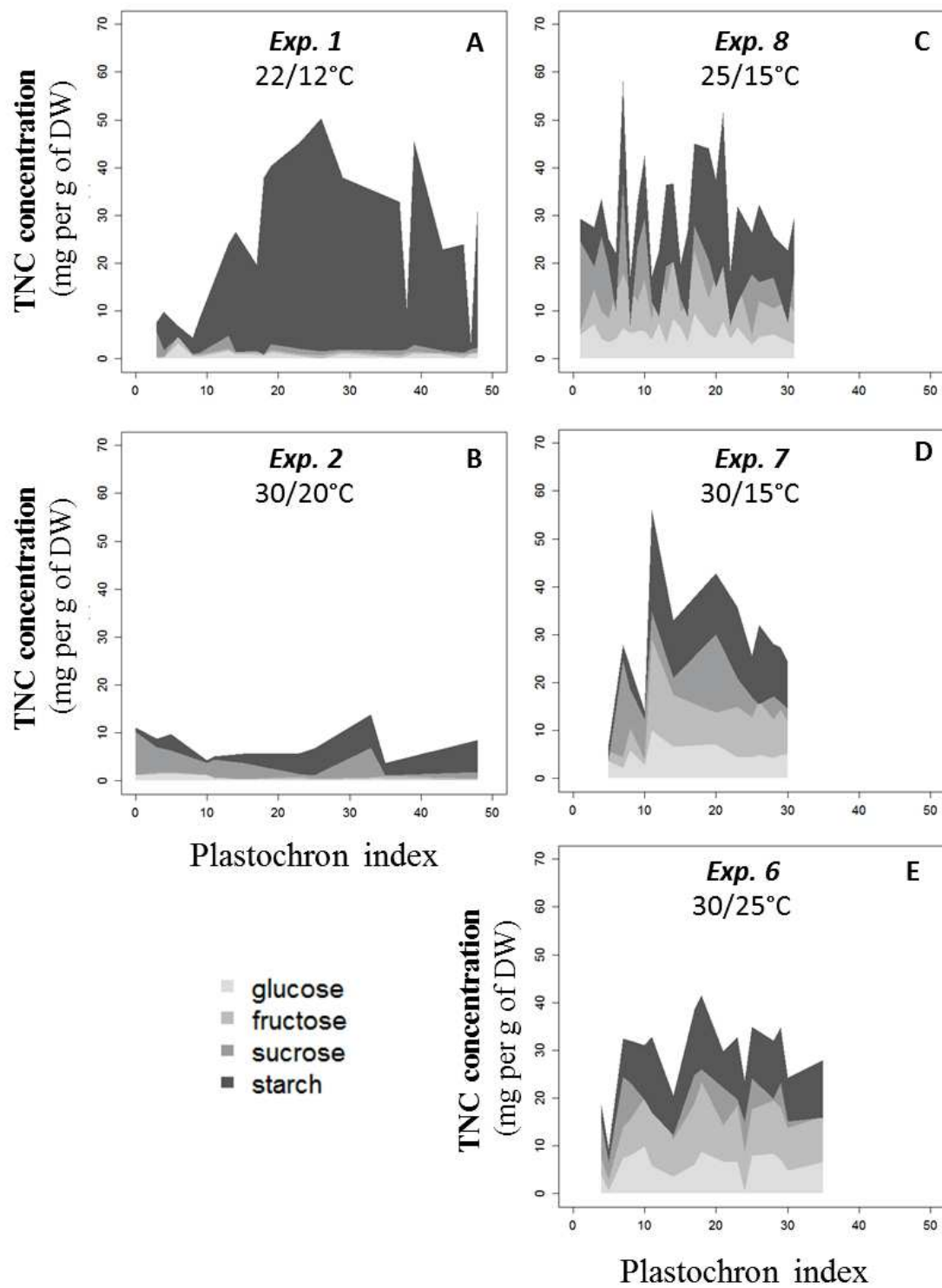


Figure 12: Total non-structural carbohydrates (TNC) concentrations in rachis in Exp. 1 (A), 2 (B), 8 (C), 6 (D) and 7 (E) expressed as a function of plastochron index. TNC concentrations are represented by average values. Each point is the average of at least 3 plants.

Another interpretation could be that gibberellic acid metabolism and sensitivity, involved in the dwarfism of these plants, is regulated by temperature. For instance, in wheat, the GA-related dwarfism induced by a mutation in the *Rht* gene is temperature-dependent (Pereira *et al.*, 2002).

By contrast to leaf area, the regular increase of SLA with average temperature was consistent with literature data (see the multi-species meta-analysis by Poorter *et al.* (2009)). A possible reason for such response could be the differential sensitivity of development and photosynthesis to temperature, the former being less sensitive than the later (Parent *et al.*, 2010; Parent and Tardieu, 2012; Vile *et al.*, 2012). This hypothesis could be true in our case since photosynthesis, on an area basis, was hardly affected by daytime temperatures such as those experienced here (see Chapter 3), while leaf expansion was promoted. This could lead to a ‘dilution’ effect of dry matter into an increased surface and/or volume, SLA reflecting leaf thinness and/or leaf density.

Reproductive organs globally showed different PI patterns as compared to vegetative organs. The constant rate of berry diameter increase as a function of PI (and thus thermal time) suggests that berry diameter increase follows a very robust program of development, independently of carbohydrate supply that was likely to be different among the various thermal regimes. Indeed, in the 30/25 conditions, the rate of organ emergence (that defines the carbohydrate demand) was 0.042 phytomer.°Cd⁻¹ as compared to 0.039 phytomer.°Cd⁻¹ in the coolest conditions (22/12°C) while photosynthesis was essentially unaffected by temperature (see Chapter 3) and respiration was almost doubled under the highest temperature regime. It must be recalled here that all our experiments were performed under controlled conditions, in the growth chamber, in the absence of changes of evaporative demand and under full irrigation. Thus, the responses we observed were the direct consequences of elevated temperatures, which might not be the case of other studies in which those other stresses often associated with elevated temperature were potentially not controlled.

While the patterns of berry dimension were insensitive to thermal treatment, berry biomass was strongly affected by temperature both in 2011 and 2013, in particular when sugar started to accumulate rapidly (visible in 2011 only). In 2011, this resulted in an 8 PI delay in *véraison* while in 2013, an effect of low temperature on sugar accumulation was visible around PI 15, before *véraison*. This impairment to accumulate sugars fits with previous observations (Greer and Weston, 2010) that berries reaching *véraison* were very sensitive to heat stress, with rapid expansion growth strongly curtailed and sugar stopped from accumulating – although the cited study identified the drop of photosynthesis as a major factor responsible for these changes (which is not the case here, see Chapter 3).

In our experiments, the source/sink ratio was always high, in general higher than 1 m²/kg, especially in 2013. This did not prevent a strong abortion in response to elevated temperature. That seems to be

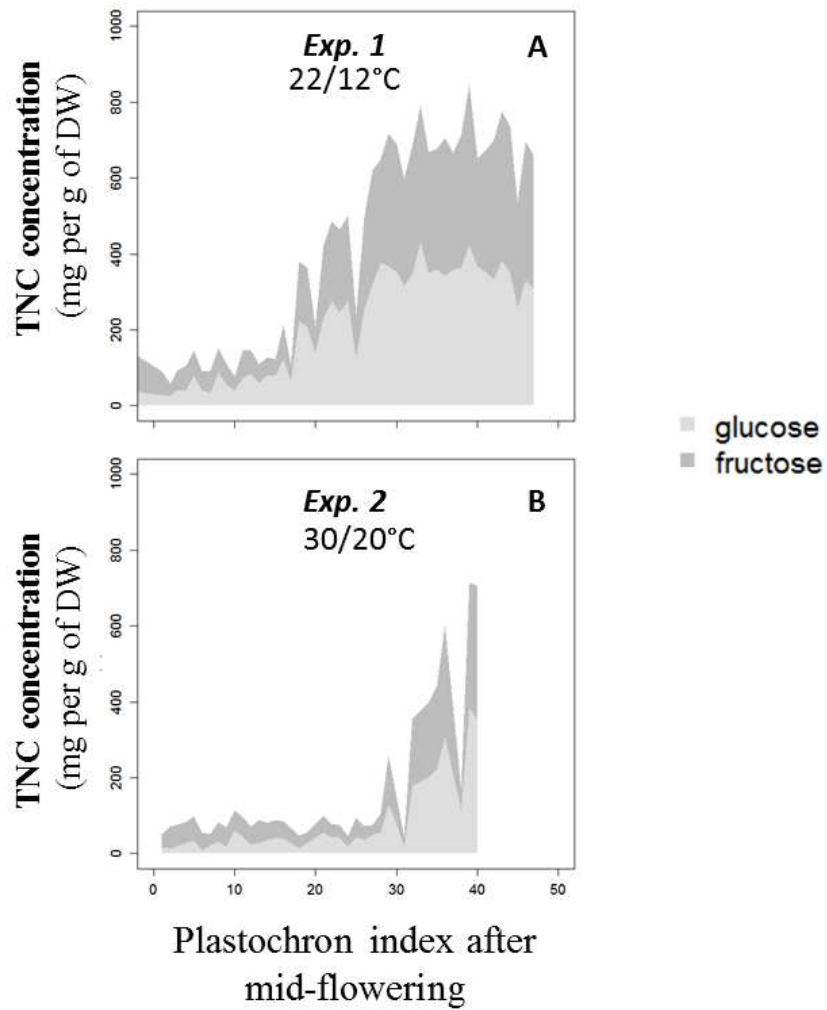


Figure 13: Total non-structural carbohydrates (TNC) concentrations in berries in Exp. 1 (A) and 2 (B) expressed as a function of plastochron index after flowering. Each point is the average of at least 3 cluster.

consistent with the hypothesis that the *Microvine* responds more like a secondary axis (syllaptic axis) than a primary axis (proleptic axis) (see chapter 1).

Inflorescence abortion present 2 different profiles from the two years of experiments

The *coulure* phenomenon generally observed in grapevine and defined as flower and berry drop was not observed in *Microvine*, where fruit set is about 99% (data not shown). However, as we previously reported (Luchaire *et al.*, 2013), whole inflorescence abscission can be observed in *Microvine*. Up to 28% of inflorescence abscission was observed in the experiments. Nevertheless, these yield losses are far from the ones observed in grapevine, where fruit set in optimal condition classically ranges from 40 to 80 % depending on the cultivar (Shavrukov *et al.*, 2004; Lebon *et al.*, 2004a), and can reach 100% under adverse conditions (Greer and Weston, 2010). In plant, fruit set failure generally results in partial flower and fruit abscission (Charles and Harris, 1972), but complete inflorescence abortion can also be observed in hazel, pistachio and cotton plant (Martínez-Pallé and Aronne 2000; Zhao *et al.* 2005; Liu *et al.* 2014).

The comparison of spatial patterns at harvest (Tf) and before temperature treatments (T0) indicates that inflorescence sensitivity to abortion was high before mid-flowering, while it was insignificant thereafter as no inflorescence abortion was detected below T0 mid-flowering limit. This is in accordance with a study of Greer and Weston (2010), who observed *coulure* phenomenon in response to heat stress only when applied during flowering, before fruit set.

Inflorescence abortion rate was thus measured above T0 mid-flowering limit, in order to take into account inflorescences that were able to drop during the experiment only. In 2011 and 2013, elevated temperature increased inflorescence abortion rate. Logically, it also increased the length of the abortion zone, defined as the number of phytomers between the first and the last aborted inflorescences. Apparently, the median PI of the abortion zone was not affected by temperature but rather by experiment / year. Indeed, *Exp.* 1 and 2 (2011) showed a median PI aborted located PI 8 and 6 respectively, while in *Exp.* 8, 6 and 7, it was located at PI 13, 18 and 22 respectively. According to the median PI of abortion zone, two different types of abortion can be distinguished: an early abortion that occurred right after the various thermal regimes were imposed, and a later abortion that occurred during the experiment. The early abortion observed in 2013 experiments is characterized by an abortion right after the experiment beginning, followed by a recovery, with a zone without abortions until the end of the experiment. The late abortion observed in 2011 is characterized by a period without abortion at the beginning of the experiment, followed by a period of abortion until the end of the experiment.

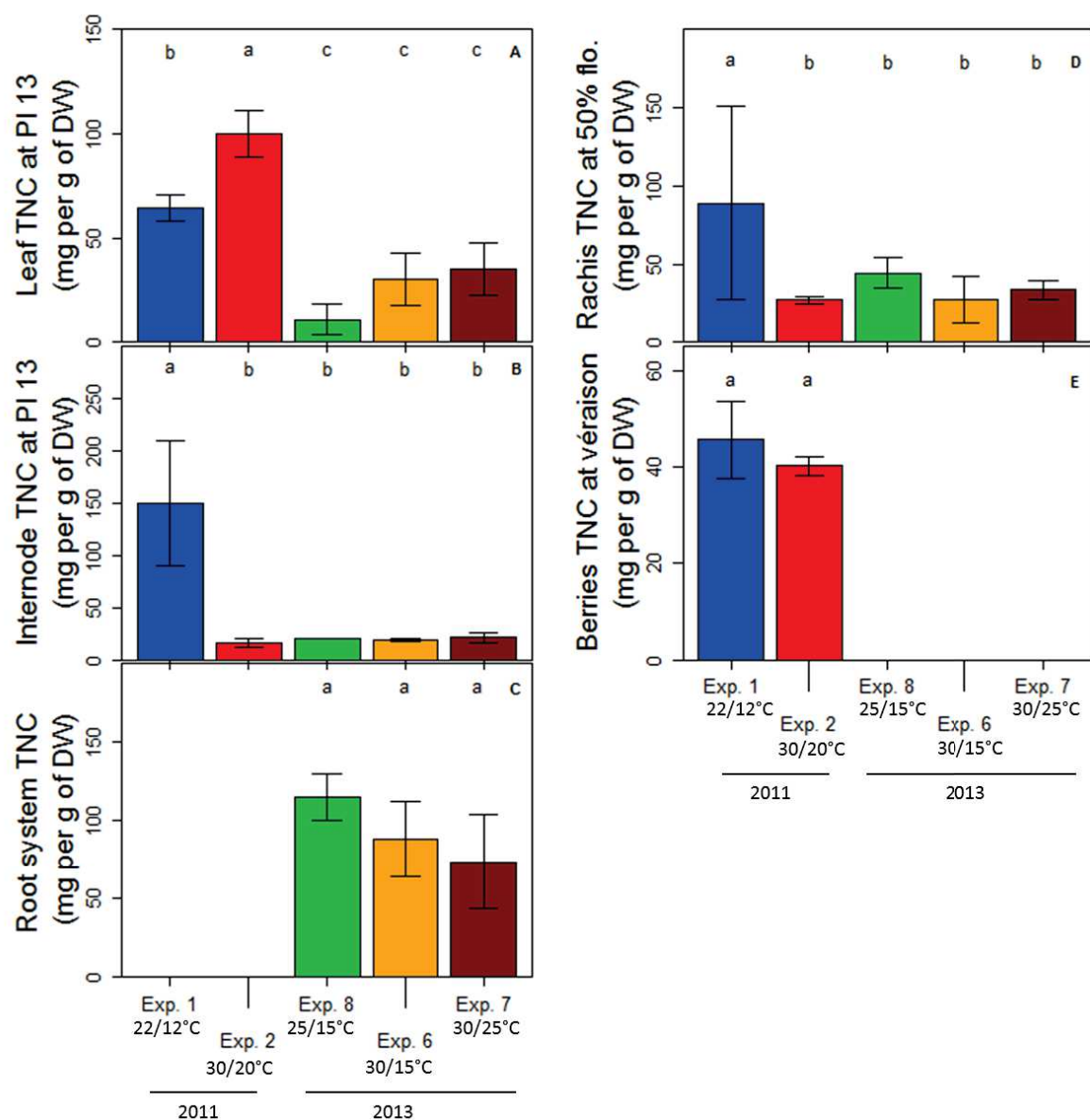


Figure 14: Total non-structural carbohydrates (TNC) concentration response to temperature. Leaf (A), internode (B), rachis (D) berries (E) and total root system (C) biomass. Leaf and Internodes TNC concentrations are the average of the five oldest organs emitted during experiments (PI 11 to 15; $n > 6$). Rachis TNC concentrations are the average of the five plastochron index surrounding 50% flowering ($n > 6$). Berries TNC concentrations are the average of the five plastochron index surrounding véraison (5% of berry colored; $n > 6$). Letters represent significant differences at $P = 0.05$. Bars represent standard deviation.

These observations could be related to plants status before the experiment. Indeed, in 2011 and 2013, plants differed largely by their numbers of inflorescences and their number of flowers and berries at T0. This was partly related to a higher cluster removal in 2013, and to an important inflorescence abortion before T0. As a result, there was a significant (negative, $P < 0.001$; Fig. 17A and 17B) relationship between flowers and berries number at T0 and abortion rate during the thermal treatment. For both years of experiment, the higher the abortion rate before the experiment, the higher and the earlier the abortion rate during the treatment. Moreover, the median PI aborted at Tf were very different between the 2 groups although the correlation between median PI and number of flower at T0 was not significant. Finally, there were some massive differences in terms of TNC concentration and proportion between 2011 and 2013. In particular, 2013 plants showed much lower proportion of starch, in line with the idea that 2013 plants were in a less secure situation in terms of CHO reserves, with preferential investment into rapidly mobilizing stores (soluble sugars) rather than slowly mobilizing reserves such as starch.

2011, vigorous plants, late abortion: possible explanations

The different profiles of inflorescence abortions observed during the two years of experiments could be relying on different mechanisms. Plants from 2011 experiments can be considered as high vigor plants. Indeed, they were older at T0 than 2013 plants, with 55 phytomers present at the starting of the experiments (32 in 2013). They had low inflorescence abortion at T0, allowing us to observe the full sequence of reproductive development from mid-flowering to lag phase. This allowed us to remove clusters only above the berry lag phase, leading to high flower and berry number at T0. Final profiles also show that 2011 plants presented internodes with high biomass and leaf TNC concentration (in particular starch), much higher than in 2013 plants. Finally, absolute concentrations in TNC were comparable to those found classically in grapevine at least during phases of growth (Zapata et al 2004ab; Grechi et al 2007; Holzapfel et al 2010). This suggests that 2011 plants exhibited higher carbon status at T0 than 2013 plants. Despite this favorable carbon status, abortion was observed particularly under elevated temperature. This was associated with (i) changes in TNC proportion with a strongly reduced proportion of starch in leaves, rachis and internode and (ii) a massive reduction of TNC content in internodes and rachis, whereas in grapevine, trunk and canes represent about 30 % of carbon reserves (Holzapfel *et al.*, 2010). Under those conditions of high vigor, elevated temperature thus massively altered reserves in *Microvine*. Because abortion occurred later in development, we raised the hypothesis that it could be due to the onset of *véraison* at the lower PI, that is known to drive a massive demand for carbohydrates (Pallas *et al.*, 2008; Dai *et al.*, 2009). We thus decided to locate in space and time the start of *véraison* on the spatial profile and see if it could relate to the spatial profile of inflorescence abortion (Fig. 18). The *véraison* of the first cluster was estimated from spatial profiles at T0 and Tf, considering that shift in phenology observed between both profiles

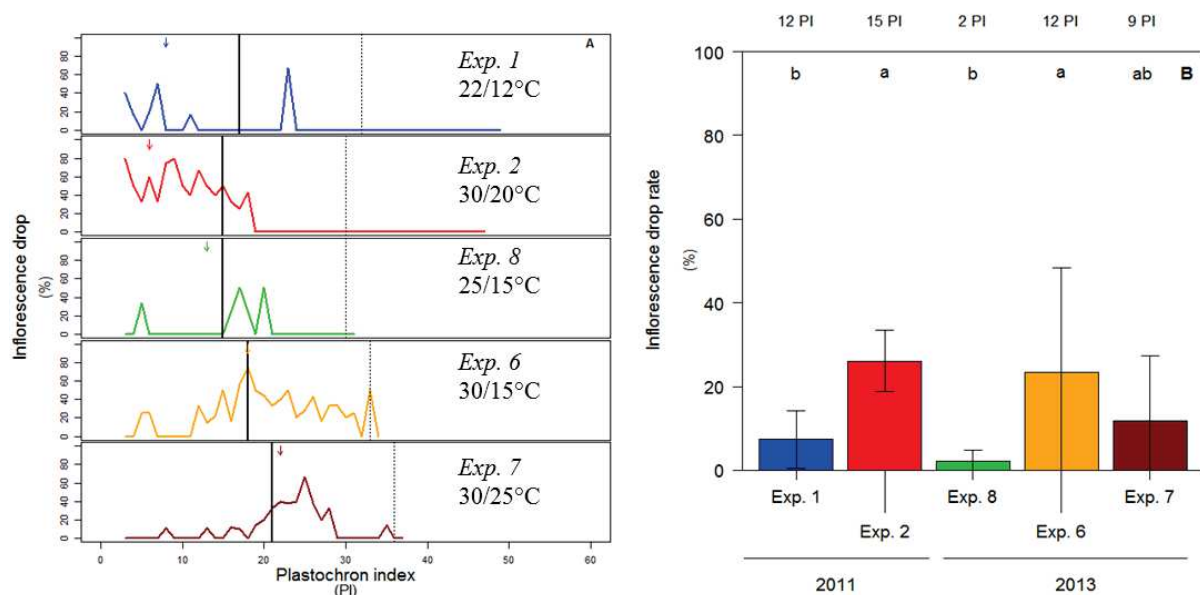


Figure 15: (A) Average percentage of inflorescence abortion as a function of plastochron index at harvest in the experiments. Solid line represents the limit of unfolded phytomers during the temperature treatment. Dotted line represents mid-flowering at the beginning of experiment. Arrows represent the median PI of the abscission zone. (B) Percentage of inflorescence abortion as a function of the average day/night air temperatures. The percentage was calculated between PI 3 at harvest (P_{new}) and PI mid-flowering at the beginning of experiment (P_{T0} < flo.) Letters represent significant differences between mean values differences at P = 0.05. Values above the graph correspond to the average duration in PI of the abscission zone for the corresponding experiment.

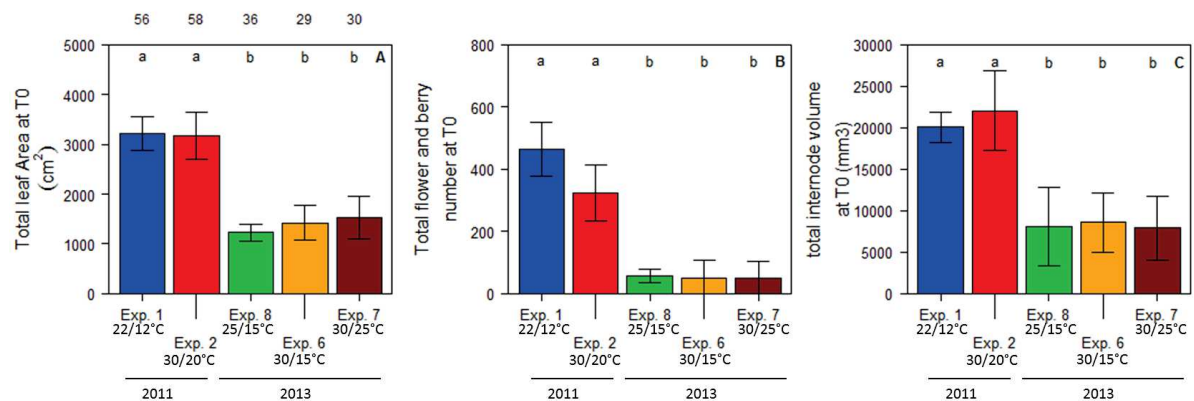


Figure 16: Plants vigor before the beginning of the experiments. Individual total leaf area for each *Exp.* (A), total flower and berry number (B) and plant internode total volume (C) at T₀. Values above the A graph correspond to the average number of emitted phytomers at T₀ for the corresponding experiment. Letters represent significant differences at P = 0.05. Bars represent standard deviation. Each value is the average of all plants (8 to 10 plants, depending on *Exp.*).

occurred in a linear manner. As the sensitive period was defined between inflorescence appearances to mid-flowering, the zone of abortion potentially related to *véraison* was located above mid-flowering during the *véraison* of the first cluster. *Exp.* 1 and 2 abortion profiles (Fig. 15A and 15B) show that for both thermal treatments, all the aborted inflorescences are located in this zone. This clearly associates the onset of abortion under elevated temperature with the onset of *véraison* of the oldest clusters.

Remarkably, a large variability was found between plants in terms of abortion rates and TNC concentrations. In order to incorporate this variability into the analysis (not simply reasoning on average), a Principal Component Analysis (PCA) was performed on 2011 plants, with 26 variables related to plants status at T0, to spatial profiles of size, biomass and TNC content for all organs on phytomers emitted during the experiments and before it, to whole plant status at Tf and to inflorescence abortion at Tf (Fig. 19 A). The two principal components detected accounted for 34% and 14% of the total variance respectively. The first axis was correlated to inflorescence abortion rate at Tf, leaf to fruit ratio at T0, flower and berry number at T0, mature leaf biomass at Tf and berries TNC content at PI 27 after flowering (corresponding to the *véraison* stage observed in greenhouse in 2011, see chapter 1). This suggests that the higher the leaf to fruit ratio at T0 (the lower the number of flowers and berries at T0), the higher the inflorescence abortion rate at Tf and the lower the TNC content in berries at PI 27 after flowering (Fig. 19 B). Moreover, this first axis was correlated to day and night temperature. This picture is consistent with inflorescence abortion increase and berry ripening delay observed in response to temperature. It also confirms the important link between plant status at T0 and inflorescence abortion rate. The second axis of the PCA was related to berries biomass, mainly of young berries, and may be related to some asynchronism between plants for berry development within an experiment.

2013, low-vigor plants, early abortion: possible explanations

Remarkably, in spite of TNC concentrations 4 times lower in 2013 than in 2011, there was only hardly any influence of temperature on final profiles of TNC concentrations. However, these profiles were performed at Tf, a period during which no inflorescence abortion was observed. As *véraison* stage was not reached in 2013, spatial abortion profiles were not triggered by *véraison* (Fig. 20) as in the case of 2011 and this could be the reason why a second phase of abortion was not observed. Since TNC evaluation was performed at a time of no abortion, we cannot conclude about a possible link to carbon status. However, we raise the hypothesis that the high abortion phase seen early after the passage to higher temperatures is related to a poor plant carbon status at T0 further worsen by elevated temperature (or improved by low temperature). Indeed, a low temperature favored a faster recovery of these plants that rapidly entered into a situation of low abortion when compared to plants that were exposed to elevated temperature. It is noteworthy that all plants recovered from this situation and

Table 2: 2011 and 2013 plants comparison at T0.

<i>Exp.</i>	2011	2013	
	1, 2	6, 7	8
Plant age (°Cd after BB)	1520	700	1000
Phytomer number	58	30	36
Leaves number	45	30	25
Total leaf area (cm ²)	3200	1400	1200
Reproductive organs pruning limit	lag phase	mid-flowering	mid-flowering
Mid-flowering location (PI)	15	10	10

Table 3: Day and Night temperature differential effect.

<i>Variable</i>	<i>Day temperature effect</i>		<i>Night temperature effect</i>		<i>Corresponding figure</i>
mid-flowering date	YES	<i>increase</i>	NO		4
Inflorescence drop rate	YES	<i>increase</i>	NO		15
Maximal leaf area	YES	<i>increase</i>	YES	<i>increase</i>	9
Leaf expansion duration	YES	<i>decrease</i>	NO		9
Specific leaf area	NO		YES	<i>increase</i>	9

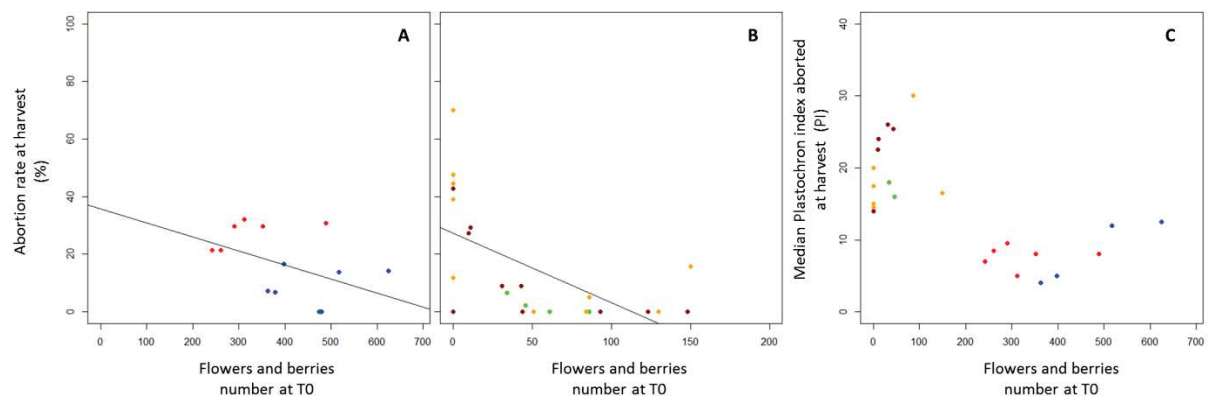


Figure 17: Correlations between flowers and berries number before the beginning of the experiment and final abortion rate in 2011 (A) and 2013 (B), and between flowers and berries number before the beginning of the experiment and the location of the median plastochron index in the abortion zone (C). Lines represent the linear regression.

showed a long period without abortion later in development, suggesting these plants experienced a global improvement of their C status that was more or less delayed because of temperature treatments.

As in the case of 2011 and in order to analyze the variability of abortion profiles observed and of plants status at T0, a PCA was performed on 2013 data (Fig. 21A). 28 variables related to plants status at T0, to spatial profiles of size, biomass and TNC content for all organs on phytomers emitted during the experiments and before it, to whole plant status at Tf and to inflorescence abortion at Tf were analyzed. The two principal components detected accounted respectively for 24% and 19% of the total variability. These two axes were mainly accounted for by total leaf area and leaf biomass (Fig. 21B), good estimators of plants vigor. The map of individual plants confirmed the high variability within experiments and the low contribution of temperature in the PCA axis construction (Fig. 21C). Even though these two axes only account for 40% of the observed variability between individuals in 2013, it suggests that the largest part of observed variability in 2013 was not related to temperature but to plant vigor.

Different insights from 2011 or 2013 experiments

Thanks to gibberellic acid sensitivity, normal grapevines delay the onset of reproductive development for several (3-5) years. By contrast, *Microvine* is a mutant that lacks the juvenile phase. It is therefore conceivable that during the early phases of growth after budbreak, the plant initiates reproductive organs despite being in a likely difficult situation in terms of reserves. This difficult situation could have been favored in 2013 by the climatic conditions in the greenhouse before the onset of the experiments. In favor of this hypothesis are the TNC concentrations measured. Indeed, while the 2011 concentrations are similar to those found in the literature about grapevine TNC concentration during growing stages (classically 3 – 10% of DW, when plants are in active phases of growth see Zapata et al 2004ab; Grechi et al 2007; Holzapfel et al 2010), the 2013 TNC concentrations were much lower whatever the organ considered, suggesting that these plants were suffering from C starvation.

Nevertheless, the 2013 plants bring some valuable information. Indeed, the absence of late abortion in 2013 under this poor TNC context suggests that abortion is not strictly related to sugar content. We thus raise the hypothesis is that abortion would not be linked to C status per se but rather to the variation of C status following changes in source / sink balance. Indeed, in 2013, plants showed high abortion following transfer to warmer conditions in a context of low vigor but abortion was much reduced when the thermal treatment was close to the thermal conditions in the greenhouse before the transfer (ie the 25/15 treatment). In 2011, the plants were more vigorous and could accommodate the transfer into both conditions and only the warm conditions showed late abortion, in synchronicity with *véraison*. This hypothesis fits with the view that plants are able to sense unbalances in their source/sink ratio such as those induced by various temperatures or day length, and implement some

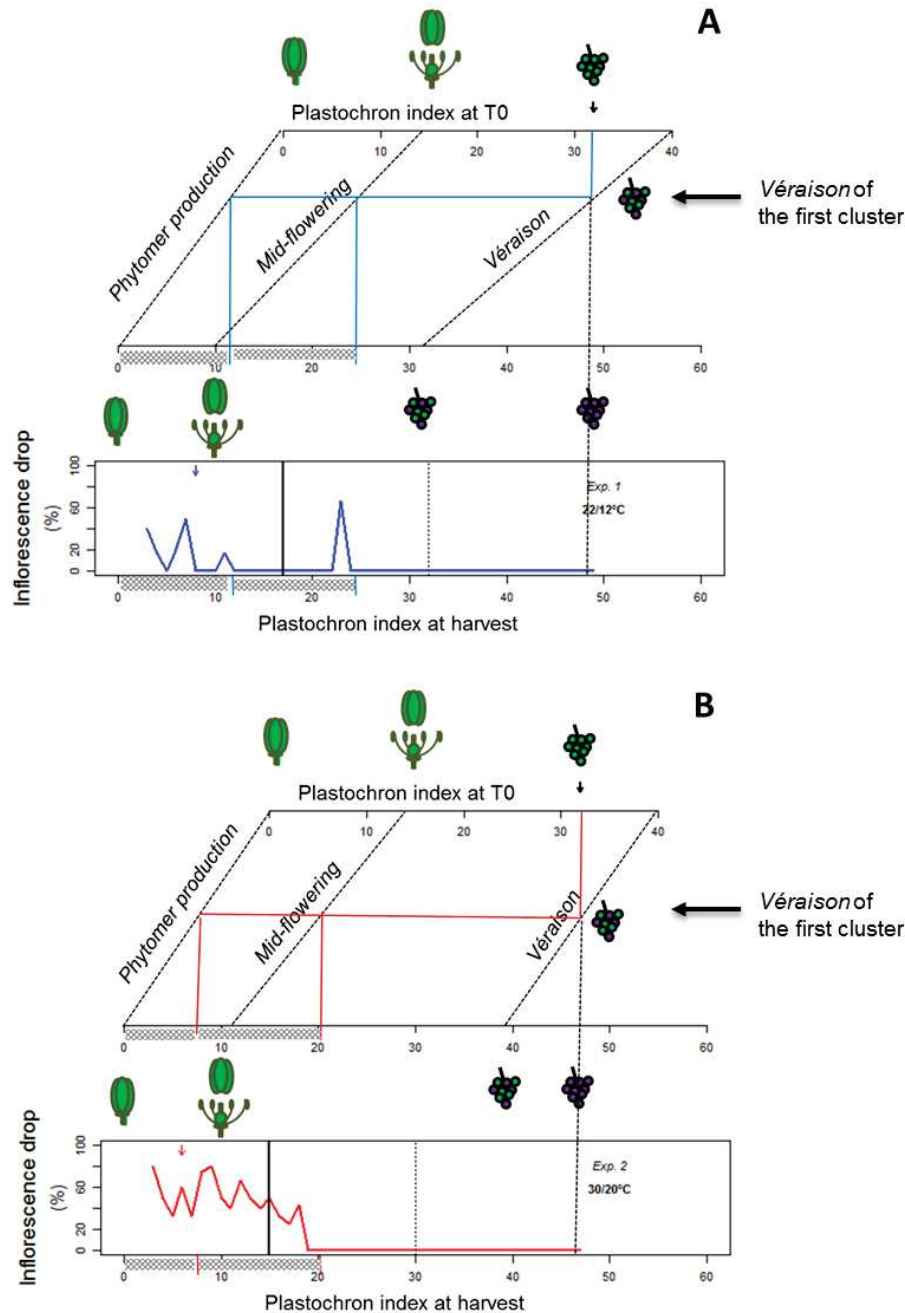


Figure 18: Location of the beginning of berry ripening on abortion profiles of Exp. 1 (A) and 2 (B). The véraison (5% of berries colored) of the plants older cluster was placed on the final profile of abortion considering that before the experiment véraison happened at PI 40, while at the end of Exp. 1 and 2 it happens respectively at PI 31 and 39. The stripped zone corresponds to the possible zone of abortion (from emission to mid-flowering) during the start of berry ripening on the plant. Black solid line represents the limit of unfolded phytomers during the temperature treatment; black dotted line represents mid-flowering at the beginning of experiment. Black arrows correspond to the oldest cluster; colored arrows correspond to the median PI of the abscission zone.

physiological strategies such as the adjustment of their sugar utilization rate (Gibon *et al.*, 2004; Sulpice *et al.*, 2009).

V. Conclusion

In grapevine, elevated temperatures or low plant carbon status generally result in strong reduction of berry number, due to lower bud fruitfulness or to lower fruit-set (Greer and Weston, 2010; Rogiers *et al.*, 2011b). We observed high inflorescence abortion in *Microvine* under elevated temperatures, as well as delays in flowering and *véraison* stages on the remaining inflorescences. However, the results obtained from the two years of experiments suggest that these abortions did not take place either in the same nutritional context, or for the same physiological reasons. The 2011 situation can be seen as easily transposable to normal grapevine with high vigor and high reserves. In that context, an interaction between elevated temperature and onset of carbohydrate demand by *véraison* provoked abortion of inflorescences. The 2013 situation would mimic a grapevine recovering from C starvation, in which high temperatures delayed this recovery and provoked abortion. More generally, in indeterminate plants such as *Microvine* and independently of temperature treatments, these abortion patterns could be seen as waves, with an intense abortion period during the carbon limitation period, followed by a recovery period when carbon balance becomes more favorable, partly because of abortion that positively feedbacks on the source/sink ratio. Such waves have been described in other indeterminate plants such as tomato (Suguru *et al.*, 2001; Wubs *et al.*, 2009).

All the results discussed in this chapter and the proposed hypotheses are gathered in Fig. 22. Moreover, the evaluation of the whole plant carbon balance, using a model of photosynthesis and respiration response to elevated temperatures parameterized for the *Microvine*, as developed in the next chapter, is expected to provide a quantitative assessment of carbon balance components in order to evaluate the link between this balance and high temperature-induced inflorescence abortion.

VI. Acknowledgments

This study was supported by ANR-Genopole (project ANR-2010-GENM-004-01) and the Poupelain foundation. The authors gratefully acknowledge A. Ageorges for her helpful scientific input in the present project. We also thank A. Bediee, G. Rolland, M. Dauzat, C. Balsera, F. Bouvery, E. Suard, G. Lopez, M. Farnos, I. Gil, C. Verries, T. Marlin, S. Vialet, C. Roux, V. Mirales, R. Chatbanyong, C. Houel, F. Novelli, A. Adivèze, P. Ballias and D. Prodhomme for their technical assistance.

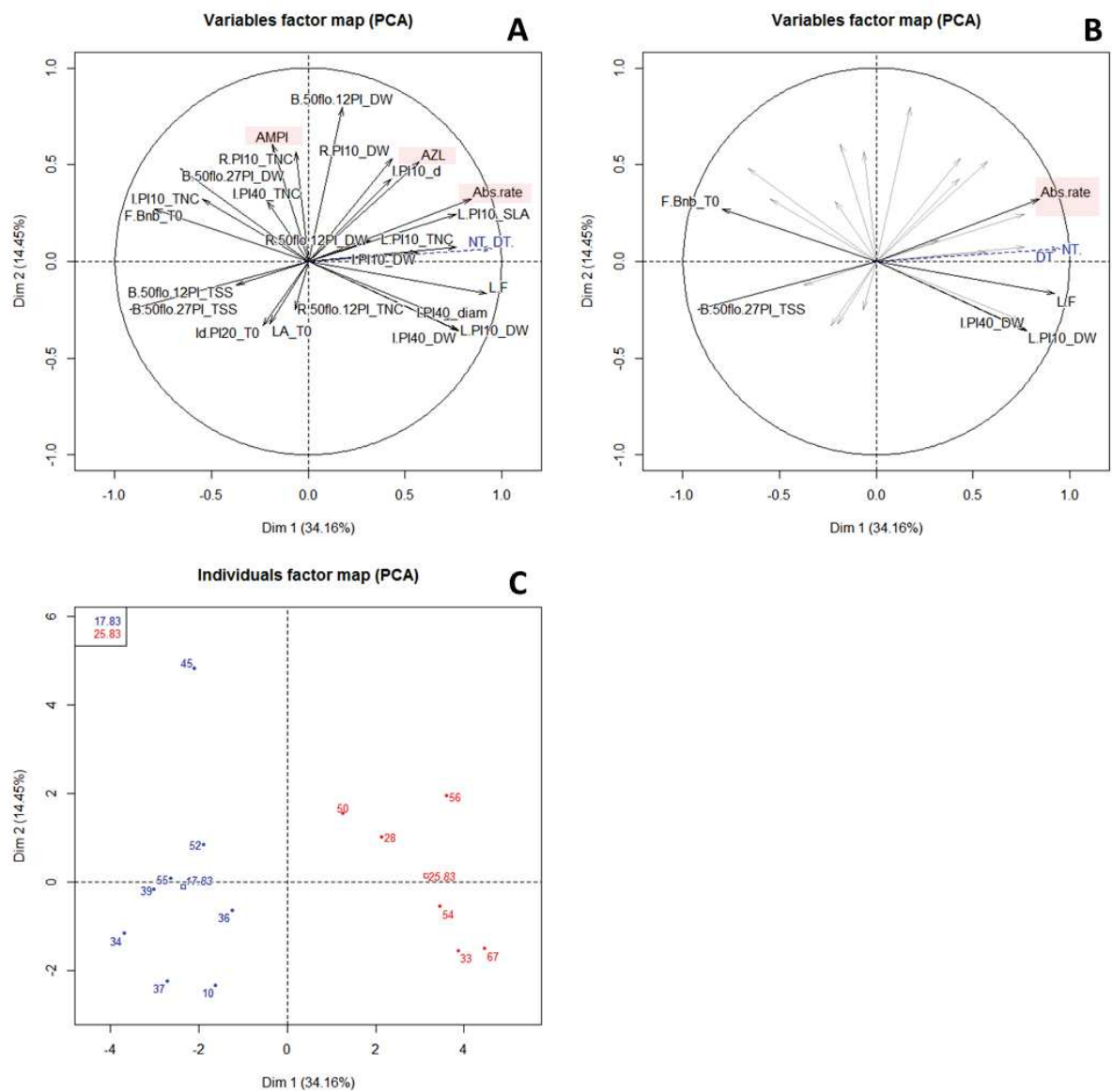


Figure 19: Principal component analysis on 2011 experiments. Data were scaled and centered. Day and night temperatures were used as quantitative supplementary factors (blue arrows). Contribution of variables (presented in table 2) to the first and second principal component (PC1 and PC2) is presented in **A**. Highlighted variables are related to inflorescence abscission. The major contributors to these axis determinations are presented in **B** ($\cos^2 > 0.7$). Contribution of individual plants to PC1 and PC2 is presented in **C**. Colors represent the different experiment.

VII. References

- Adams SR, Cockshull KE, Cave CRJ. 2001. Effect of Temperature on the Growth and Development of Tomato Fruits. *Annals of Botany* **88**, 869–877.
- Atwell BJ, Kriedemann PE, Turnbull CGN. 1999. *Plants in Action: Adaptation in Nature, Performance in Cultivation*. Macmillan Education AU.
- Carbonell-Bejerano P, Santa María E, Torres-Pérez R, Royo C, Lijavetzky D, Bravo G, Aguirreolea J, Sánchez-Díaz M, Antolín MC, Martínez-Zapater JM. 2013. Thermotolerance responses in ripening berries of *Vitis vinifera* L. cv Muscat Hamburg. *Plant and Cell Physiology* **54**, 1200–1216.
- Charles WB, Harris RE. 1972. Tomato fruit-set at high and low temperatures. *Canadian Journal of Plant Science* **52**: 497–506.
- Civello PM, Martínez GA, Chaves AR, Añón MC. 1997. Heat treatments delay ripening and postharvest decay of strawberry fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **45**, 4589–4594.
- Crawford A, McLachlan DH, Hetherington AM, Franklin KA. 2012. High temperature exposure increases plant cooling capacity. *Current Biology* **22**, R396.
- Cumbus IP, Nye PH. 1982. Root zone temperature effects on growth and nitrate absorption in rape (*Brassica napus* cv. Emerald). *Journal of Experimental Botany* **33**, 1138–1146.
- Dai ZW, Vivin P, Robert T, Milin S, Li SH, Génard M. 2009. Model-based analysis of sugar accumulation in response to source–sink ratio and water supply in grape (*Vitis vinifera*) berries. *Functional Plant Biology* **36**, 527.
- Dambreville A, Normand F, Lauri P-É. 2013. Plant growth co-ordination in natura: a unique temperature-controlled law among vegetative and reproductive organs in mango. *Functional Plant Biology* **40**, 280–291.
- Franklin KA. 2008. Shade avoidance. *New Phytologist* **179**, 930–944.
- Franklin KA, Toledo-Ortiz G, Pyott DE, Halliday KJ. 2014. Interaction of light and temperature signaling. *Journal of Experimental Botany* **65**, 2859–2871.
- Gibon Y, Bläsing OE, Palacios-Rojas N, Pankovic D, Hendriks JHM, Fisahn J, Höhne M, Günther M, Stitt M. 2004. Adjustment of diurnal starch turnover to short days: depletion of sugar during the night leads to a temporary inhibition of carbohydrate utilization, accumulation of sugars

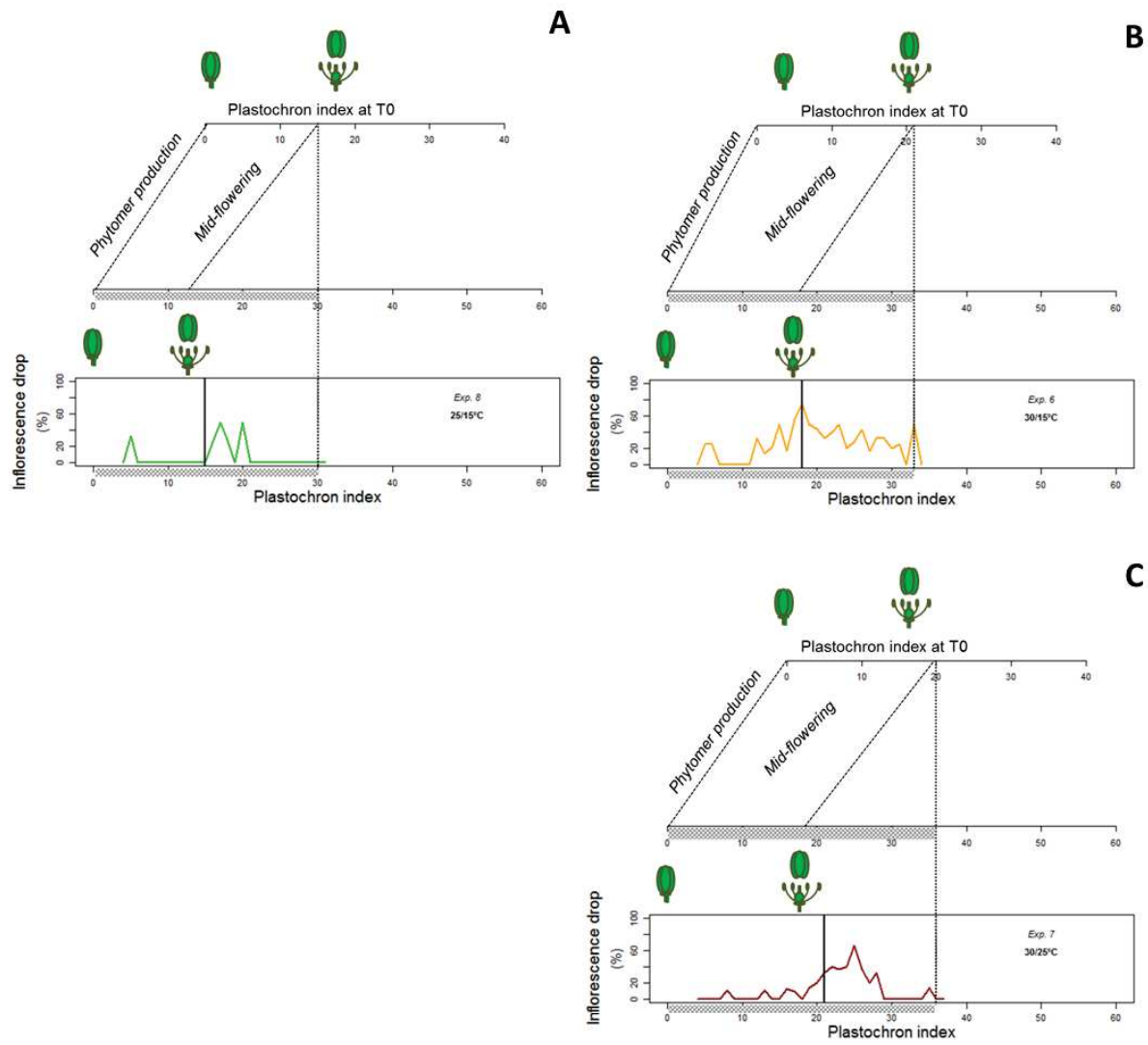


Figure 20: Black solid line represents the limit of unfolded phytomers during the temperature treatment; black dotted line represents mid-flowering at the beginning of experiment. The striped zone corresponds to the possible zone of abortion (from emission to mid-flowering) from the beginning of the experiment.

and post-translational activation of ADP-glucose pyrophosphorylase in the following light period. The Plant Journal **39**, 847–862.

Gibon Y, Pyl E-T, Sulpice R, Lunn JE, Hoehne M, Guenther M, Stitt M. 2009. Adjustment of growth, starch turnover, protein content and central metabolism to a decrease of the carbon supply when Arabidopsis is grown in very short photoperiods RID B-9919-2011. Plant Cell and Environment **32**, 859–874.

Granier C, Massonet C, Turc O, Muller B, Chenu K, Tardieu F. 2002. Individual Leaf development in Arabidopsis thaliana: a stable thermal-time based program. Annals of Botany **89**, 595–604.

Granier C, Tardieu F. 1998. Is thermal time adequate for expressing the effects of temperature on sunflower leaf development? Plant, Cell & Environment **21**, 695–703.

Greer DH, Weston C. 2010. Heat stress affects flowering, berry growth, sugar accumulation and photosynthesis of *Vitis vinifera* cv. Semillon grapevines grown in a controlled environment. Functional Plant Biology **37**, 206–214.

Grimstad S, Frimanslund E. 1993. Effect of different day and night temperature regimes on greenhouse cucumber young plant production, flower bud formation and early yield. Scientia Horticulturae **53**, 191–204.

Gupta SK, Rai KN, Singh P, Ameta VL, Gupta SK, Jayalekha AK, Mahala RS, Pareek S, Swami ML, Verma YS. 2015. Seed set variability under high temperatures during flowering period in pearl millet (*Pennisetum glaucum* L. (R.) Br.). Field Crops Research **171**, 41–53.

Holzappel BP, Smith JP, Field SK, Hardie WJ. 2010. 3 Dynamics of Carbohydrate Reserves in Cultivated Grapevines. Horticultural Reviews **37**, 143–211.

Jones H. 1992. *Plants and Microclimate: A quantitative approach to environmental plant physiology*. Press Syndicate of the University of Cambridge.

Keeling PL, Bacon PJ, Holt DC. 1993. Elevated temperature reduces starch deposition in wheat endosperm by reducing the activity of soluble starch synthase. Planta **191**, 342–348.

Kirby E. 1988. Analysis of leaf, stem and ear growth in wheat from terminal spikelet stage to anthesis. *Field Crops Research* **18**: 127–140.

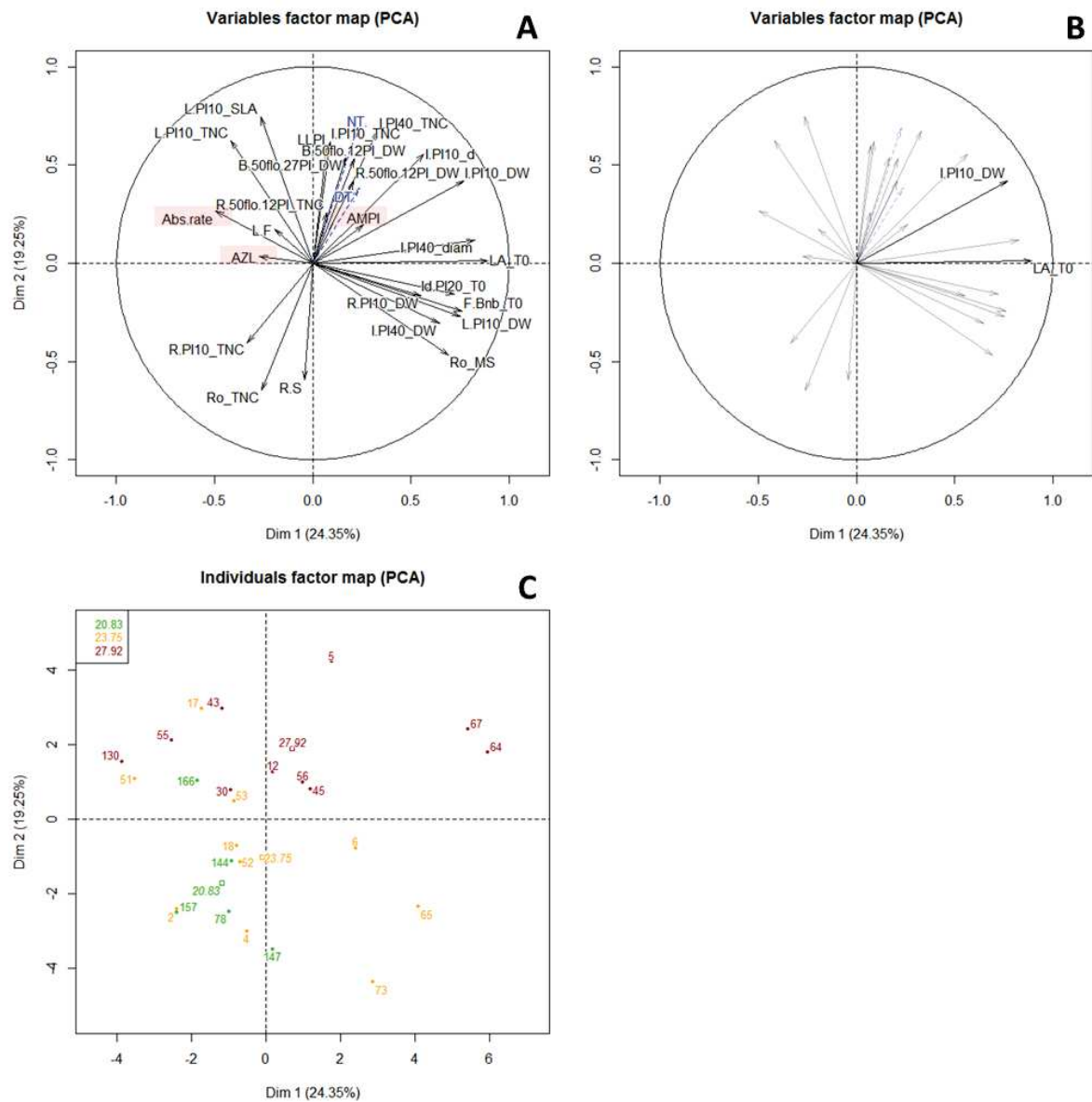


Figure 21: Principal component analysis on 2013 experiments. Data were scaled and centered. Day and night temperatures were used as quantitative supplementary factors (blue arrows). Contribution of variables (presented in table 2) to the first and second principal component (PC1 and PC2) is presented in **A**. Highlighted variables are related to inflorescence abscission. The major contributors to these axis determinations are presented in **B** ($\cos^2 > 0.7$). Contribution of individual plants to PC1 and PC2 is presented in **C**. Colors represent the different experiment.

Lafarge T, de Raïssac M, Tardieu F. 1998. Elongation rate of sorghum leaves has a common response to meristem temperature in diverse African and European environmental conditions. *Field Crops Research* **58**, 69–79.

Lebon G, Duchêne E, Brun O, Magné C, Clément C. 2004a. Flower abscission and inflorescence carbohydrates in sensitive and non-sensitive cultivars of grapevine. *Sexual Plant Reproduction* **17**.

Lebon E, Pellegrino A, Tardieu F, Lecoœur J. 2004b. Shoot development in grapevine (*Vitis vinifera*) is affected by the modular branching pattern of the stem and intra- and inter-shoot trophic competition. *Annals of Botany* **93**, 263–274.

Lebon G, Wojnarowicz G, Holzapfel B, Fontaine F, Vaillant-Gaveau N, Clement C. 2008. Sugars and flowering in the grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Journal of Experimental Botany* **59**, 2565–2578.

Luchaire N, Rienth M, Torregrosa L, Romieu C, Muller B, Pellegrino A. 2013. The *microvine*: an ecophysiological model for grapevine. *Ciencia e Técnica Vitivinícola*. Porto, 788–794.

Malcolm P, Holford P, McGlasson B, Conroy J, Barchia I. 2007. Growth and its partitioning in *Prunus* rootstocks in response to root zone temperature. *Scientia Horticulturae* **112**, 58–65.

Martínez-Pallé E, Aronne G. 2000. Reproductive cycle of *Pistacia lentiscus* (Anacardiaceae) in Southern Italy. *Plant Biosystems - An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology* **134**: 365–371.

Matsui T, Omasa K, Horie T. 2001. The difference in sterility due to high temperatures during the flowering period among Japonica-rice varieties. *Plant Production Science* **4**, 90–93.

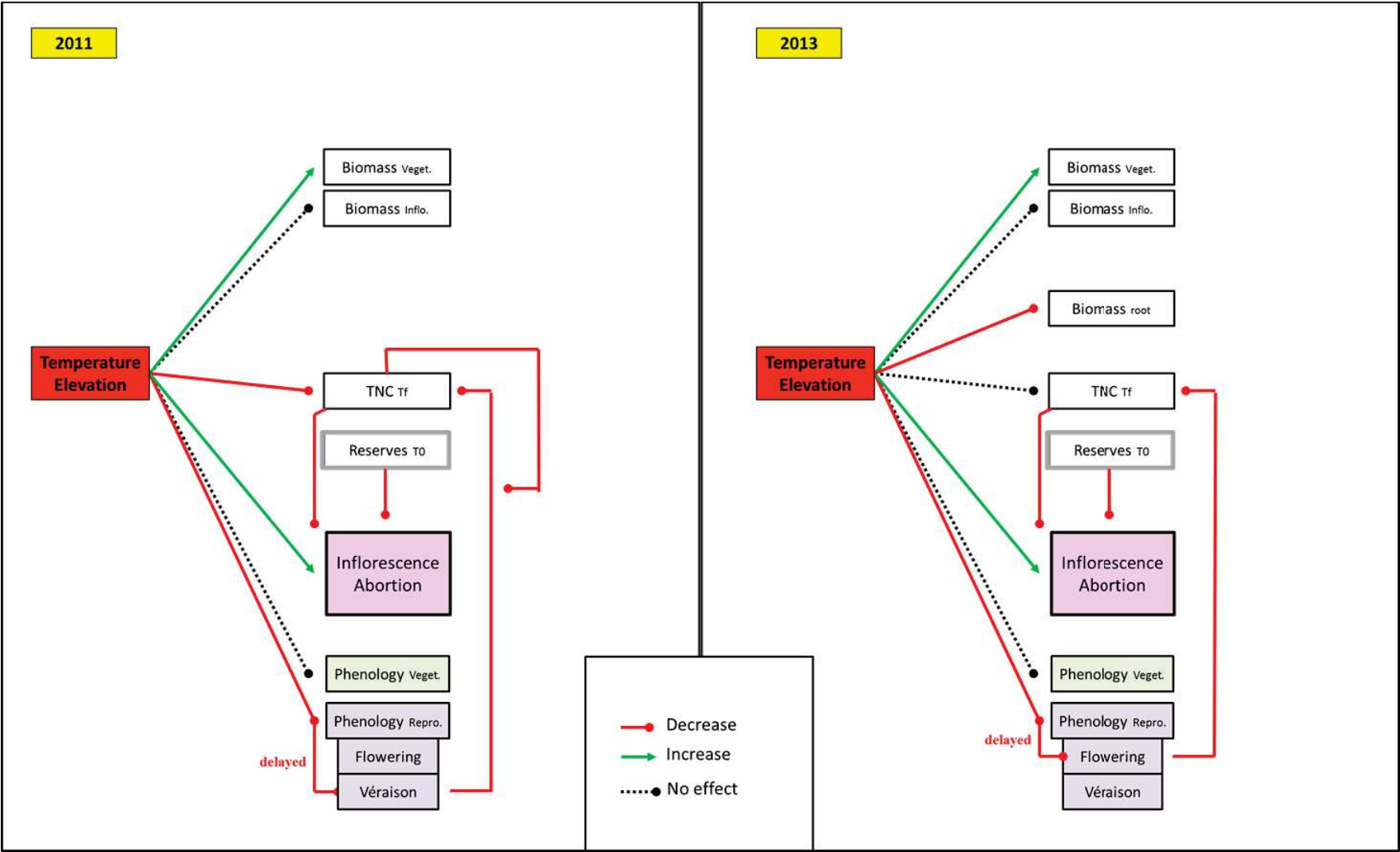
Meicenheimer RD. 2014. The plastochron index: Still useful after nearly six decades. *American Journal of Botany* **101**, 1821–1835.

Pallas B, Louarn G, Christophe A, Lebon E, Lecoœur J. 2008. Influence of intra-shoot trophic competition on shoot development in two grapevine cultivars (*Vitis vinifera*). *Physiologia Plantarum* **134**, 49–63.

Parent B, Tardieu F. 2012. Temperature responses of developmental processes have not been affected by breeding in different ecological areas for 17 crop species. *New Phytologist* **194**, 760–774.

Parent B, Turc O, Gibon Y, Stitt M, Tardieu F. 2010. Modelling temperature-compensated physiological rates, based on the co-ordination of responses to temperature of developmental processes. *Journal of Experimental Botany* **61**, 2057–2069.

Figure 22: Summary of observed Microvine response to temperature increase on 2011 and 2013 experiments.



Penfield S. 2008. Temperature perception and signal transduction in plants. *New Phytologist* **179**, 615–628.

Pereira MJ, Pfahler PL, Barnett RD, Blount AR, Wofford DS, Littell RC. 2002. Coleoptile Length of Dwarf Wheat Isolines. *Crop Science* **42**, 1483.

Poorter H, Niinemets Ü, Poorter L, Wright IJ, Villar R. 2009. Causes and consequences of variation in leaf mass per area (LMA): a meta-analysis. *New Phytologist* **182**, 565–588.

Poorter H, Niklas KJ, Reich PB, Oleksyn J, Poot P, Mommer L. 2012. Biomass allocation to leaves, stems and roots: meta-analyses of interspecific variation and environmental control: Tansley review. *New Phytologist* **193**, 30–50.

Poudel PR, Mochioka R, Beppu K, Kataoka I. 2009. Influence of Temperature on Berry Composition of Interspecific Hybrid Wine Grape 'Kadainou R-1' (Vitis ficifolia var. ganebu x V. vinifera 'Muscat of Alexandria'). *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* **78**, 169–174.

Prasad PVV, Pisipati SR, Mutava RN, Tuinstra MR. 2008. Sensitivity of Grain Sorghum to High Temperature Stress during Reproductive Development. *Crop Science* **48**, 1911.

Pyl E-T, Piques M, Ivakov A, Schulze W, Ishihara H, Stitt M, Sulpice R. 2012. Metabolism and Growth in Arabidopsis Depend on the Daytime Temperature but Are Temperature-Compensated against Cool Nights[W][OA]. *The Plant Cell* **24**, 2443–2469.

Rattalino Edreira JI, Budakli Carpici E, Sammarro D, Otegui ME. 2011. Heat stress effects around flowering on kernel set of temperate and tropical maize hybrids. *Field Crops Research* **123**, 62–73.

Rienth M, Torregrosa L, Kelly MT, Luchaire N, Pellegrino A, Grimplet J, Romieu C. 2014. Is transcriptomic regulation of berry development more important at night than during the day? *PLoS ONE* **9**, e88844.

Rogiers SY, Hardie WJ, Smith JP. 2011a. Stomatal density of grapevine leaves (Vitis vinifera L.) responds to soil temperature and atmospheric carbon dioxide: Environmental influences on stomatal density. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **17**, 147–152.

Rogiers SY, Holzapfel BP, Smith JP. 2011b. Sugar accumulation in roots of two grape varieties with contrasting response to water stress. *Annals of Applied Biology* **159**, 399–413.

Rogiers SY, Smith JP, Holzapfel BP, Hardie WJ. 2011*c*. Soil temperature moderates grapevine carbohydrate reserves after bud break and conditions fruit set responses to photoassimilatory stress. *Functional Plant Biology* **38**, 899.

Ruan Y-L, Patrick JW, Bouzayen M, Osorio S, Fernie AR. 2012. Molecular regulation of seed and fruit set. *Trends in Plant Science* **17**, 656–665.

Sadras VO, Moran MA. 2013. Asymmetric warming effect on the yield and source:sink ratio of field-grown grapevine. *Agricultural and Forest Meteorology* **173**, 116–126.

Sadras VO, Petrie PR. 2011*a*. Climate shifts in south-eastern Australia: early maturity of Chardonnay, Shiraz and Cabernet Sauvignon is associated with early onset rather than faster ripening. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **17**, 199–205.

Sadras VO, Petrie PR. 2011*b*. Quantifying the onset, rate and duration of sugar accumulation in berries from commercial vineyards in contrasting climates of Australia. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **17**, 190–198.

Shavrukov YN, Dry IB, Thomas MR. 2004. Inflorescence and bunch architecture development in *Vitis vinifera* L. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **10**, 116–124.

Talukder ASMHM, McDonald GK, Gill GS. 2014. Effect of short-term heat stress prior to flowering and early grain set on the grain yield of wheat. *Field Crops Research* **160**, 54–63.

Turc O, Lecoecur J. 1997. Leaf Primordium Initiation and Expanded Leaf Production are Co-ordinated through Similar Response to Air Temperature in Pea (*Pisum sativum*L.). *Annals of Botany* **80**, 265–273.

Vile D, Pervent M, Belluau M, Vasseur F, Bresson J, Muller B, Granier C, Simonneau T. 2012. Arabidopsis growth under prolonged high temperature and water deficit: independent or interactive effects?: Plant responses to high temperature and water deficit. *Plant, Cell & Environment* **35**, 702–718.

Webb LB, Watterson I, Bhend J, Whetton PH, Barlow EWR. 2013. Global climate analogues for winegrowing regions in future periods: projections of temperature and precipitation. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **19**, 331–341.

De Wit M, Lorrain S, Fankhauser C. 2014. Auxin-mediated plant architectural changes in response to shade and high temperature. *Physiologia Plantarum* **151**, 13–24.

Réponses du bilan carboné de la Microvigne à la température

I. Introduction

Le bilan de carbone représente le différentiel entre l'offre en carbone et la demande en carbone pour le métabolisme et la croissance de la plante. Les impacts des relations source-puits sur le gain de carbone net (différentiel photosynthèse-respiration) et la production de biomasse aux échelles organe et plante entière ont largement été étudiés et ont permis de développer des modèles de simulation du bilan de carbone de la plante et de l'accumulation de sucres dans les fruits sous contrainte trophique (Lescourret and Génard 2005; Lakso et al. 2007; Dai et al. 2009; Pallas et al. 2009; Chew et al. 2014). Les réponses de la photosynthèse et de la respiration aux températures élevées à court ou long terme sont également décrites à l'échelle organe dans de nombreux travaux (Schultz 2000; Zufferey et al. 2000; Huang et al. 2005). Cependant, les effets des températures élevées sur les termes du bilan carboné à l'échelle de la plante entière, et leurs interactions avec la charge en fruit, restent méconnus.

Les activités photosynthétique (A_n) et respiratoire (photorespiration -PR et respiration -R) sont fortement impactées par l'élévation des températures (Berry and Bjorkman 1980). Chez la vigne, les feuilles contribuent majoritairement à l'activité photosynthétique de la plante. Les inflorescences ont toutefois un taux d'assimilation du CO_2 non négligeable avant la nouaison. D'après les travaux de Lebon et al. (2005) sur bouture fructifère, A_n est en moyenne de $2 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ pour les inflorescences, contre $15 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ pour les feuilles à 25°C . La photosynthèse des inflorescences dépend de la température. En conditions de stress froid (0°C à -4°C), elle diminue jusqu'à $-1.5 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, indiquant un taux de respiration supérieur à la photosynthèse brute (Sawicki et al. 2012). L'activité photosynthétique nette des feuilles en fonction de la température suit une loi de type Arrhénius (Parent et al. 2010). Au-delà d'un certain seuil de température, A_n décroît en raison de l'augmentation de PR. Cette dernière représente 20% de A_n à 20°C et jusqu'à plus de 50% de A_n à 35°C chez différents cépages (Düring and Harst 1996; Zufferey et al. 2000). L'optimum de température, au-delà duquel A_n décroît, varie en fonction des espèces (Niinemets et al. 1999; Parent et al. 2010), des variétés (Zufferey et al. 2000) et des conditions environnementales (Way and Sage 2008; Yamori et al. 2010). L'acclimatation aux températures élevées déplace cet optimum vers des températures supérieures et accroît l'activité photosynthétique maximale (Berry and Bjorkman 1980; Sage and Kubien 2007). Chez la vigne, l'optimum de température est de 20°C et 33°C lorsque les plantes sont acclimatées à des températures de 10°C et 25°C , respectivement (Schultz 2000). L'augmentation de la concentration en CO_2 ambiant, et par voie de conséquence du CO_2 dans la cavité sous-stomatique, inhibe PR et induit un déplacement du seuil de température optimale jusqu'à 36°C en condition de CO_2 saturant (Atwell et al. 1999; Greer and Weedon 2011). Les réponses de A_n à la température sont par ailleurs étroitement liées aux autres facteurs climatiques impactant le fonctionnement de l'appareil photosynthétique et l'ouverture des stomates, en particulier le rayonnement et le déficit de saturation de l'air (VPD). Les feuilles exposées au rayonnement ont des masses surfaciques et des teneurs en azote foliaires supérieures, comparées aux feuilles ombragées,

induisant une augmentation de l'activité photosynthétique par unité de surface (Evans and Poorter 2001; Schultz 2003; Prieto et al. 2012). D'après Zufferey et al. (2000), le rayonnement saturant est d'autant plus élevé que les températures sont hautes. Il est de $700 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ à $15-20^\circ\text{C}$, alors qu'il atteint $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ à $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ aux températures supérieures à 34°C . L'augmentation du VPD diminue l'ouverture des stomates et la photosynthèse. Soar et al. (2009) ont reporté une diminution de A_n d'environ $-1.3 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ par kPa, quelle que soit la température de l'air. Les valeurs de A_n varient également en fonction de facteurs intrinsèques, parmi lesquels on peut distinguer la demande en carbone et l'âge des feuilles. L'exposition des feuilles à des photopériodes prolongées réduit l'activité photosynthétique, suggérant un effet retro-control de l'accumulation des sucres dans ces dernières (Quereix et al. 2001). La diminution de l'offre en carbone (ex : défoliations), ou l'augmentation de la demande en carbone (ex : augmentation de la charge en fruit), favorisent au contraire A_n (Candolfi-Vasconcelos and Koblet 1991; Mullins et al. 2007; Poni et al. 2008). Enfin, l'activité photosynthétique par unité de surface est inférieure pour les feuilles en croissance (indice plastochronique $PI < 10$), comparée aux feuilles matures ($PI > 10$) (Zufferey et al. 2000; Schultz 2003). Elle tend à diminuer sur les feuilles de l'axe primaire quel que soit le niveau de PI à partir de la maturation des baies.

Tous les organes de la plante respirent (feuilles, tiges, organes reproducteurs et racines). La respiration dépend des carbohydrates produits par la photosynthèse. Elle est par conséquent étroitement liée à l'assimilation du carbone (Azcon-Bieto and Osmond 1983). La respiration croît généralement de façon exponentielle lorsque la température augmente. Chez la vigne, la respiration des jeunes feuilles ($PI < 10$) est de $-0.5 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ à $15^\circ\text{C}-20^\circ\text{C}$ et atteint $-2 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ lorsque la température est supérieure à 34°C (Zufferey et al., 2000). L'acclimatation aux températures élevées réduit la respiration (Berry and Bjorkman 1980; Jones 1992). Huang et al. (2005) ont reporté une respiration racinaire réduite par 4 à 35°C , lorsque cette température était imposée pendant 3 jours, comparé au même traitement thermique appliqué pendant 1 heure seulement. Le taux de respiration des organes dépend de leur âge et de leur vitesse de croissance relative (Atwell et al. 1999; Palliotti et al. 2010). Les jeunes feuilles de vigne ($PI < 10$) ont une respiration supérieure aux feuilles matures, et leur respiration par unité de surface est d'autant plus importante lorsqu'elles sont acclimatées au rayonnement et ont une masse surfacique élevée (Zufferey et al., 2000 ; Schultz, 2003). Ainsi, à $25-30^\circ\text{C}$, la respiration atteint $-2.2 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ pour des jeunes feuilles ensoleillées, $-1.2 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ pour des jeunes feuilles ombragées et $-0.8 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ au maximum pour l'ensemble des feuilles adultes. D'après Palliotti et al., (2010), les respirations par unité de poids des baies et des tiges chez la vigne sont maximum pendant les phases de croissance herbacée de ces organes. La respiration des baies diminue ensuite, alors que la respiration des tiges tend à augmenter juste avant la *véraison* lorsque la demande en carbone croît. La respiration par unité de poids des racines est aussi plus élevée pour les jeunes racines en croissance, comparé aux racines lignifiées, et elle est supérieure lorsque le

diamètre racinaire est faible (Rewald et al. 2014). D'après Morinaga et al. (2003), l'augmentation de la charge en fruit chez la vigne réduit le taux de respiration du compartiment racinaire, due à une réduction du développement de radicules.

L'accumulation de biomasse résulte à la fois de l'organogenèse de la plante et de la croissance des organes. Or ces deux composantes sont impactées par la température. Le phyllochrone varie peu lorsque la température augmente (Lebon et al. 2004), à l'exception des gammes de températures extrêmes qui l'augmentent (Parent et al. 2010). Le développement en jours est par conséquent accéléré en conditions de températures élevées, hors stress thermiques. Dans certaines régions viticoles, la durée du cycle et notamment de la période floraison-maturité a été raccourcie d'environ 10 jours entre 1950 et 2000 (ex. Bordeaux ; Jones and Davis 2000). Les modèles phénologiques sur vigne prédisent une diminution supplémentaire de la durée totale du cycle d'ici 2030, jusqu'à 20 jours (ex : Margaret river, Australie ; Webb et al. 2007). Le rayonnement intercepté cumulé au cours du cycle est par conséquent lui aussi réduit lorsque la température augmente. Or, ce dernier est étroitement relié au gain de biomasse (Monteith 1994). Chez la vigne, Grechi et al. (2007) ont rapporté une diminution de la biomasse de l'ensemble des organes (feuilles, tiges, tronc et racines), lorsque le rayonnement diminue. L'accumulation de la biomasse et sa répartition dans les différents organes végétatifs et reproducteurs de la plante dépendent par ailleurs des relations source-puits. La diminution du ratio feuille/fruits post-nouaison réduit l'allocation de biomasse vers les organes végétatifs aériens et les racines, mais modifie peu le gain de biomasse des grappes (Petrie et al. 2000; Pallas et al. 2008). Pendant les phases précoces d'élaboration du rendement, un déséquilibre trophique peut au contraire réduire le nombre d'inflorescences dans les bourgeons et/ou le nombre de baies par grappe, et par conséquent la biomasse des grappes à la récolte (Jones et al. 2013). D'après Keller et al. (2010), le taux de nouaison est réduit de 50%, lorsque la surface foliaire par fleur diminue de 20 cm² à 1 cm². Chez les plantes pérennes, dont la vigne, l'accumulation de biomasse dans les organes aériens pendant la phase pré-floraison, excède la capacité de la plante à assimiler le carbone et repose sur la remobilisation des sucres non structuraux (TNC) depuis les organes de réserve (racines, tronc, rameaux) (Lebon et al. 2008; Greer and Sicard 2009). Les racines sont le lieu majeur de stockage des sucres chez la vigne. La teneur en amidon des racines en phase hivernale atteint 30%-40% de la MS, alors qu'elle n'est que de 5% à 10% de la MS pour le tronc et les rameaux (Zapata et al. 2004; Holzapfel et al. 2010). La restauration du pool de carbohydrates dans les organes de réserve au cours de la saison est permise lorsque l'offre en carbone contrebalance la demande (Greer and Sicard 2009). Les niveaux non-limitant de rayonnements, l'augmentation de la durée de la phase post-récolte et/ou les ratios surface foliaire exposée : fruits élevés, favorisent l'accumulation de sucres dans les organes de réserve (Bennett et al. 2002; Grechi et al. 2007; Holzapfel et al. 2010). Sous climat frais, la teneur en amidon des racines à la récolte atteint par exemple 25% et 10% pour des ratios feuille/fruits de 3 m²/kg et 0.5 m²/kg, respectivement (Zufferey et al. 2012).

Un effet négatif des températures élevées sur le bilan carboné de la *Microvigne* est attendu, en raison de l'accélération probable du développement (en jours), de la diminution de la photosynthèse et de l'augmentation de la respiration. Alors que les acclimations probables de la plante aux conditions de températures pourraient en limiter les effets, l'augmentation de la charge en fruit devrait au contraire les accentuer. La présente étude a pour but de quantifier la réponse du bilan carboné de la *Microvigne* à l'élévation de la température à l'échelle de la plante entière, avec ou sans période d'acclimation de la plante aux traitements thermiques, et pour différents niveaux de charge en fruit. Dans un premier temps, les réponses de la photosynthèse et de la respiration nocturne à la température et à la charge en fruit ont été étudiées aux échelles organe et plante entière pour paramétrer un modèle de simulation des échanges gazeux. Ces modèles ont été utilisés pour simuler les bilans de carbones *a posteriori* pour les différentes expérimentations sous conditions de température contrastées. Les réponses du bilan carboné à des gradients d'élévations de la température jour/nuit ont été simulées pour des plantes virtuelles avec ou sans fruit.

II. Matériel & Méthode

II.1. Matériel végétal

Neuf expérimentations (*Exp. 1 à 4 et 6 à 10*) ont été conduites sur la *Microvigne* cultivée en pot au campus de Montpellier SupAgro-INRA de 2011 à 2014 (voir matériel et méthode général). Les Exp. 3 et 4 ont été intégralement réalisées en serre sous des conditions climatiques témoin (cf ci-dessous). Les Exp. 1 à 2 & 6 à 10 ont été conduites en chambre de culture (1 m², 20m² ou 13.5 m²) pour être soumises à des traitements thermiques contrastés. Les traitements en chambre de culture ont été appliqués après une période de pré-culture en conditions climatiques témoin en serre, *i.e.* jusqu'à 55 phytomères déployés pour les Exp 1 et 2, 30 phytomères déployés pour les Exp. 6 à 8 et jusqu'à 40 à 47 feuilles déployées pour les Exp. 9 et 10 (voir matériel et méthode général, Table 1). Un seul rameau proleptique était conservé par plante. La charge en fruits était contrôlée dans les Exp. 1 à 4 et 6 à 8 et 10 (traitement 'All.inflo') *via* la suppression (i) des grappes dépassant le stade mi-floraison à T0 (Exp. 6 à 8), (ii) des grappes dépassant le stade plateau herbacé à T0 (Exp. 1 à 3) et (iii) des grappes dépassant les stades plateau herbacé durant toute la période T0-Tf (Exp. 10) (Table 1). Dans l'Exp. 9, les organes reproducteurs étaient éliminés au fur et à mesure de leur apparition (traitement 'No.inflo'). Au cours des Exp. 9 et 10, la surface foliaire était maintenue constante respectivement autour de 1700 cm² (31 feuilles déployées) et de 2900 cm² (41 feuilles déployées) grâce à des effeuillages réguliers (Table1). Des traitements additionnels de charges variables ont été appliqués sur des lots de plantes indépendants dans les Exp 3, 4 et 8. Les traitements étaient les suivants : 1 inflorescence (P1) conservée par module ternaire (Inflo 1/2, Exp. 3), 1 feuille (P1) conservée par module ternaire (Leaf 1/3, Exp. 4) ou 1 feuille (P1) conservée sur 3 modules ternaires successifs (Leaf 1/9, Exp. 8).

Table 1 : Comparaison des plantes des traitements 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9 et 10 à T0 et Tf.

Exp.			Age des plantes (°Cd après débourrement)		Nombre de phytomères		Nombre de feuilles		Surface foliaire totale (cm²)		nombre d'organes reproducteurs		Stade maximal des organes reproducteurs		Volume total des organes reproducteurs (cm3)		ratio feuille : fruit (m²/kg)	
			T0	Tf	T0	Tf	T0	Tf	T0	Tf	T0	Tf	T0	Tf	T0	Tf	T0	Tf
1	22/12°C	all.inflo	1520	1910	58	75	45	55	3200	3700	8	18	plateau H.	véraison	23	465	-	1.06
2	30/20°C	all.inflo	1520	1910	58	75	45	55	3200	4030	8	14	plateau H.	véraison	22	218	-	2.3
3	25/15°C	all.inflo	1520	1910	58	80	45	55	3200	4900	8	18	plateau H.	véraison	-	-	-	1.8
3	25/15°C	inflo 1/2	1520	1910	58	80	45	55	3200	5100		9	plateau H.	véraison	-	-	-	3.2
4	25/15°C	all.inflo	0	900	0	40	0	35	0	2000	-	9	-	phase I	-	-	-	-
4	25/15°C	leaf 1/3	0	900	0	41	0	12	0	2200	-	11	-	phase I	-	-	-	-
6	30/15°C	all.inflo	700	1006	30	46	30	45	1400	2500	4	12	50% flo.	phase I	9	16	-	14.5
7	30/25°C	all.inflo	700	1097	30	50	30	50	1400	3100	4	15	50% flo.	phase I	8	24	-	12.5
8	25/15°C	all.inflo	1000	1430	36	51	25	40	1200	2000	5	15	50% flo.	phase I	5	17	-	3.95
8	25/15°C	leaf 1/9	1000	1430	36	51	25	5	1200	362	5	18	50% flo.	phase I	-	-	-	1.38
9	J: 20 à 35°C N: 15 à 30°C	no.inflo	860	1200	33	48	30	38	1500	1700	0	0	-	-	0	0	-	-
10	J: 20 à 35°C N: 15 à 30°C	all.inflo	1000	1450	44	58	40	43	2700	2700	29	30	phase I	plateau H.	72	140	-	-

II.2. Conditions climatiques

En serre (Exp. 3 et 4), les températures jour/nuit étaient fixées à 25°C/15°C. Le VPD de l'air moyen était compris entre 1.2 kPa et 1.6 kPa et le PAR journalier sur une photopériode de 14 heures entre 18.6 mol.m⁻².j⁻¹ et 25.3 mol.m⁻².j⁻¹ (voir matériel et méthode général, Table 1).

Les traitements thermiques étaient appliqués dans des chambres de culture de 1 m² pour les Exp. 1, 2, 6 et 7 et dans une chambre de culture de 20 m² pour l'Exp. 8. Les températures jour/nuit étaient fixées à 22°C/12°C (Exp. 1), 30°C/20°C (Exp.2), 30°C/15°C (Exp. 6), 30°C/25°C (Exp. 7) et 25°C/15°C (Exp. 8) (voir matériel et méthode général, Table 1). Pour les Exp. 9 et 10, deux chambres de culture étaient utilisées simultanément pour l'application des traitements thermiques, l'une de 13,5m² dans laquelle les mesures d'échanges gazeux étaient réalisées sur une partie des plantes, et l'autre de 1m², pour stocker les plantes non soumises aux mesures. Les deux chambres étaient régulées de manière identique tout au long des expérimentations. Différents paliers de températures nocturnes de 15°C à 30°C et de températures journalières de 20°C à 35°C étaient programmés dans les Exp. 9 et 10 sur 2 jours consécutifs, avec un incrément de 5°C (Fig. 1A). Le VPD de l'air moyen était compris entre 0.9 kPa (Exp. 1 & 2 et 6 à 8) et 1.4 kPa (Exp. 9 et 10). Le PAR moyen sur une photopériode de 14 heures variait entre 19.1 mol.m⁻².j⁻¹s (Exp. 1& 2 et 6 à 8) et 30.2 mol.m⁻².j⁻¹ (Exp. 9 & 10) (voir matériel et méthode général, Table 1). Le PAR instantané mesuré à hauteur d'apex atteignait en moyenne 460 µmol.m⁻².s⁻¹ dans les chambres de 1 m², 600 µmol m⁻² s⁻¹ dans la chambre de 13.5 m² et 394 µmol m⁻² s⁻¹ dans la chambre de 20 m².

II.3. Mesures d'échanges gazeux

Au cours des expérimentations 1 à 4 et 6 à 8, les échanges gazeux foliaires étaient mesurés 1 à 2 fois par mois. La photosynthèse était mesurée en serre ou en chambre de culture 1h à 6h après le début de jour. La respiration nocturne était mesurée en chambre de culture pour les Exp. 1 à 3 et 6 à 8, 1h à 5h avant la fin de nuit. Les Exp. 9 et 10 en chambre de culture étaient spécifiquement conçues pour l'analyse des réponses de la photosynthèse et de la respiration à la température aux échelles organe et plante entière. Les mesures d'échanges gazeux étaient effectuées sur deux jours consécutifs pour chaque palier de température jour/nuit. Le premier jour était dédié aux mesures à l'échelle de la feuille (Exp. 9 et 10) et de l'inflorescence (Exp. 10), et le deuxième jour aux mesures à l'échelle plante entière (Fig. 1B).

(i) Mesures d'échanges gazeux des feuilles

Les mesures de photosynthèse et de respiration étaient réalisées sur 3 plantes (Exp. 10) à 6 plantes (Exp. 1 à 4 et 6 à 9), à 3 niveaux d'indices plastochroniques: PI5 (feuille en croissance), PI10 (jeune feuille ayant fini son expansion) et PI25 (feuille mature). Ces mesures étaient réalisées à l'aide d'un

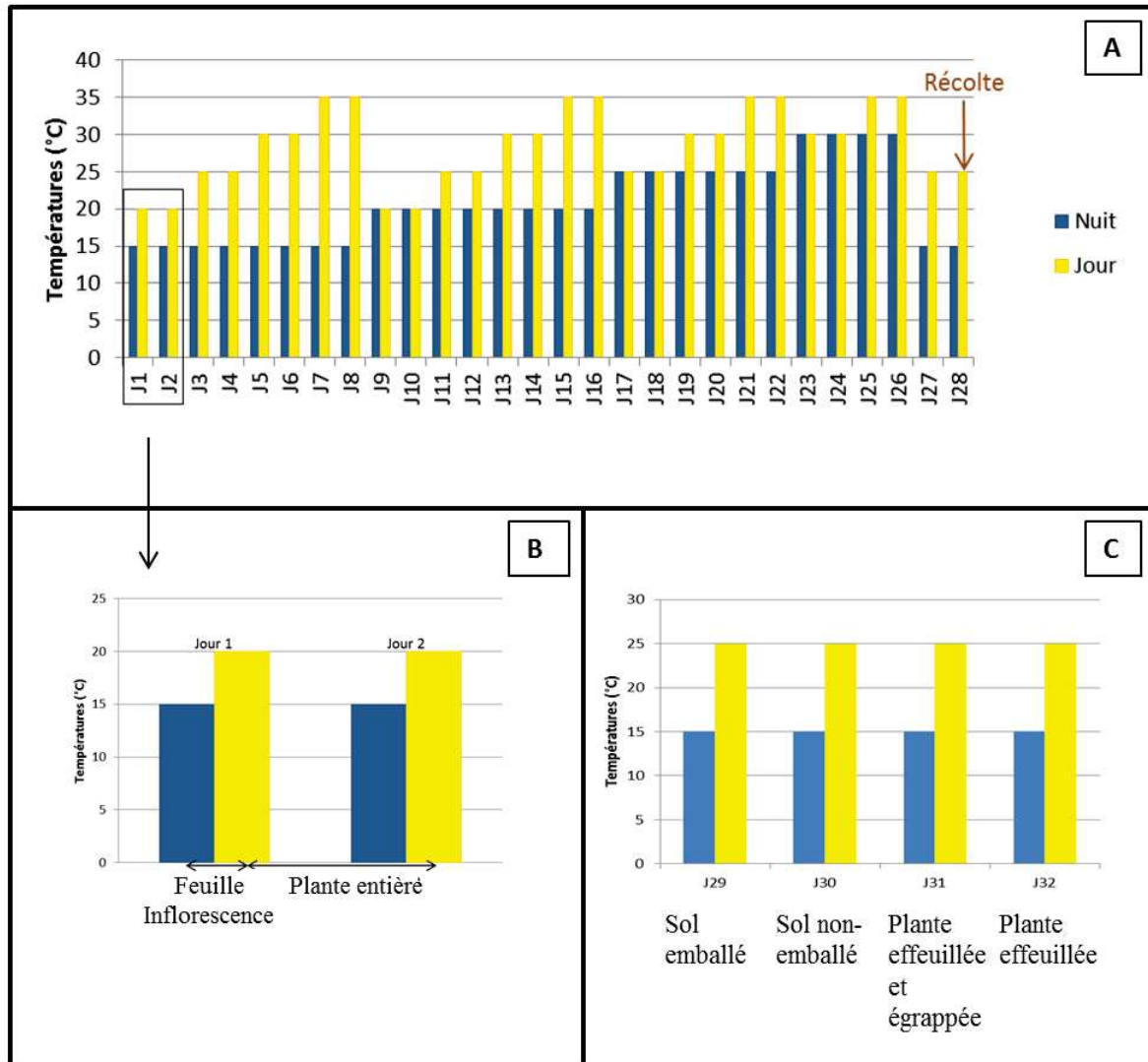


Figure 1: Plan expérimental des mesures d'échanges gazeux réalisées au cours des Exp. 9 et 10. (A) Paliers de températures diurne et nocturne dans les chambres de culture au cours des 28 jours d'expérimentation. (B) Planning des mesures à l'échelle organe et à l'échelle plante entière au cours des 48 heures d'un palier de température. (C) Mesures supplémentaires réalisées à la fin de l'Exp. 10 sur plantes disséquées.

analyseur d'échange gazeux portable de type LICOR (Li6400XT pro, LICOR, Lincoln, Neb. USA) pour les *Exp. 1 à 4 et 8 à 9*. La pince du LICOR était équipée d'une chambre rectangulaire de mesure d'une surface de 6 cm². Pour les *Exp. 6, 7 et 10*, un analyseur d'échange gazeux portable de type CIRAS-2 (PP Systems©, Amesbury, MA, USA) équipé d'une chambre circulaire d'une surface de 2.54 cm² était utilisé. Les pinces LICOR et CIRAS étaient connectées à un module de rayonnement PAR, permettant d'imposer un PAR de 0 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ la nuit, et de 560 $\mu\text{mol m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ le jour. Ce niveau de PAR le jour correspondait au PAR moyen mesuré sur les feuilles de PI5, PI10 et PI25 en serre. Des mesures additionnelles de photosynthèse à différents niveaux de PAR dans la gamme 10-620 $\mu\text{mol m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ont été réalisées au cours des *Exp. 1, 2, 6 et 7*. La concentration en CO₂ de l'air entrant dans les chambres LICOR et CIRAS était régulée à 380 ppm. La température de l'air et le VPD de l'air dans les pinces étaient réglés aux mêmes valeurs que celles imposées dans les dispositifs expérimentaux en serre et en chambre de culture.

(ii) *Mesures d'échanges gazeux des organes reproducteurs*

La photosynthèse et la respiration des inflorescences étaient mesurées dans l'*Exp. 10* aux PI5 (inflorescence au stade bouton floraux), PI10 (inflorescence au stade floraison) et PI25 (grappe au stade fermeture de la grappe) sur 3 plantes. Un analyseur d'échange gazeux portable de type LICOR (Li6400XT pro, LICOR, Lincoln, Neb. USA) était utilisé. Ce dernier était équipé d'une chambre de type conifère, sans module de rayonnement PAR. Le PAR variait en fonction du rang d'insertion de l'inflorescence. Il était compris entre 450 et 550 $\mu\text{mol m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ pour le PI 5 ; entre 350 et 450 $\mu\text{mol m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ pour le PI 10 et entre 250 et 350 $\mu\text{mol m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ pour le PI 25. La concentration en CO₂ de l'air entrant dans la chambre LICOR était fixée à 380 ppm. La température de l'air et le VPD de l'air dans la pince étaient réglés aux mêmes valeurs que celles imposées dans la chambre de culture.

(iii) *Mesures d'échanges gazeux des plantes entières*

Pour les mesures de photosynthèse nette diurne et de respiration nocturne à l'échelle plante entière aux différents paliers de températures (*Exp. 9 et 10*), quatre chambres d'assimilation en Polyméthyl Methacrylate reliées à un analyseur d'échange gazeux de type CIRAS DC (PP Systems©, Amesbury, MA, USA) ont été fabriquées au LEPSE. Le principe de fonctionnement de ces chambres multiplexées est inspiré d'un prototype développé pour des mesures au vignoble par Perez-Peña et Tarara (2004) et décrit dans l'article de Bediee *et al.* (en préparation, Annexe 3). Sur les 4 chambres, seules 3 étaient utilisées pour les mesures sur les plantes. La quatrième était maintenue vide pour évaluer d'éventuelles dérives des taux de CO₂ entre l'air entrant et l'air sortant de la chambre. Avant chaque mesure, les pots des plantes étaient emballés dans du film plastique afin de limiter les fuites en provenance du sol. Les chambres d'assimilation étaient positionnées dans la chambre de culture pour une durée de 24h. La température de la chambre de culture était régulée 3°C et 1°C en dessous des consignes de températures ciblées le jour et la nuit, respectivement, afin de prendre en compte l'effet de serre à l'intérieur des chambres d'assimilation plante entière. A l'issue de l'*Exp. 10*, les échanges gazeux de

plantes effeuillées et/ou égrappées, du compartiment sol-racines avec ou sans emballage ont été mesurés pour évaluer la contribution respective des feuilles, des inflorescences, des entre-nœuds et du compartiment sol-racines aux échanges gazeux mesurés à l'échelle plante entière. Ces mesures ont été réalisées aux températures jour/nuit 25°C/15°C, à un PAR moyen de 600 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ le jour et à un VPD de l'air journalier moyen de 1.4 kPa.

II.4. Calculs des surfaces foliaires et des volumes d'inflorescences

Afin de calculer la photosynthèse et la respiration foliaires par organe et /ou par plante, à partir des mesures exprimées par unité de surface, la longueur des nervures principales des feuilles était mesurée préalablement aux mesures d'échanges gazeux aux PI5, PI10 et PI25 (mesures échelle organe) ou pour l'ensemble des PI (mesures plante entière). La surface foliaire était déduite des longueurs de feuilles en utilisant une relation allométrique, comme décrit dans le chapitre 1.

Le volume des inflorescences était déterminé pour exprimer la photosynthèse et la respiration par unité de volume, à partir de mesures morphologiques (Exp. 10). Les inflorescences étaient photographiées aux PI5, PI10 et PI25, préalablement aux mesures de respiration et de photosynthèse, et à chaque PI à T0 et Tf, à l'aide d'un Canon EOS 600D équipé d'un objectif macro de 100mm, ISO 1600 (CANON, Courbevoie, France). Le nombre de fleurs ou baies était compté simultanément *in situ*. Les volumes des inflorescences étaient déduits du nombre de fleurs ou baies et des diamètres et/ou longueurs des fleurs, baies et rachis mesurés sur les photographies grâce au logiciel image J, comme décrit dans la Table 2.

Les volumes d'inflorescences estimés par analyse d'image ont été corrigés à partir des coefficients d'une corrélation paramétrée entre ces volumes estimés et les volumes mesurés par immersion des inflorescences à Tf (méthode d'Archimède, Annexe 2 ; eq. 1).

$$Vol. cor. (mm^3) = -8 \times 10^{-8} - 8 \times (Vol. estim.)^2 + 0.1312 \times Vol. estim. + 630.03 \quad (Eq.1)$$

II.5. Modélisation de la réponse des échanges gazeux à la température aux échelles organe et plante entière

Les réponses de l'activité photosynthétique nette (A_n) et de la respiration (R) des feuilles et des inflorescences à la température ont été paramétrées uniquement pour le traitement avec inflorescences 'All.inflo' (Exp. 1, 2, 3, 6, 7, 8, 10) et le traitement sans inflorescence 'No.inflo' (Exp. 9), pour lesquels différents traitements thermiques ont été appliqués à court terme (Exp. 9 & 10) ou à long terme (Exp. 1 à 3 & 6 à 8). Une analyse de covariance des résidus relatifs de A_n et R aux activités photosynthétique et respiratoire maximales (A_{max} , R_{max}), à chaque palier de température, a été réalisée. Les modèles obtenus ont été testés aux échelles organe et plante entière.

Table 2 : Estimation du volume des inflorescences à partir des photographies aux stades bouton floraux (PI 3 à 7), et floraison (PI 8 à 15) ou post-floraison (PI > 16)

Stade bouton floraux	Stade floraison ou post-floraison
Volume bouton floral = Largeur³ Volume rachis = $\pi \times \text{Rayon}^2 \times \text{Hauteur}$	Volume baie = $\frac{4}{3} \times \pi \times p \times q^2$ avec p = rayon polaire et q = rayon équatorial Volume pédoncule = $\frac{\pi}{3} \times \text{Rayon}^2 \times \text{Hauteur}$ Volume rachis = $\pi \times \text{Rayon}^2 \times \text{Hauteur}$

(i) Courbes enveloppes de A_{max} et R_{max} à l'échelle organe en fonction de la température

Les réponses de A_{max} et R_{max} pour les feuilles ($A_{max F}$; $R_{max F}$) et de R_{max} pour les inflorescences ($R_{max I}$) à la température ont été paramétrées à partir d'une approche courbe enveloppe. Les valeurs maximales des échanges gazeux ont été sélectionnées à partir du quantile 90% (Q_{90}) de la photosynthèse des feuilles (A_{nF}) et des quantiles 10% (Q_{10}) des respirations des feuilles ou inflorescences (R_F , R_I) à chaque palier de température d'organe de 5°C sur la gamme 15°C-35 °C comme suit (eq. 2, 3 et 4) :

$$A_{max F} \{T_x - T_{x+5}\} = Q_{90}(A_{n F}) \{T_x - T_{x+5}\} \quad (\text{Eq.2})$$

$$R_{max F} \{T_x - T_{x+5}\} = Q_{10}(R_F) \{T_x - T_{x+5}\} \quad (\text{Eq.3})$$

$$R_{max I} \{T_x - T_{x+5}\} = Q_{10}(R_I) \{T_x - T_{x+5}\} \quad (\text{Eq.4})$$

Avec $A_{max F}$ et $R_{max F}$ exprimés en $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ et $R_{max I}$ exprimé en $\mu\text{mol. m}^{-3}.\text{s}^{-1}$. T_x est la valeur minimale de chaque palier de température d'organe (*i.e* 8°C, 13°C, 18°C, 23°C, 28°C ou 33°C).

Les courbes enveloppes de réponse des échanges gazeux à la température ont été ajustées en utilisant un modèle quadratique pour $A_{max F}$ et un modèle exponentiel pour $R_{max F}$ et $R_{max I}$.

(ii) Analyse de covariance des résidus relatifs de An et R par rapport à A_{max} et R_{max} à l'échelle organe

Les paramètres des courbes enveloppes d'échanges gazeux en fonction de la température d'organe ont été utilisés pour calculer les résidus relatifs (1) de la photosynthèse nette des feuilles (A_{nF}) par rapport à $A_{max F}$ ($RR_{An F}$), (2) de la respiration des feuilles (R_F) par rapport à $R_{max F}$ ($RR_{R F}$) et (3) de la photosynthèse nette et de la respiration des inflorescences (A_{nI} , R_I) par rapport à $R_{max I}$ ($RR_{An,R I}$). Une analyse de covariance sur les résidus relatifs a été réalisée en testant les effets de plusieurs facteurs quantitatifs, *i.e.* le VPD feuille-air (VPD_{fa}), le PAR, la température moyenne de l'air au cours des 5 jours précédant la mesure ($T_{moy. 5j}$), ainsi que plusieurs facteurs qualitatifs, *i.e.* le dispositif (D : serre ou chambre de culture), la classe de PI (PI5, PI10 ou PI25) et la charge en fruit (C : All.inflo', 'No.inflo'). Les modèles testés pour $RR_{An F}$, $RR_{R F}$ et $RR_{An,R I}$ étaient les suivants (eq. 5 à 7) :

$$RR_{An F} = f(VPD_{fa}, PAR, T_{moy5jours}, D, PI, C) \quad (\text{Eq.5})$$

$$RR_{R F} = f(T_{moy5jours}, D, PI, C) \quad (\text{Eq.6})$$

$$RR_{An,R I} = f(VPD_{fa}, PAR, T_{moy5jours}, PI) \quad (\text{Eq.7})$$

La qualité des modèles finaux, après sélection des régresseurs, a été évaluée par le critère AIC.

(iii) Test de la qualité des estimations de An et R aux échelles organe et plante entière

La photosynthèse et la respiration à chaque classe de PI (PI5, PI10 & PI25) par unité de surface foliaire ($An_{estim.F PI}$ & $R_{estim.F PI}$) ou par unité de volume inflorescentiel ($An_{estim.I PI}$ & $R_{estim.I PI}$) ont été estimées à partir des paramètres des courbes enveloppes et des modèles de covariance comme décrit ci-dessous (eq. 8 à 10) :

$$An_{estim.F PI} = A_{max F PI} - \frac{RR_{An F PI} \times A_{max F PI}}{100} \quad (Eq.8)$$

$$R_{estim.F PI} = R_{max F PI} - \frac{RR_{R F PI} \times R_{max F PI}}{100} \quad (Eq.9)$$

$$An_{estim.I PI} \text{ ou } R_{estim.I PI} = R_{max I PI} - \frac{RR_{An,R I PI} \times R_{max I PI}}{100} \quad (Eq.10)$$

Avec $An_{estim.F PI}$ et $R_{estim.F PI}$ exprimés en $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ et $An_{estim.I PI}$ et $R_{estim.I PI}$ exprimés en $\mu\text{mol.m}^{-3}.\text{s}^{-1}$.

Les estimations d'échanges gazeux à l'échelle organe ont été comparées dans un premier temps aux valeurs observées en utilisant le jeu de données ayant servi à paramétrer les modèles de courbe enveloppe et de covariance (Exp. 1 à 3 & 6 à 10).

Les échanges gazeux ont ensuite été estimés à l'échelle de la plante et comparés aux mesures d'échanges gazeux plante entière des Exp. 9 et 10. Les activités photosynthétiques et respiratoires par organe étaient calculées partir des estimations d'échanges gazeux par unité de surface ou de volume (eq. 8 à 10) et des estimations de surfaces foliaires (Sf) et volumes inflorescentiels ($Vol.cor$) de chaque organe. Ces dernières ont ensuite été cumulées à l'échelle plante entière ($An_{estim.pl}$, $R_{estim.pl}$) (eq. 11 et 12) :

$$An_{estim.pl} = \sum_{PI=1}^{max.PI} An_{estim.F PI} \times SF_{PI} + \sum_{PI=1}^{max.PI} An_{estim.I PI} \times Vol.cor_{PI} \quad (Eq.11)$$

$$R_{estim.pl} = \sum_{PI=1}^{max.PI} R_{estim.F PI} \times SF_{PI} + \sum_{PI=1}^{max.PI} R_{estim.I PI} \times Vol.cor_{PI} \quad (Eq.12)$$

Avec $An_{estim.pl}$ et $R_{estim.pl}$ exprimés en $\mu\text{mol.plante}.\text{s}^{-1}$. Pour les estimations plante entière, les classes de PI suivantes ont été retenues : $PI < 7 = PI5$; $PI [8-15] = PI10$, et $PI > 16 = PI25$.

II.6. Modélisation du bilan du carbone à l'échelle plante entière

Le bilan de carbone aérien (BC_a) et le bilan de carbone total (BC_{tot}), intégrant les racines, ont été simulés pour les plantes des Exp. 1 à 2 & 6 à 8. Les simulations ont été évaluées *a posteriori*, en comparant les bilans de carbone sur la période T0-Tf aux quantités de sucres totaux non structuraux (TNC) accumulés sur la partie aérienne ou l'ensemble de la plante. Le BC_a a ensuite été simulé pour

des plantes fictives soumises à différents paliers de température jour/nuit, avec ou sans période d'acclimatation, et à différents niveaux de charge en fruit.

(i) *Formalismes de simulation des BC aérien ou total (BC_a ou BC_{tot})*

Le BC (BC_a ou BC_{tot}), sur une période donnée (t_1 à t_2) était calculé comme le différentiel entre le gain de carbone net aérien (ΔC_{An-R}), et la quantité de carbone fixée dans la biomasse aérienne ou totale (ΔC_{BMa} , ΔC_{BMtot}).

Le gain de carbone net (ΔC_{An-R}), *i.e.* le différentiel entre le carbone assimilé par la photosynthèse des feuilles et des inflorescences ($C_{An F}$, $C_{An I}$), et le carbone respiré par les feuilles et inflorescences ($C_{R F}$, $C_{R I}$), était déterminé chaque jour comme suit :

$$\Delta C_{An-R} = \int_{t_0}^{t_f} (C_{An} - C_R) \times dt \quad (\text{Eq.13})$$

Avec:

$$C_{An} = C_{An F} + C_{An I} ;$$

$$C_R = C_{R F} + C_{R I} ;$$

La fraction de C fixée dans la biomasse aérienne (ΔC_{BMa}) ou totale (*i.e.* incluant les racines, ΔC_{BMtot}) était estimée à 40% des biomasses sèches. Les quantités de C fixées dans les feuilles ($\Delta C_{BM F}$), inflorescences ($\Delta C_{BM I}$), entre-nœuds ($\Delta C_{BM EN}$) et racines ($\Delta C_{BM RAC}$) étaient déterminées à t_2 et t_1 pour évaluer BC_a ou BC_{tot} :

$$BC_a = \Delta C_{An-R} - \Delta C_{BMa} \quad (\text{Eq.14})$$

$$BC_{tot} = \Delta C_{An-R} - \Delta C_{BMtot} \quad (\text{Eq.15})$$

Avec :

$$\Delta C_{BMa} = \Delta C_{BM F} + \Delta C_{BM I} + \Delta C_{BM EN}$$

$$\Delta C_{BMtot} = \Delta C_{BMa} + \Delta C_{BM RAC}$$

(ii) *Simulations a posteriori des BC_a et BC_{tot} (Exp. 1 à 2 & 6 à 8)*

Le BC_a (Exp. 1 à 2 & 6 à 8) et le BC_{tot} (Exp. 6 à 8) sur la période a période T_0 - T_f ont été simulés *a posteriori*.

L'assimilation nette et la respiration des feuilles et des inflorescences à chaque niveau de PI étaient simulées à T0 et Tf, grâce aux modèles de courbe enveloppe et de covariance, en calculant les surfaces foliaires et les volumes inflorescentiels comme expliqué précédemment (voir chapitre1, 2 et 3). Un PAR de 560 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ a été considéré pendant la photopériode pour tous les organes quel que soit leur rang. Le gain de carbone net ($\Delta C_{\text{An-R}}$) journalier était estimé par extrapolation linéaire des valeurs de C_{An} et C_{R} entre T0 et Tf.

Les quantités de C fixées dans les biomasses aérienne ou totale (ΔC_{BMA} , ΔC_{BMtot}) étaient déterminées à partir des différentiels de biomasses entre T0 et Tf. Les biomasses à T0 étaient mesurées sur deux lots de plantes comparables pour les Exp. 6 à 8. Pour les Exp. 1 & 2, les biomasses à T0 ont été déterminées sur des plantes de même stade phénologique de l'Exp. 3 (serre).

Les BC_{a} et BC_{tot} étaient calculés à l'échelle de la plante entière. Le BC_{a} de la zone sensible à l'avortement ($BC_{\text{a}<\text{Flo}}$), *i.e.* des PI de stade antérieur à 50% floraison à T0 (voir chapitre 2), était également simulé. Les composantes des BC_{a} , BC_{tot} et $BC_{\text{a}<\text{Flo}}$ (ΔC_{An} , ΔC_{R} et ΔC_{BMA}) ont été calculées pour chaque organe (feuille, inflorescence, entre-nœuds et racines), à l'échelle plante entière ou spécifiquement pour la zone sensible à l'avortement. Les BC (BC_{a} , BC_{tot} et $BC_{\text{a}<\text{Flo}}$), et leurs composantes, étaient déterminés pour la totalité de la période T0-Tf ou sur un pas de temps de 24 h, en les divisant par le nombre de jours de la période T0-Tf.

(iii) *Quantité de sucres non structuraux accumulés (Exp. 1 à 2 & 6 à 8)*

Les quantités de C accumulé sous forme de sucres non structuraux (TNC ou glucose, fructose, saccharose et amidon) dans les organes aériens (ΔC_{TNCa} ; Exp. 1 à 2 & 6 à 8) ou pour la plante entière (ΔC_{TNCtot} ; Exp. 6 à 8) ont été estimées *a posteriori*. Les valeurs de ΔC_{TNCa} et ΔC_{TNCtot} étaient évaluées comme les différentiels de TNC entre T0 et Tf, partir des profils de biomasses et de concentrations en TNC de chaque organe aérien (feuilles, inflorescences, entre-nœuds) et des racines. Les sucres accumulés dans les rachis des inflorescences $\Delta C_{\text{TNC RCH}}$ et dans les baies $\Delta C_{\text{TNC B}}$ étaient évalués séparément. Pour les feuilles et les entre-nœuds, $\Delta C_{\text{TNC F}}$ et $\Delta C_{\text{TNC EN}}$ étaient déterminés sur une sélection de phytomères seulement. Les valeurs de $\Delta C_{\text{TNC F}}$ et $\Delta C_{\text{TNC EN}}$ des autres phytomères étaient estimées à l'aide d'ajustements de type sigmoïdal. Le C accumulé dans les racines $\Delta C_{\text{TNC RAC}}$ était quantifié pour l'ensemble du système racinaire, Les quantités de C accumulées dans les différents organes aériens et des racines étaient sommées pour déterminer ΔC_{TNCa} et ΔC_{TNCtot} (eq. 16 & 17) :

$$\Delta C_{\text{TNCa}} = \Delta C_{\text{TNC RCH}} + \Delta C_{\text{TNC B}} + \Delta C_{\text{TNC F}} + \Delta C_{\text{TNC EN}} \quad (\text{Eq.16})$$

$$\Delta C_{\text{TNCtot}} = \Delta C_{\text{TNCa}} + \Delta C_{\text{TNC RAC}} \quad (\text{Eq.17})$$

Les BC des organes aérien ou de la plante entière (BC_a , BC_{tot}), ont été comparés aux quantités de C accumulé forme de sucres TNC (ΔC_{TNCa} et ΔC_{TNCtot}), soit sur la période T0-Tf, soit par 24h.

(iv) *Simulation du BC_a pour une plante fictive soumise à différents traitements thermiques*

Les simulations des réponses du BC_a à la température pour des plantes fictives avec ou sans inflorescence, et acclimatées ou pas au traitement thermique imposé (température moyenne au cours des 5 jours antérieurs, $T_{moy. 5j}$), ont été réalisées pour des paliers de températures jour et nuit de 2°C dans la gamme de températures 20°C-34°C le jour et 15°C- 31°C la nuit. Le BC_a était calculé sur un pas de temps de 24h à l'échelle de la plante, le PAR a été considéré constant à 560 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ pendant les 14h de photopériode et ce pour tous les organes. Les plantes fictives avec ou sans inflorescence avaient un nombre de phytomères et une charge en fruit (au stade pre-véraison) prédéfinis (voir résultats). Leur ratio feuille : fruit était de 1 $\text{m}^2 \cdot \text{kg}^{-1}$ (masse fraîche).

Le gain de carbone net de la plante (ΔC_{An-R}) sur 24h était déterminé à partir des simulations de photosynthèse et de respiration des feuilles et des inflorescences à chaque PI, en utilisant les modèles de courbe enveloppe et de covariance définis précédemment.

Le C fixé dans la biomasse aérienne sur 24h (ΔC_{BMa}) était estimé à partir du nombre de phytomères émis (ΔNB_{phy}) et de la quantité moyenne de C fixée dans la biomasse d'un phytomère mature ($\Delta C_{BMa moy}$), en considérant le gain de biomasse répartie sur l'intégralité de la plante au cours de l'émission d'un phytomère équivalent à celui d'un nouveau phytomère mature (eq. 18) :

$$\Delta C_{BMa} = \Delta NB_{phy} \times (\Delta C_{BMa moy}) \quad (\text{Eq. 18})$$

Avec:

$$\Delta C_{BMa moy} = \Delta C_{BM F moy} + \Delta C_{BM I moy} + \Delta C_{BM EN moy}$$

$$\Delta NB_{phy} = \text{Phyllochrone} \times \text{temps thermique}$$

Un phyllochrone moyen de 25°Cj (voir chapitre 2) était utilisé pour les simulations.

II.7. Analyses statistiques

Les données ont été analysées comme décrit dans le matériel et méthode général en utilisant R (R2.13.2, Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

III. Résultats

III.1. *Réponses des échanges gazeux à la température et à la charge en fruit à l'échelle de l'organe*

L'activité photosynthétique nette et la respiration des feuilles par unité de surface ($An_{F\ PI}$, $R_{F\ PI}$) et des inflorescences par unité de volume ($An_{I\ PI}$, $R_{I\ PI}$), ont été mesurées à chaque classe d'indice plastochronique (PI 5, PI 10 ou PI 25) pour les traitements thermiques de longue et courte durée en serre et en phytotron (Exp. 1 à 3 & 6 à 10). Les valeurs de $An_{F\ PI}$, $R_{F\ PI}$ fluctuaient de façon importante au cours des expérimentations avec les traitements thermiques de longue durée et la charge 'All.inflo' (Exp. 1 à 3 et 6 à 8, voir Annexe 2, figure 2). Cependant, en l'absence d'effet significatif des dates de mesures sur $An_{F\ PI}$ et $R_{F\ PI}$ ($P > 5\%$) (Annexe 2, table1), ces derniers ont été moyennés pour chaque combinaison expérimentation x température x charge en fruit, toutes dates confondues (Fig. 2 et 3). Pour les traitements thermiques de courte durée, la photosynthèse nette et la respiration des feuilles et des inflorescences étaient mesurées à différents niveaux de température jour/nuit dans la gamme 15°C-35°C, répétés plusieurs fois au cours du cycle (Exp. 9 et 10). Les effets des températures nocturnes sur $An_{F\ PI}$ et $An_{I\ PI}$ et des températures diurnes sur $R_{F\ PI}$ et $R_{I\ PI}$ étant minoritaires (voir Annexe 2, Tables 2 à 4), ces dernières ont également été moyennées par la suite pour chaque combinaison expérimentation x température.

Les valeurs de photosynthèse foliaire ($An_{F\ PI}$) pour les traitements thermiques de longue durée en chambre de culture (Exp. 1 à 2 & 6 à 8), sont comprises entre 6 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ et 9 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ et celles des respirations foliaires ($R_{F\ PI}$) entre -0.2 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ et -2.2 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Aucune tendance nette ne semble ressortir des évolutions d' $An_{F\ PI}$ en réponse à la température ou au PI (Fig. 2A). Au contraire, $R_{F\ PI}$ augmente aux fortes températures, et il est supérieur pour le PI 5 comparé aux PI 10 et PI 25 ($P < 5\%$, Exp. 2 et 7) (Fig. 2B). Par exemple, les valeurs de $R_{F\ PI}$ aux PI 5 et PI 25 sont de -0.5 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ et -0.2 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectivement à 15°C, alors qu'ils atteignent -2.2 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ et -0.6 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectivement, à 25°C. Les mêmes tendances sont observées lorsqu' $An_{F\ PI}$ et $R_{F\ PI}$ sont exprimés par organe (Annexe 2, Fig. 4).

Les impacts de la charge en fruit sur la photosynthèse et la respiration foliaire ($An_{F\ PI}$, $R_{F\ PI}$) en conditions de températures jour/nuit témoins (25°C/15°C) en serre et en phytotron ont ensuite été analysés pour les traitements de longue durée (Exp. 3, 4 et 8) et de courte durée (Exp. 9 et 10) (Fig. 3). Les niveaux de charge testés étaient les suivants : absence d'effeuillage et d'égrappage ('All.inflo'), gradients d'égrappage ('No.inflo', 'Inflo 1/2') et gradients d'effeuillage ('Leaf 1/3', 'Leaf 1/9') (voir matériel et méthode général, Table 1). Les variations de $An_{F\ PI}$ sont comprises entre 5 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ et 13 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ pour l'ensemble des traitements (Fig. 3A). Les valeurs de $An_{F\ PI}$, sont similaires pour les 3 classes de PI ($P > 5\%$). Le dispositif expérimental impacte au contraire $An_{F\ PI}$, avec des niveaux plus élevées en serre qu'en phytotron ($P < 5\%$). Pour le traitement 'All.inflo', $An_{F\ PI}$ est en moyenne de 10 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en serre (Exp. 3) et de 8 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en phytotron pour l'Exp. 8. Les valeurs de $An_{F\ PI}$

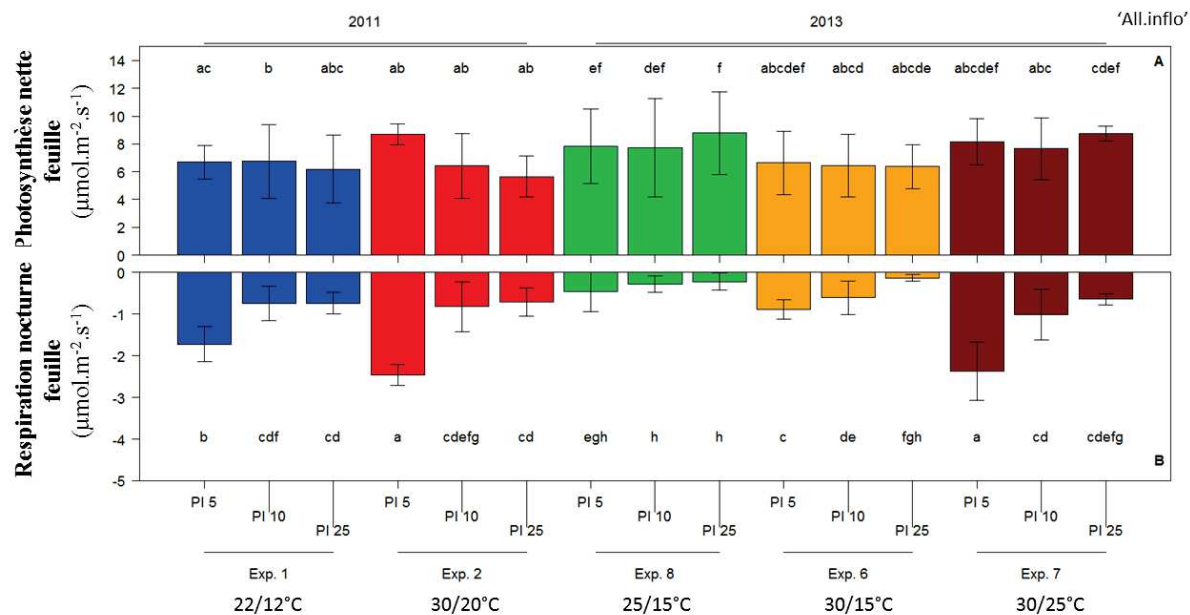


Figure 2: Photosynthèse (A) et respiration (B) foliaires exprimées par unité de surface pour les expérimentations en phytotron, avec des traitements thermiques de longue durée et le niveau de charge ‘All.inflo’ (Exp. 1, 2, 6, 7 et 8). Les valeurs de A_{F} et R_{F} sont représentées aux différentes classes de PI (PI5, PI10 et PI25). Chaque barre est la moyenne d’au moins 6 plantes. Les barres d’erreurs correspondent aux écarts types. Les lettres indiquent les différences significatives ($P < 0.05$).

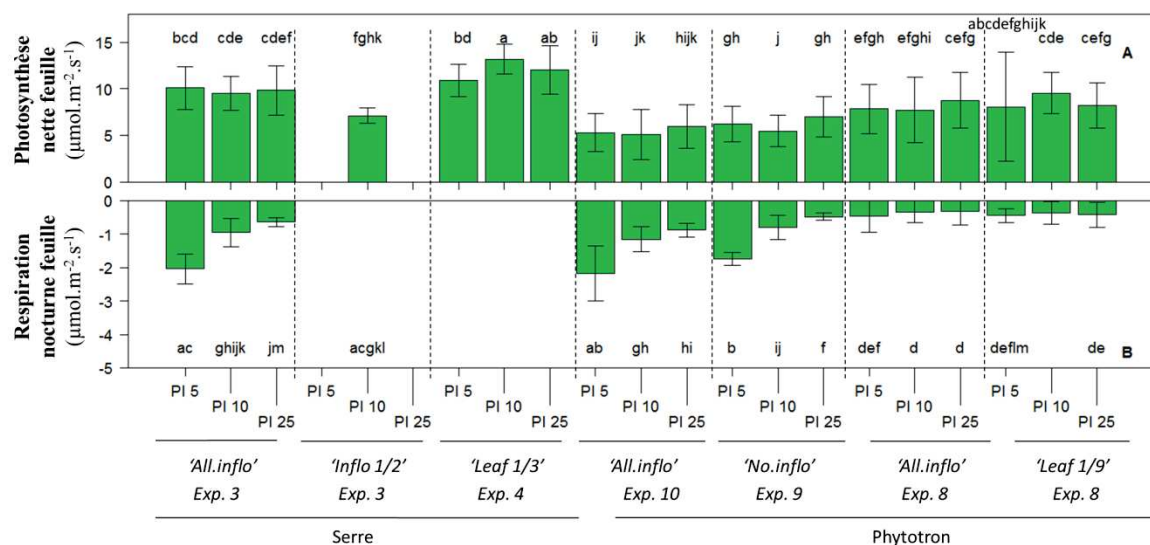


Figure 3: Photosynthèse (A) et respiration (B) foliaires exprimées par unité de surface pour les expérimentations en serre et en phytotron en conditions de températures témoin (25°C/15°C) et pour des niveaux de charge contrastés (Exp. 3, 4, 8, 9 et 10). Les niveaux de charge sont les suivants : absence d’inflorescence (‘No.inflo’), présence de toutes les inflorescences (‘All.inflo’), égrappage (1 inflorescence sur 2 conservée ‘Inflo 1/2’) et effeuillage (1 feuille sur 3 conservée ‘Leaf 1/3’ ou 1 feuille sur 9 conservée ‘Leaf 1/9’). Les valeurs de A_{F} et R_{F} sont représentées aux différentes classes de PI (PI5, PI10 et PI25). Chaque barre est la moyenne d’au moins 3 plantes. Les barres d’erreurs correspondent aux écarts types. Les lettres indiquent les différences significatives ($P < 0.05$).

sont supérieures pour les traitements effeuillés en serre ('Leaf 1/3'), comparé aux traitements non effeuillés ('All.inflo' ; 'Inflo 1/2'), et pour le traitement non égrappé ('All.inflo') comparé au traitement égrappé ('Inflo 1/2') ($P < 5\%$). Ces tendances ne sont toutefois pas retrouvées pas en phytotron. La respiration des feuilles varie à la fois en fonction du PI et de la charge (Fig 3B). Comme montré ci-dessus dans la Fig. 2B, $R_{F\ PI}$ est supérieur au PI 5, comparé aux PI 10 et PI 25 pour les traitements 'All.inflo' (Exp. 3 et 10) et 'No.inflo' (Exp. 9). Pour le traitement 'All.inflo' de l'Exp. 10 par exemple, $R_{F\ PI}$ est de $-1.8\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ et de $-0.5\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ aux PI 5 et PI 25, respectivement. Les valeurs de $R_{F\ PI}$ sont supérieures pour le dispositif en serre (Exp. 3, 'All.inflo'), comparé au dispositif en phytotron (Exp. 8, 'All.inflo'). La présence d'inflorescences ('All.inflo') dans l'Exp. 10 tend à augmenter $R_{F\ PI}$ comparé au traitement 'No.inflo' de l'Exp.9. Ainsi, $R_{F\ PI}$ est en moyenne de $-1.5\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ pour le traitement 'All.inflo' et de $-0.7\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ pour le traitement 'No.inflo'.

Les plantes soumises au traitement $25^{\circ}\text{C}/15^{\circ}\text{C}$ sur une longue période ('All.inflo' Exp. 8) ont des valeurs de $An_{F\ PI}$ légèrement supérieures à celles des plantes soumises au même traitement à court terme ('All.inflo' Exp. 10) et des valeurs de $R_{F\ PI}$ au contraire inférieure ($P < 5\%$, Figure 3). L'acclimatation potentielle des échanges gazeux foliaires aux différents paliers de températures dans la gamme $25\text{-}30^{\circ}\text{C}$ le jour et $15\text{-}25^{\circ}\text{C}$ la nuit a été évaluée pour le niveau de charge 'All. inflo' en comparant $An_{F\ PI}$ et $R_{F\ PI}$ entre les traitements thermiques de longues durées (Exp. 1 à 2 & 6 à 8) et de courtes durées (Exp. 10) (Figure 4). Comme observé dans la Fig. 3, $An_{F\ PI}$ tend à être plus élevé lorsque les traitements thermiques sont appliqués pendant une longue durée, suggérant une acclimatation de la photosynthèse à la température imposée. La respiration est au contraire peu impactée par la durée du traitement thermique. Les valeurs de $R_{F\ PI}$ tendent à être inférieures à long terme uniquement pour le traitement $25^{\circ}\text{C}/15^{\circ}\text{C}$, comme mentionné précédemment (Exp. 8 vs. Exp. 10, Fig. 3).

Les réponses de la photosynthèse et la respiration foliaires ($An_{F\ PI}$, $R_{F\ PI}$) aux différents couples de température jour/nuit de courte durée dans la gamme $15^{\circ}\text{C}\text{-}35^{\circ}\text{C}$ ont été analysées en l'absence d'inflorescence (Exp. 9, 'No.inflo') ou en présence d'inflorescence (Exp. 10, 'All.inflo'). En accord avec les observations de la figure 3 ($25^{\circ}\text{C}/15^{\circ}\text{C}$), le niveau de charge ('All.inflo' vs. 'No.inflo') a peu d'impact sur $An_{F\ PI}$ pour les différents paliers de température, alors que $R_{F\ PI}$ est supérieur pour le traitement 'All.inflo', comparé au traitement 'No.inflo' (Fig. 5 et 6). L'augmentation de la température diurne tend à diminuer $An_{F\ PI}$ (Fig. 5A et 5C). En l'absence d'inflorescence par exemple, $An_{F\ PI}$ au PI 5 atteint $7.5\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ à 20°C et $6.5\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ à 35°C . A l'exception de quelques paliers de températures de l'Exp. 10 ('All.inflo'), pour lesquels $An_{F\ PI}$ est supérieur au PI 5 comparé au PI 25, la classe de PI impacte peu $An_{F\ PI}$ (Annexe 2, Tables 5 et 6). La respiration des feuilles augmente au contraire pour les faibles PI (Fig. 5B et 5D ; Annexe 2, Table 5 et 6). Les valeurs de $R_{F\ PI}$ sont également supérieures aux températures élevées. En l'absence d'inflorescence (Exp. 9), $R_{F\ PI}$ est

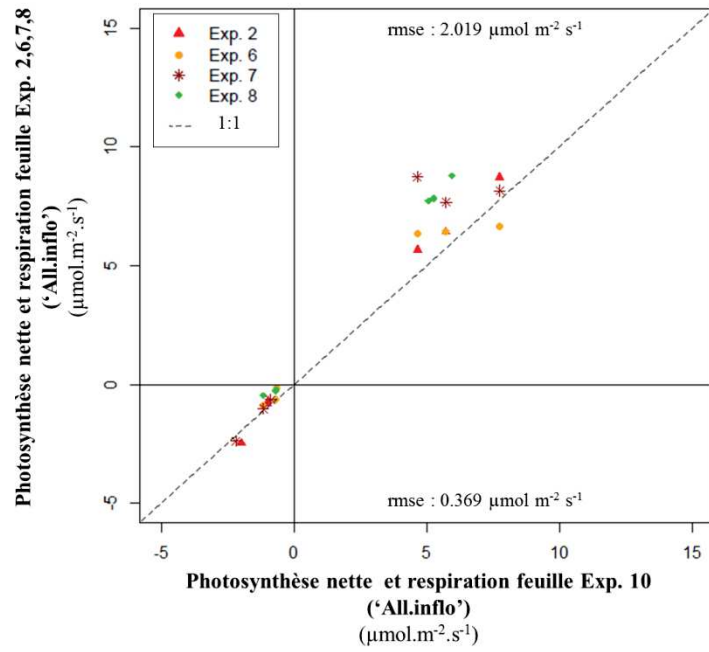


Figure 4: Comparaison de la photosynthèse et de la respiration foliaires exprimées par unité de surface entre les Exp. 2, 6, 7, 8 ('All.inflo' ; long terme) et l'Exp. 10 ('All. Inflo' ; court terme). Chaque point correspond à une combinaison PI x palier de température, comme représenté dans la Fig. 2.

de $-1 \mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$ pour le PI 5 et de $-0.2 \mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$ pour le PI 25, respectivement, à 15°C . A 30°C , R_{FPI} est supérieur pour le PI 5 ($P>5\%$) et atteint $-2 \mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$.

L'activité photosynthétique nette des inflorescences (An_{IPI}) du traitement 'All.inflo' (Exp. 10) est négative pour l'ensemble des paliers de températures, indiquant que la respiration des inflorescences le jour est supérieure à la photosynthèse brute (Fig. 7A). Les valeurs de An_{IPI} sont comprises entre $-350 \mu\text{mol m}^{-3} \text{s}^{-1}$ et $-1500 \mu\text{mol m}^{-3} \text{s}^{-1}$. En phase nocturne la respiration des inflorescences (R_{IPI}) fluctue entre $-500 \mu\text{mol m}^{-3} \text{s}^{-1}$ et $-2000 \mu\text{mol m}^{-3} \text{s}^{-1}$ (Fig. 7B). L'élévation de la température augmente les respirations diurne et nocturne (An_{IPI} et R_{IPI}). Les valeurs de An_{IPI} atteignent $-350 \mu\text{mol m}^{-3} \text{s}^{-1}$ à 20°C et $-500 \mu\text{mol m}^{-3} \text{s}^{-1}$ à 30°C , et celles de R_{IPI} $-1000 \mu\text{mol m}^{-3} \text{s}^{-1}$ à 20°C et $-1500 \mu\text{mol m}^{-3} \text{s}^{-1}$ à 30°C . Globalement, la classe de PI impacte peu les niveaux de An_{IPI} et R_{IPI} lorsqu'ils sont exprimés par unité de volume, mais a un fort impact lorsqu'ils sont exprimés par organe (Annexe 2, Table 7 & Fig. 5).

III.2. Réponses des échanges gazeux à la température et à la charge en fruit à l'échelle de la plante entière

La photosynthèse nette et la respiration à l'échelle plante entière (An_{pl} et R_{pl}) ont été mesurées en phytotron en absence de fruit ('No.inflo' ; Exp. 9) ou en présence de fruit ('All.inflo' ; Exp. 10) sur des périodes de 24h, aux mêmes paliers de température jour/nuit que pour les mesures organe. Les plantes avaient une surface foliaire totale en moyenne de 1600 cm^2 et de 2700 cm^2 dans les Exp. 9 et 10, respectivement, et un volume inflorescentiel total en moyenne de 100 cm^3 dans l'Exp. 10 (Table 1). Les évolutions diurne et nocturne de An_{pl} et R_{pl} en conditions de températures témoins, *i.e.* $25^\circ\text{C}/15^\circ\text{C}$ sont présentées dans la figure 8. Les valeurs de An_{pl} tendent à diminuer le jour dans l'Exp. 10, de $2.3 \mu\text{mol s}^{-1}$ à $1.7 \mu\text{mol s}^{-1}$. De façon similaire, R_{pl} diminue pour l'Exp. 10 de $-0.8 \mu\text{mol s}^{-1}$ à $-0.3 \mu\text{mol s}^{-1}$ en phase nocturne. Par conséquent, An_{pl} et R_{pl} ont été moyennées par la suite sur l'ensemble des phases diurnes et nocturnes, respectivement. Les mesures réalisées en phase de transition jour/nuit (environ 1 heure lors des passages jour-nuit et nuit-jour) ont été exclues des moyennes.

Les réponses de An_{pl} et R_{pl} aux paliers de températures jour/nuit avec ou sans inflorescences sont illustrées dans la figure 8. Quel que soit le niveau de température, An_{pl} est supérieur pour les plantes de l'Exp. 10 qui portent des grappes et ont une surface foliaire totale supérieure à celles de l'Exp. 9 (Fig. 9). Les valeurs de An_{pl} sont en moyenne de $1.8 \mu\text{mol.s}^{-1}$ pour le traitement 'All.inflo' (Exp. 10) vs. $1 \mu\text{mol.s}^{-1}$ pour le traitement 'No.inflo' (Exp. 9). L'augmentation de la température impacte peu An_{pl} du traitement sans grappe (Fig. 9A). Au contraire, pour les plantes avec grappes, An_{pl} suit une courbe en cloche avec un optimum autour de 25°C (Fig. 9B). Les valeurs de An_{pl} pour ce traitement ('All.inflo') sont comprises entre $2.3 \mu\text{mol.s}^{-1}$ à 25°C et $1.5 \mu\text{mol.s}^{-1}$ à 35°C . Comme pour An_{pl} , R_{pl} est plus élevé pour les plantes avec grappes et dont la surface foliaire est supérieure. Ainsi, R_{pl} atteint en

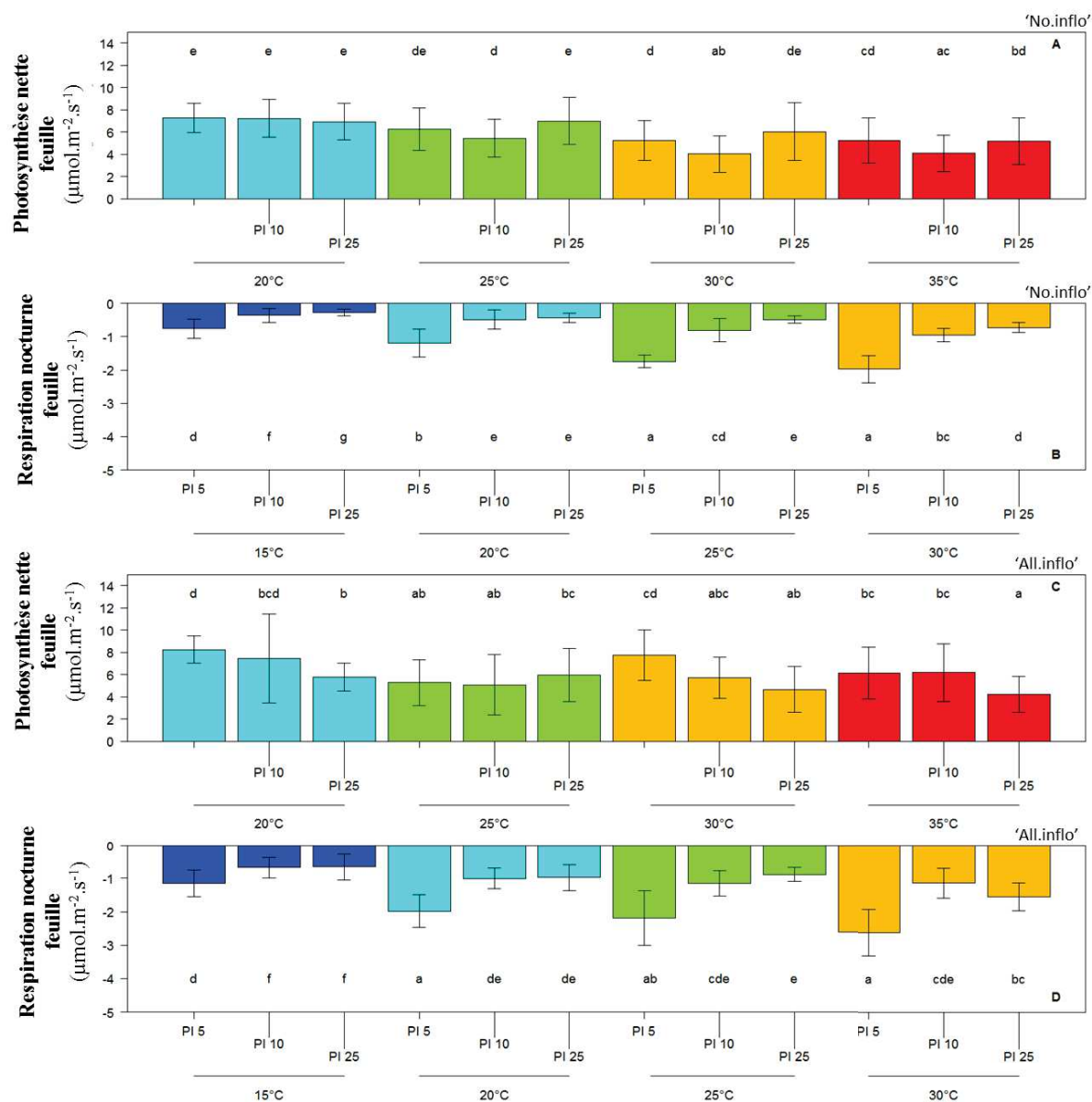


Figure 5: Photosynthèse (A, C) et respiration (B, D) foliaires exprimées par unité de surface pour les expérimentations en phytotron avec des traitements thermiques de courte durée et les niveaux de charge 'No. Inflo' (Exp. 9) et 'All.inflo' (Exp. 10). Les valeurs de A_n et R_n sont représentées aux différentes classes de PI (PI5, PI10 et PI25) et pour les 4 paliers de température jour/nuit dans la gamme 15°C-35°C. Chaque barre est la moyenne d'au moins 3 plantes. Les barres d'erreurs correspondent aux écarts types. Les lettres indiquent les différences significatives ($P < 0.05$).

moyenne $-0.7 \mu\text{mol.s}^{-1}$ et $-0.5 \mu\text{mol.s}^{-1}$ pour l'Exp. 10 ('All.inflo') et l'Exp. 9 ('No.inflo'), respectivement. Pour les 2 traitements de charge, R_{pl} est supérieur aux températures élevées. Les valeurs de R_{pl} augmentent de $-0.3 \mu\text{mol.s}^{-1}$ à 15°C à $-0.7 \mu\text{mol.s}^{-1}$ à 30°C pour le traitement 'No.inflo' et de $-0.5 \mu\text{mol.s}^{-1}$ à 15°C à $-0.9 \mu\text{mol.s}^{-1}$ à 30°C pour le traitement 'All.inflo'.

Les contributions respectives des feuilles, des inflorescences, des entre-nœuds et du compartiment sol-racines aux échanges gazeux des plantes entières ont été analysées à la fin de l'Exp. 10, en condition de température jour/nuit témoin (*i.e.* $25^{\circ}\text{C}/15^{\circ}\text{C}$). Pour ce faire, les plantes, dont la surface foliaire totale était en moyenne de 2700 cm^2 et le volume inflorescentiel total moyen de 106 cm^3 , ont été défoliées, égrappées et enfin taillées en ne conservant que le système sol-racines avec ou sans isolement de ce dernier (Figure 10). Pour les plantes entières, A_{Npl} et R_{pl} sont de $2.1 \mu\text{mol.s}^{-1}$ et $-0.4 \mu\text{mol.s}^{-1}$, respectivement, similairement aux valeurs représentées aux mêmes paliers de température et pour des plantes de tailles comparables dans la Fig. 9B. Les échanges gazeux des entrenœuds et du système racinaire isolé sont nuls, laissant supposer qu'on est en limite des capacités de détection du CIRAS DC pour les volumes de chambre et flux de renouvellement d'air imposés. Ces derniers ont été initialement optimisés pour des mesures sur plantes entières et non pas sur des plantes disséquées. Les respirations diurne et nocturne des plantes défoliées (*i.e.* des entrenœuds et inflorescences réunis), atteignent $-1.5 \mu\text{mol.s}^{-1}$ et $-3 \mu\text{mol.s}^{-1}$, respectivement, soit 8.3% de A_{Npl} et 60% de R_{pl} . Lorsque le compartiment sol-racine n'est pas isolé, les respirations combinées des racines et de la rhizosphère, approchent $-0.2 \mu\text{mol.s}^{-1}$.

III.3. *Simulation et évaluation des échanges gazeux aux échelles organe et plante entière pour les expérimentations*

Les impacts de la température sur la photosynthèse nette et la respiration des feuilles et inflorescences à chaque niveau de PI, ou à l'échelle plante entière, ont été modélisés par une approche type courbe enveloppe, combinée à un modèle de covariance des résidus relatifs (voir le matériel et méthode III.4). Seuls les traitements avec inflorescences 'All.inflo' (Exp. 1 à 3, 6 à 8 et 10) et le traitement sans inflorescence 'No.inflo' (Exp. 9), pour lesquels des gradients de températures contrastés jour/nuit ont été appliqués en serre ou en phytotron, ont été retenus pour les paramétrages des modèles.

A chaque palier de température, dans la gamme 12°C - 35°C , la photosynthèse nette maximale des feuilles ($A_{\text{max F}}$), et les respirations maximales des feuilles et des inflorescences ($R_{\text{max F}}$, $R_{\text{max I}}$) ont été sélectionnées comme décrit dans le matériel et méthode pour les conditions climatiques suivantes : concentration en CO_2 de l'air comprise entre 375 ppm et 385 ppm, PAR de 0 - $10 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ la nuit et de 10 - $620 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ le jour et VPD feuille-air (VPD_{fa}) de 0.75 kPa à 3.84 kPa (Annexe 2, Fig. 6 et 7). Les réponses de $A_{\text{max F}}$, $R_{\text{max F}}$ et $R_{\text{max I}}$ à la température sont illustrées dans la figure 11. Comme observé précédemment pour A_{Npl} (Figure 9B), $A_{\text{max F}}$ en fonction de la température suit une courbe en cloche avec un maximum de $10.6 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ à 25°C . Les respirations des feuilles et inflorescences

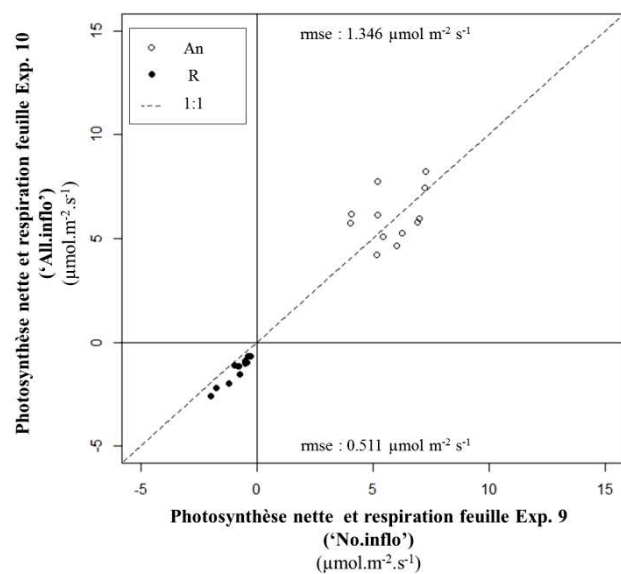


Figure 6: Comparaison de la photosynthèse et de la respiration foliaires exprimées par unité de surface entre l'Exp. 9 ('No. Inflo') et l'Exp. 10 ('All. Inflo') en phytotron. Chaque point correspond à une combinaison PI x palier de température, comme représenté dans la Fig. 5.

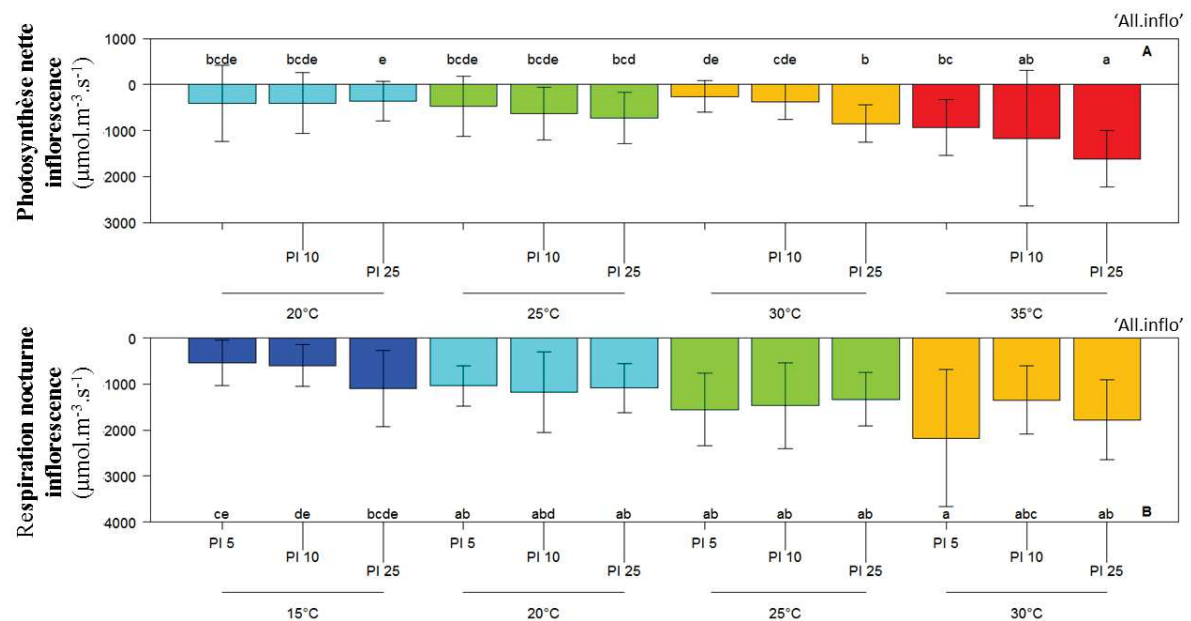


Figure 7: Photosynthèse (A) et respiration (B) inflorescentielles exprimées par volume d'inflorescence pour l'Exp. 10 en phytotron avec des traitements thermiques de courte durée et le niveau de charge 'All. Inflo'. Les valeurs de An_i et R_i sont représentées aux différentes classes de PI (PI5, PI10 et PI25) et pour les 4 paliers de température jour/nuit dans la gamme 15°C-35°C. Chaque barre est la moyenne d'au moins 3 plantes. Les barres d'erreurs correspondent aux écarts types. Les lettres indiquent les différences significatives ($P < 0.05$).

augmentent de façon exponentielle lorsque la température croît. Les valeurs de $R_{\max F}$ sont comprises entre $-1.69 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ à 15°C et $-2.84 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ à 30°C , et celles de $R_{\max I}$ entre $-1258 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ à 15°C et $-2959 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ à 30°C .

Trois modèles de covariance ont été paramétrés sur les résidus relatifs de la photosynthèse nette et des respirations des feuilles et inflorescences par rapport aux courbes enveloppes ($RR_{An F}$, $RR_{R F}$, $RR_{An, R I}$). Selon les modèles les effets de différents facteurs ont été testés, parmi lesquels le VPD_{fa} et le PAR (gammes de variations indiquées ci-dessus), la température moyenne au cours des 5 jours précédant la mesure ($T_{\text{moy. } 5j}$, compris entre $18-31^{\circ}\text{C}$), le dispositif (serre ou phytotron), la classe de PI (5, 10 ou 25) et la charge en fruit ('All.inflo', 'No.inflo') (voir matériel et méthode III.4). Les modèles issus des analyses sont présentés en Annexe 2 (Tables 8 à 10), et résumés ci-dessous.

Le modèle de résidus relatifs $RR_{An F}$ (eq. 19) est peu satisfaisant ($R^2=0.19$), comparé aux modèles de résidus relatifs $RR_{R F}$ et $RR_{An, R I}$ ($R^2>0.47$, eq. 19 et eq. 20). Selon ce modèle, les valeurs de $RR_{An F}$ sont réduites jusqu'à -18% (An plus élevé) lorsque le PAR ou $T_{\text{moy. } 5j}$ augmentent (dans les gammes explorées pour ces facteurs). Les valeurs de $RR_{An F}$ sont aussi inférieures en serre comparé aux phytotrons (-39%). Elles diminuent dans une moindre mesure pour les PI5 et PI25, comparé au PI10, et pour le traitement 'All.inflo', comparé au traitement 'No.inflo' (réduction maximale de 7.7%). Seuls les coefficients de $T_{\text{moy. } 5j}$ et du dispositif sont toutefois significatifs dans le modèle ($P<5\%$). Les augmentations prédites de An_F lorsque $T_{\text{moy. } 5j}$ est supérieur, ou pour le dispositif en serre comparé aux phytotrons, sont cohérentes avec les observations des Figures 3 et 4.

$$RR_{An F} = 87.1 - 0.03 \times PAR - 1.22 \times T_{\text{moy. } 5j} - 39.2 (\text{Serre}) - 1.01(\text{PI25}) - 7.7(\text{PI5}) - 5.79 (\text{All. inflo}) \quad R^2=0.19 \quad (\text{Eq.19})$$

Comme pour $RR_{An F}$, l'augmentation de $T_{\text{moy. } 5j}$ réduit jusqu'à -19% les résidus relatifs $RR_{R F}$ (R_F plus élevé) (eq. 20). Les valeurs $RR_{R F}$ diminuent de 40.5% pour le PI5, comparé au PI10. Elles sont aussi inférieures pour le traitement 'All.inflo', comparé au traitement 'No.inflo' (-19.6%) et pour le dispositif en serre comparé aux phytotrons (-11.9%). Les coefficients de $T_{\text{moy. } 5j}$, PI 5 et de la charge en fruit ('All.inflo') sont significatifs ($P<5\%$). Le modèle relate donc bien les observations précédentes quant à l'augmentation de R_F pour les jeunes feuilles ou en présence de grappe (Figures 2, 3, 5, 6). L'augmentation de R_F lorsque $T_{\text{moy. } 5j}$ augmente paraît toutefois contradictoire avec les observations de la Figure 4, qui ne montrait pas d'effet marqué de la durée du traitement thermique sur R_F .

$$RR_{R F} = 111.3 - 1.37 \times T_{\text{moy. } 5j} - 11.9 (\text{Serre}) + 3.04 (\text{PI25}) - 40.5(\text{PI5}) - 19.6 (\text{All. inflo}) \quad R^2 = 0.58 \quad (\text{Eq.20})$$

Pour les inflorescences, les résidus relatifs de An_I et de R_I par rapport à $R_{\max I}$ ($RR_{An, R I}$) sont diminués (R_I supérieur) jusqu'à -62% lorsque le VPD_{fa} augmente, et sont au contraire augmentés + 62% lorsque

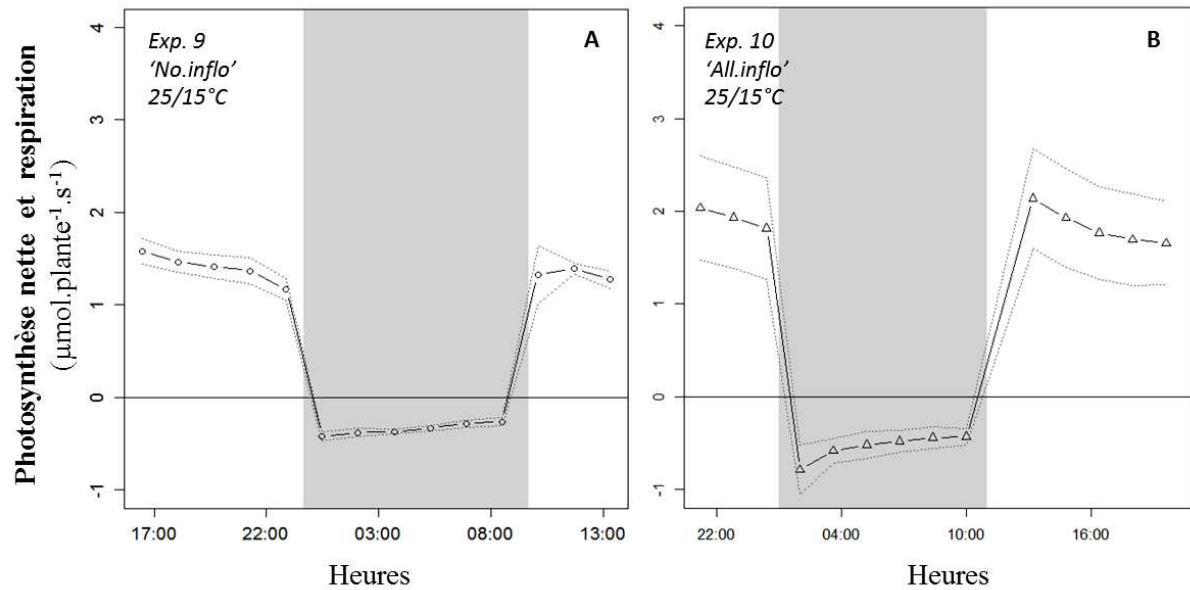


Figure 8: Photosynthèse et respiration à l'échelle plante entière exprimées par plante, en fonction de l'heure du jour ou de la nuit pour l'Exp. 9 ('No. inflo', A) et l'Exp. 10 ('All. inflo', B) en phytotron. Les valeurs de A_{npl} et R_{pl} sont représentées pour le traitement thermique contrôlé 25°C/15°C. Chaque point est la moyenne de 3 plantes. Les pointillés correspondent à l'écart-type. La zone grisée correspond à la phase obscure. En moyenne, les plantes de l'Exp. 9 avaient une surface foliaire de 1600 cm² et un volume d'inflorescence nul, celles de l'Exp. 10 avaient une surface foliaire de 2700 cm² et un volume d'inflorescence de 106 cm³.

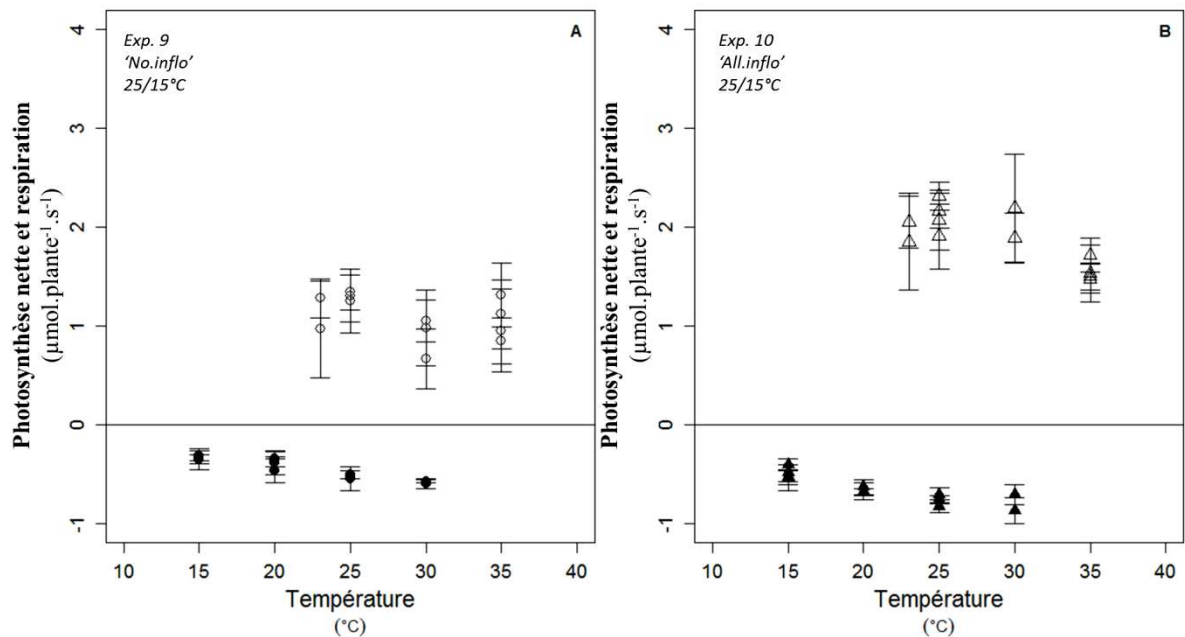


Figure 9: Photosynthèse et respiration à l'échelle plante entière exprimées par plante, en fonction des 4 paliers de température jour/nuit dans la gamme 15°C-35°C pour l'Exp. 9 ('No. inflo', A) et l'Exp. 10 ('All. inflo', B) en phytotron. Chaque valeur de A_{npl} et R_{pl} est la moyenne de 3 plantes. Les barres d'erreurs correspondent aux écarts types. En moyenne, les plantes de l'Exp. 9 avaient une surface foliaire de 1600 cm² et un volume d'inflorescence nul, celles de l'Exp. 10 avaient une surface foliaire de 2700 cm² et un volume d'inflorescence de 106 cm³.

le PAR augmente (eq. 21). Les $T_{moy.5j}$ élevés accroissent $RR_{An,R\ I}$ jusqu'à 18%. Les PI5 et PI25 ont des valeurs $RR_{An,R\ I}$ inférieures à celles des PI10 de 6.9% et 16.3%, respectivement. Seuls les coefficients de VPD_{fa} , PAR et PI25 sont significatifs. Les plus faibles niveaux de respiration en présence de rayonnement ($An\ I$), comparé à l'obscurité ($R\ I$) ont été décrits dans la Figure 5. Par contre, aucun effet du PI n'avait été observé. Le modèle met par ailleurs en lumière un effet positif de VPD_{fa} sur $An\ I$ et $R\ I$ que les représentations ci-dessus ne permettaient pas d'identifier.

$$RR_{An,R\ I} = 43.8 - 19.96 \times VPD_{fa} + 0.10 \times PAR + 1.42 \times T_{moy.5j} - 16.3 (PI25) - 6.99 (PI5)$$

$$R^2 = 0.47 \quad (Eq.21)$$

Les simulations de An et R ont été évaluées dans un premier temps à l'échelle organe (feuille, inflorescence) sur le même jeu de données ayant servi à paramétrer les modèles de courbe enveloppe et de covariance (Exp. 1 à 3 & 6 à 10, Fig. 12). Les simulations d'échanges gazeux ont ensuite été testées à l'échelle plante entière sur un jeu de données indépendant (Exp. 9 et 10, Fig. 13). La comparaison de An estimé ($An_{estim.F\ PI}$) et An observé ($An_{obs.F\ PI}$) pour les feuilles est peu satisfaisante (Fig 12A), ce qui est cohérent avec le faible R^2 du modèle de covariance (eq. 18). En effet, la gamme de $An_{estim.F\ PI}$ en phytotron (Exp. 1 à 2 & 6 à 10) est particulièrement restreinte comparée aux valeurs de $An_{obs.F\ PI}$ ($4-8.2 \mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$ pour $An_{estim.F\ PI}$ vs. $2.1-11.4 \mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$ pour $An_{obs.F\ PI}$). Les simulations de respiration foliaire ($R_{estim.F\ PI}$) et de respirations inflorescentielles ($An_{estim.I\ PI}$ et $R_{estim.I\ PI}$), sont au contraire très proches des observations ($R_{obs.F\ PI}$, $An_{obs.I\ PI}$ et $R_{obs.I\ PI}$; Fig 12B et 12C).

A l'échelle plante entière, les simulations de An et R ($An_{estim.pl}$, $R_{estim.pl}$) sont issues de la somme des An et R estimées pour chaque organe (feuille et inflorescence). Les valeurs de $An_{estim.pl}$ sont proches des observations ($An_{obs.pl}$), quel que soit le niveau de charge ('All.inflo', 'No.inflo') (Fig. 13A). La pente de la régression entre les valeurs de R simulées et observées ($R_{estim.pl}$, $R_{obs.pl}$) est proche de 1 (Fig. 13B). Les simulations présentent toutefois un biais d'environ $-0.3 \mu mol\ plante^{-1}\ s^{-1}$, comparé aux observations. Cette sous-estimation quasi systématique de la respiration de la plante entière, pourrait être liée aux respirations d'autres organes tels que les entrenœuds, non simulées dans cette approche, ainsi qu'à des fuites au niveau du dispositif d'isolation du compartiment sol-racine. Une respiration des entre-nœuds de $-0.3 \mu mol\ plante^{-1}\ s^{-1}$ la nuit a de ce fait été considérée lors de la simulation du bilan carboné ci-dessous.

III.4. *Simulations et évaluation des bilans carbonés aérien et total pour les expérimentations*

Les BC aérien ou total (BC_a , BC_{tot}) au cours des expérimentations en phytotron pour les traitements thermiques de longue durée et la charge 'All.inflo' (Exp. 1, 2, 6, 7 et 8) ont été simulés *a posteriori* pour la période T0-Tf, comme décrit dans le matériel et méthode (III.5) (Fig. 14). Les durées de la période T0-Tf étaient de 2 mois pour l'Exp. 1 et d'1 mois pour l'ensemble des autres expérimentations

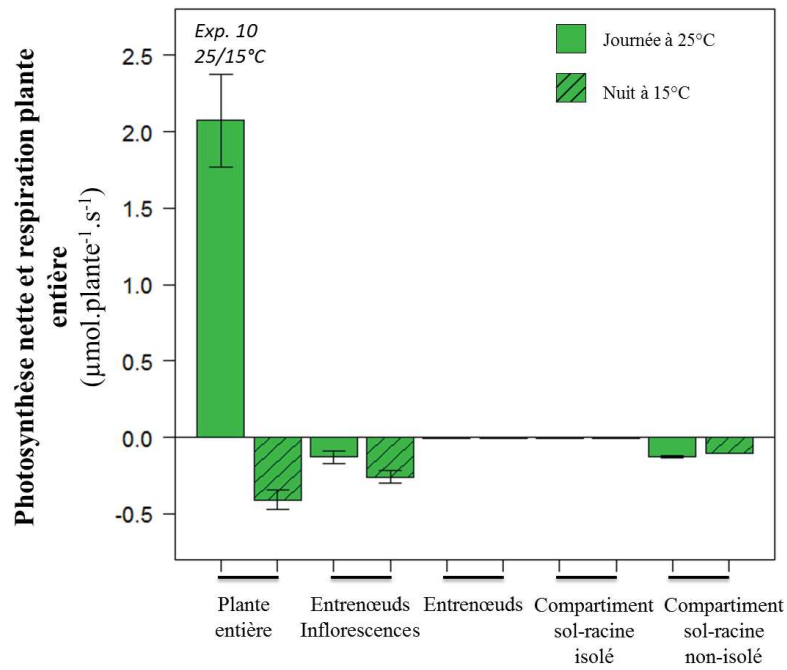


Figure 10: Photosynthèse et respiration à l'échelle plante entière exprimées par plante le jour ou la nuit pour l'Exp. 10 en phytotron sur plantes entières ('All.inflo'), sur plantes effeuillées 'Entrenœuds & inflorescences', sur plantes égrappées 'entrenœud' et sur plantes taillées avec ou sans isolation du compartiment sol-racine. Les valeurs de A_{pl} et R_{pl} sont représentées pour le traitement thermique control 25°C/15°C. Chaque barre est la moyenne de 3 plantes. Les barres d'erreurs correspondent aux écarts types. En moyenne, les plantes utilisées pour cet effeuillage, égrappage et taille avaient une surface foliaire de 2700 cm² et un volume d'inflorescence de 106 cm³.

(Exp. 2, 6, 7 et 8). Les BC_a et BC_{tot} par plante, et le BC_a pour la zone sensible à l'avortement uniquement (*i.e* pour les phytomères au-dessus du stade 50% floraison à T0, $BC_{a<Flo}$), sont représentés dans la Fig. 14A. Cette zone contenait en moyenne 15 phytomères en 2011 et 11 phytomères en 2013 à T0. A T_f, le nombre de phytomère dans cette zone était de 30 (22/12°C et 30/20°C) en 2011, et de 26 (25/15°C), 27 (30/15°C) et 31 (30/25°C) en 2013.

Les valeurs de BC_a , BC_{tot} et de $BC_{a<Flo}$ sont positives, quels que soient les années et les traitements thermiques. Les BC_a et $BC_{a<Flo}$ sont supérieurs pour les Exp. 1 et 2 (2011), comparé aux Exp. 6 à 8 (2013) ($P<5\%$; Annexe 2, Table 11). Les BC_a et $BC_{a<Flo}$ sont aussi plus élevés pour l'Exp. 1 (2 mois), comparé à l'Exp. 2 (1 mois) en 2011. Au contraire, en 2013 les valeurs de BC_a , BC_{tot} et $BC_{a<Flo}$ sont similaires entre les traitements thermiques (1 mois chacun). Le BC_a atteint ainsi 57 g de C à 22/12°C et 26 g de C à 30/20°C en 2011 vs. 10 g de C pour les 3 traitements thermiques en 2013. Lorsque le BC est calculé sur un pas de temps de 24h (Fig. 3B), les valeurs de BC_a et $BC_{a<Flo}$ restent supérieures en 2011, comparé à 2013 ($P<5\%$). Le BC_a atteint 1 g de C en 2011, contre 0.4 g de C en 2013. Cependant, aucune différence de BC_a , $BC_{a<Flo}$ ou BC_{tot} n'est observée entre les traitements thermiques au sein d'une année expérimentale ($P>5\%$; Annexe 2, Table 12). Il est intéressant de noter que $BC_{a<Flo}$ représente une proportion quasi-constante de BC_a en 2011 et 2013, de 35% en moyenne pour les 2 années.

Les composantes des BC_a , de $BC_{a<Flo}$ et de BC_{tot} exprimées en g de C par jour, et pour les mêmes expérimentations que précédemment (Exp. 1, 2, 6, 7 et 8), sont illustrées dans la figure 15 (voir aussi Annexe 2, Table 12). Le gain de C par la photosynthèse nette (ΔC_{An}), la quantité de C respiré la nuit (ΔC_R) ou fixée dans la biomasse (ΔC_{BM}) ont été déterminés pour l'ensemble des organes (feuilles, entrenœuds, inflorescences et racines). La photosynthèse des feuilles ($\Delta C_{An F}$) est la composante majoritaire du BC_a . Elle est en moyenne de 1.4 g pour les 2 traitements thermiques en 2011. Elle augmente en 2013 aux températures élevées de 0.68 g (25/15°C & 30/15°C) à 0.97 g (30/25°C) ($P<5\%$). Les entrenœuds et les feuilles contribuent majoritairement et à part égale à la respiration nocturne du C ($\Delta C_{R F}$, $\Delta C_{R EN}$) alors que la respiration des inflorescences ($\Delta C_{R I}$) est minoritaire. La somme des respirations des organes aériens (ΔC_R) est supérieure aux températures élevées ($P<5\%$). Elle est comprise entre -0.23 g (22/12°C) et -0.27 g (30/20°C) en 2011, et entre -0.19 g (25/15°C & 30/15°C) et -0.24 g (30/25°C) en 2013. Les entrenœuds fixent en moyenne deux fois plus de C que les feuilles ($\Delta C_{BM EN}$, $\Delta C_{BM F}$). Les températures élevées augmentent ΔC_{BMa} via l'augmentation de $\Delta C_{BM F}$ et $\Delta C_{BM EN}$ principalement. Les valeurs de ΔC_{BMa} augmentent de 0.12 g (22/12°C) à 0.26 g (30/20°C) en 2011, et de 0.16 g (15/25°C) jusqu'à 0.26 g (30/15°C) et 0.38 g (30/25°C) en 2013. La part de C allouée aux inflorescences diminue au contraire lorsque la température augmente. Le ratio $\Delta C_{BM I} : \Delta C_{BMa}$ représente 25% (22/12°C) et 10% (30/20°C) en 2011, et 11% (15/25°C) et 7% (30/15°C) en 2013. Lorsque seule la zone sensible à l'avortement est considérée, les réponses des

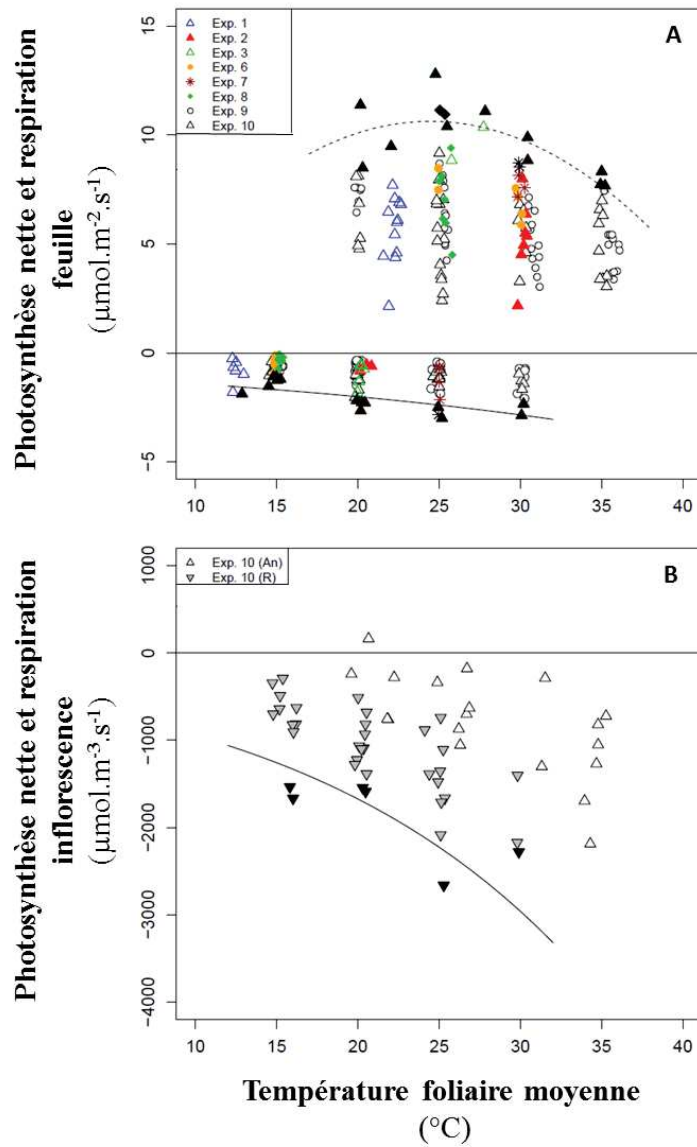


Figure 11: Photosynthèse et respiration foliaires exprimées par unité de surface (A) ou inflorescentielles exprimées par volume d'inflorescence (B) en fonction de la température. Sont représentés : 1 expérimentation en serre au niveau de charge 'All inflo' (Exp.3) et 7 expérimentations en phytotrons aux niveaux de charge 'All.inflo' (Exp. 1, 2, 6, 7, 8, 10) et 'No.inflo' (Exp. 10). Chaque point est la moyenne de 3 à 6 plantes calculée pour chaque combinaison date de mesure x classe de PI x niveau de température x niveau de PAR. Les triangles noirs correspondent aux valeurs d'échanges gazeux maximales ($A_{\max F}$, $R_{\max F}$ et $R_{\max I}$). Ces valeurs ont été sélectionnées comme défini dans le matériel et méthode (III.4) et ajustées avec les modèles suivants :

$$A_{\max F} = 1.31 \times T - 0.03 \times T^2 - 5.44 \quad \text{rmse} = 1.004 \mu\text{mol/m}^2/\text{s}$$

$$R_{\max F} = -1 \times \exp(0.03 \times T) \quad \text{rmse} = 0.42 \mu\text{mol/m}^2/\text{s}$$

$$R_{\max I} = -535.1 \times \exp(0.06 \times T) \quad \text{rmse} = 365.42 \mu\text{mol/m}^3/\text{s}$$

composantes de $BC_{a<Flo}$ aux températures élevées sont similaires à celles de BC_a . Les ordres de grandeurs de ΔC_R et de ΔC_{BMa} sont au contraire proches entre les 2 années pour les traitements thermiques comparables, *i.e.* 22/12°C (2011) *vs.* 25/15°C (2013), ou 30/20°C (2011) *vs.* 30/15°C en (2013). Les valeurs plus élevées de $BC_{a<Flo}$ en 2011 comparé à 2013, résultent principalement du gain de C par la photosynthèse nette (ΔC_{An}) supérieur en 2011. Alors que les températures élevées augmentent la fixation de C dans la biomasse aérienne ($\Delta C_{BM F}$ et $\Delta C_{BM EN}$), la fixation de C dans la biomasse racinaire ($\Delta C_{BM RAC}$), tend à diminuer, bien que non significatif. La part de $\Delta C_{BM RAC}$ par rapport à $\Delta C_{BM tot}$, est en effet de 63% à 25/15°C, 46% à 30/15°C et 16% à 30/25°C. La biomasse totale est de ce fait similaire pour l'ensemble des traitements thermiques en 2013.

Les BC sur la période T0-Tf, soit aériens (BC_a), soit totaux (BC_{tot}), ont été comparés aux quantités de C accumulées sous forme de sucres TNC dans les organes aériens (ΔC_{TNCa}) ou dans la plante entière (ΔC_{TNCtot}), respectivement (Table3). En 2011, les différentiels entre BC_a et ΔC_{TNCa} sont de 24.2 g en moyenne pour les 2 traitements thermiques, alors qu'ils atteignent en 9.7 g en moyenne pour les 3 traitements thermiques en 2013. La prise en compte de la quantité de C fixé dans la biomasse racinaire ($\Delta C_{BM RAC}$) en 2013 permet de réduire ce différentiel à 4.7 g à 25/15°C et 30/15°C et jusqu'à 7.7 g à 30/25°C. Ces quantités de carbone excédentaires pourraient être liées, au moins en partie, à la respiration racinaire sur la période T0-Tf. Lorsque les BC et ΔC_{TNC} sont calculés sur un pas de temps de 24 h, le différentiel entre BC_a et ΔC_{TNCa} reste supérieur en 2011, comparé à 2013 (Table 4). Il est par contre deux fois plus faible à 22/12°C comparé à 30/20°C. Ces résultats suggèrent des niveaux de respiration et de fixation du C dans le système racinaire ($\Delta C_{R RAC}$ et $\Delta C_{BM RAC}$) supérieurs en 2011, comparé à 2013, et ce particulièrement à 30/20°C. L'analyse des différentiels entre ΔBC_a et $\Delta C_{TNC a}$ d'une part, et ΔBC_{tot} et $\Delta C_{TNC tot}$ d'autre part, donne une indication des parts respectives de carbone respiré par les racines ou fixé dans la biomasse racinaire. Ainsi le carbone excédentaire pourrait correspondre à de la respiration racinaire pour 47% (25/15°C), 51% (30/15°C) et 80% (30/25°C) et à de la fixation dans la biomasse des racines pour 53% (25/15°C), 48% (30/25°C) et 20% et (30/25°C).

III.5. *Simulation du bilan carboné aérien pour des plantes fictives soumises à un gradient de température et différents niveaux de charge en fruit*

La réponse du bilan de carbone aérien (BC_a) aux variations de températures jour/nuit a été simulée sur une période de 24h pour des plantes fictives portant ou pas des inflorescences, et acclimatées ou non aux paliers de températures imposés (voir matériel et méthode III.5). Les plantes non acclimatées étaient supposées provenir d'un environnement thermique contrôle (25/15°C). Leur terme d'acclimatation $T_{moy. 5j}$ (températures au cours des 5 journées précédentes) était donc calculé sur la base du couple de températures 25/15°C, quels que soient les paliers de températures imposés. Pour les plantes acclimatées, $T_{moy. 5j}$ était défini à partir des températures jour/nuit imposées. Les échanges

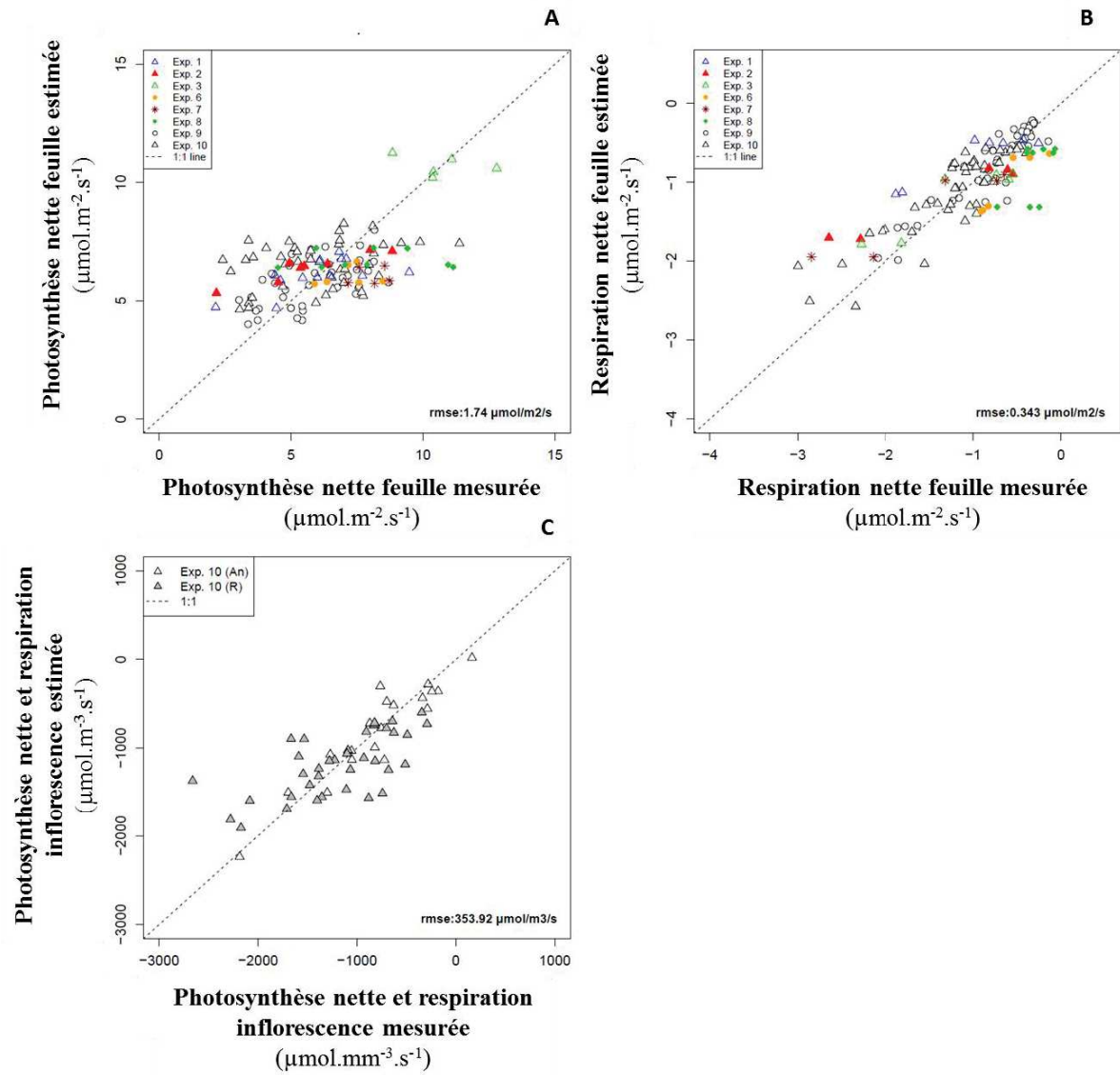


Figure 12: Comparaison des photosynthèses et respirations mesurées et estimées pour les feuilles (A, B) et pour les inflorescences (C) (voir méthode d'estimation des échanges gazeux à l'échelle organe dans matériel et méthode, III.4). Chaque point est la moyenne de 3 à 6 plantes calculée pour chaque combinaison date de mesure x niveau de PI x niveau de température x niveau de PAR des Exp. 1 à 3 et 5 à 10, comme décrit dans la Fig 10.

gazeux pour chaque situation ont été simulés grâce aux modèles combinant les courbes enveloppes (Fig. 11) et les analyses de covariances pour les feuilles et/ou les inflorescences (Eq. 19 à 21). Les plantes fictives à T0 étaient de tailles comparables à celles de l'Exp. 1 (22/12°C) à TF (Table 1). Elles correspondaient donc à des plantes âgées de 1900°C jours, portant 76 phytomères. Leur surface foliaire totale était de 3500 cm². Les plantes avec fruits portaient 18 inflorescences, soit un volume inflorescentiel total de 400 cm³. Leur ratio feuille : fruit était de 1 m². kg⁻¹ (masse fraîche). Les simulations du BC_a avec ou sans acclimatation à la température, sont représentées dans la Fig. 16. Similairement aux BC_a calculés pour les expérimentations ci-dessus (Exp. 1 à 2 & 6 à 8), toutes les simulations de BC_a pour les plantes fictives sont positives.

En présence de grappe, le BC_a sur 24h, sans acclimatation à la température, est maximum aux températures jour/nuit de 24/15°C (1.04 g) (Fig. 16A). Il diminue jusqu'à 64% lorsque la température augmente, pour atteindre un minimum à 34/31°C (0.38 g). Les plantes portant des grappes et acclimatées aux températures présentent des optimums de températures légèrement supérieurs par rapport aux plantes non acclimatées *i.e.* 26/15°C (Fig. 16B). Le BC_a maximum à ce palier de température est comparable au maximum des plantes non acclimatées (1.02 g). Le BC_a minimum, à 34/31°C, est toutefois supérieur à celui des plantes non acclimatées (0.60 g), atténuant ainsi les différentiels de BC_a entre les gradients de températures. Le différentiel entre les valeurs maximum et minimum de BC_a est en ainsi de 42% pour les plantes acclimatées aux températures imposées au lieu 64% pour les plantes non acclimatées.

L'absence de grappe augmente le BC_a des plantes sans acclimatation à la température de 3% à 24/15°C, et jusqu'à 63% à 34/31°C, par rapport au BC_a des plantes avec grappes. Lorsque les plantes sont acclimatées à la température, cette augmentation de BC_a pour les plantes sans grappe est moindre, soit 4% à 26/15°C, et 34% à 34/31°C. L'augmentation des températures diurnes impacte plus sévèrement l'ensemble des BC_a simulés que celle des températures nocturnes. Pour les plantes acclimatées à la température et portant des fruits, par exemple, une augmentation de la température de 25°C à 30°C le jour induit une réduction du BC_a de 19%, contre 12% pour les mêmes augmentations de températures la nuit.

Les composantes du BC_a (ΔC_{An} , ΔC_R & ΔC_{BMa}) pour des plantes avec ou sans inflorescences et acclimatées ou pas aux températures des 5 journées précédentes ($T_{moy. 5j}$) sont représentées aux mêmes paliers de température jour/nuit que ci-dessus dans la Fig. 17. Le carbone assimilé par la photosynthèse (ΔC_{An}) pour les plantes portant des grappes, non acclimatées à la température, diminue de 24% entre les paliers 24/15°C (1.46 g) et 34/31°C (1.11 g) (Fig. 17A). L'augmentation des températures induit au contraire une élévation de la quantité de carbone respiré (ΔC_R). Le terme ΔC_R augmente en effet de 30 % entre 24/15°C (-0.25 g) et 34/31°C (-0.36 g) (Fig. 17B). L'acclimatation aux températures augmente considérablement ΔC_{An} aux températures élevées (Fig. 17C). Ce dernier

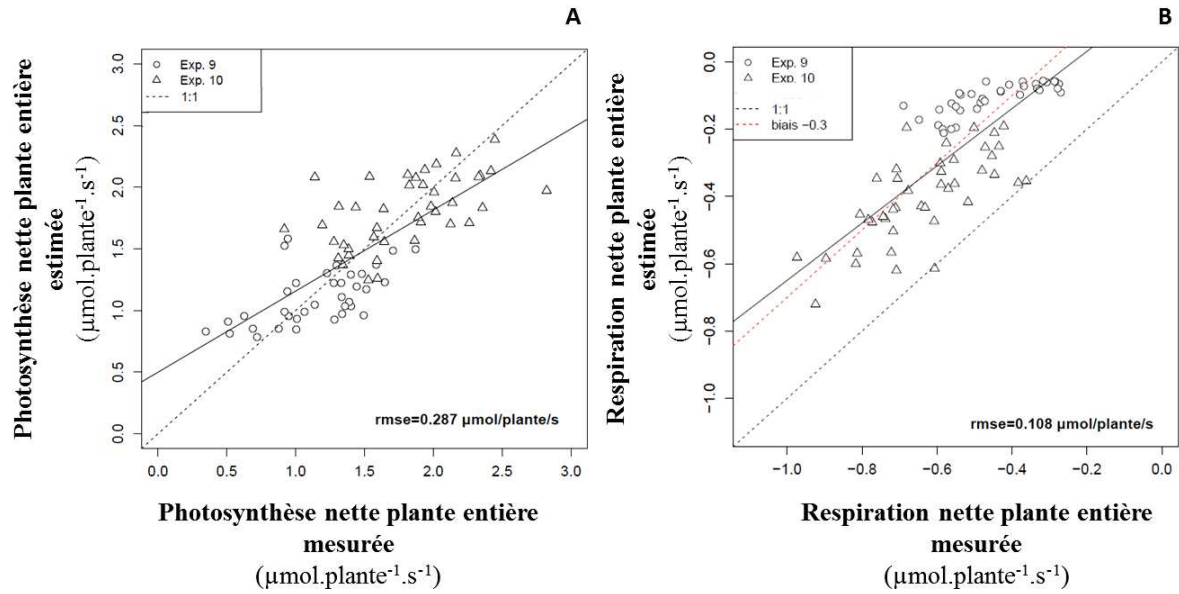


Figure 13: Comparaison des photosynthèses (A) et respirations (B) mesurées et estimées à l'échelle plante entière (voir méthode d'estimation des échanges gazeux à l'échelle plante entière dans le matériel et méthode, III.4). Les simulations ont été réalisées pour chaque plante à chaque journée de mesure des Exp. 9 ('No. Inflo') et 10 ('All.inflo') en phytotron et pour les 4 paliers de température jour/nuit dans la gamme 15°C-35°C. La ligne pointillé rouge correspond au biais de $-0.3 \mu\text{mol.s}^{-1}.\text{plante}^{-1}$ estimé pour la respiration nocturne à l'échelle plante entière. Les valeurs ont été ajustées avec les modèles linéaires suivants (lignes continues noires) :

$$A_{\text{estimé}} = 0.66 \times A_{\text{mesuré}} + 0.5$$

$$R_{\text{estimé}} = 0.85 \times R_{\text{mesuré}} + 0.2$$

atteint 1.40 g à 34/31°C pour les plantes portant des fruits, soit -5% inférieur seulement au ΔC_{An} du traitement 26/15°C (1.46 g). L'acclimatation tend aussi à augmenter ΔC_R (Fig. 17C). ΔC_R est de -0.43 g à 34/31°C, *i.e.* 40% supérieur par rapport au traitement 24/15°C (-0.25 g), alors qu'il n'était augmenté que de 30% en l'absence d'acclimatation.

Les plantes sans grappe ont des niveaux de ΔC_{An} 8% inférieurs à celui des plantes avec grappes aux paliers 24/15°C (sans acclimatation), 26/15°C (avec acclimatation) et 34/31°C (avec ou sans acclimatation) (Fig. 17A et 17B). Leur respiration est également réduite de -34% à 24/15°C jusqu'à -46% à 34/31°C sans acclimatation, et de -34% à 26/15°C jusqu'à -37% à 34/31°C avec acclimatation (Fig. 17C).

Les augmentations de respiration aux températures élevées sont accompagnées de l'augmentation de la fixation du carbone dans la biomasse aérienne (ΔC_{BMa} , Fig. 17E). En présence de grappes ΔC_{BMa} augmente de 0.17 g à 24/15°C, à 0.37 g à 34/31°C. Les valeurs de ΔC_{BMa} pour les plantes sans grappes sont de 0.10 g (24/15°C) et 0.21 g (34/31°C). Le terme ΔC_{BMa} est augmenté par 2.2 aux températures élevées quel que soit le niveau de charge.

Il est intéressant de noter que le BC_a , ainsi que l'ensemble de ses terme (ΔC_{An} , ΔC_R & ΔC_{BMa}), pour des plantes virtuelles avec grappes & acclimatées aux températures 22/15°C sont très proches des valeurs obtenues pour des plantes sous conditions de culture comparables dans l'Exp. 1 à 22/12°C (Figures 14 à 17A). A 22/15°C et pour les plantes virtuelles, BC_a est de 1 g, ΔC_{An} de 1.38 g, ΔC_R de -0.25 g & ΔC_{BMa} de -0.15 g. Pour l'Exp. 1, BC_a est de 1.02g, ΔC_{An} de 1.36 g, ΔC_R -0.24 g & ΔC_{BMa} de 0.12 g.

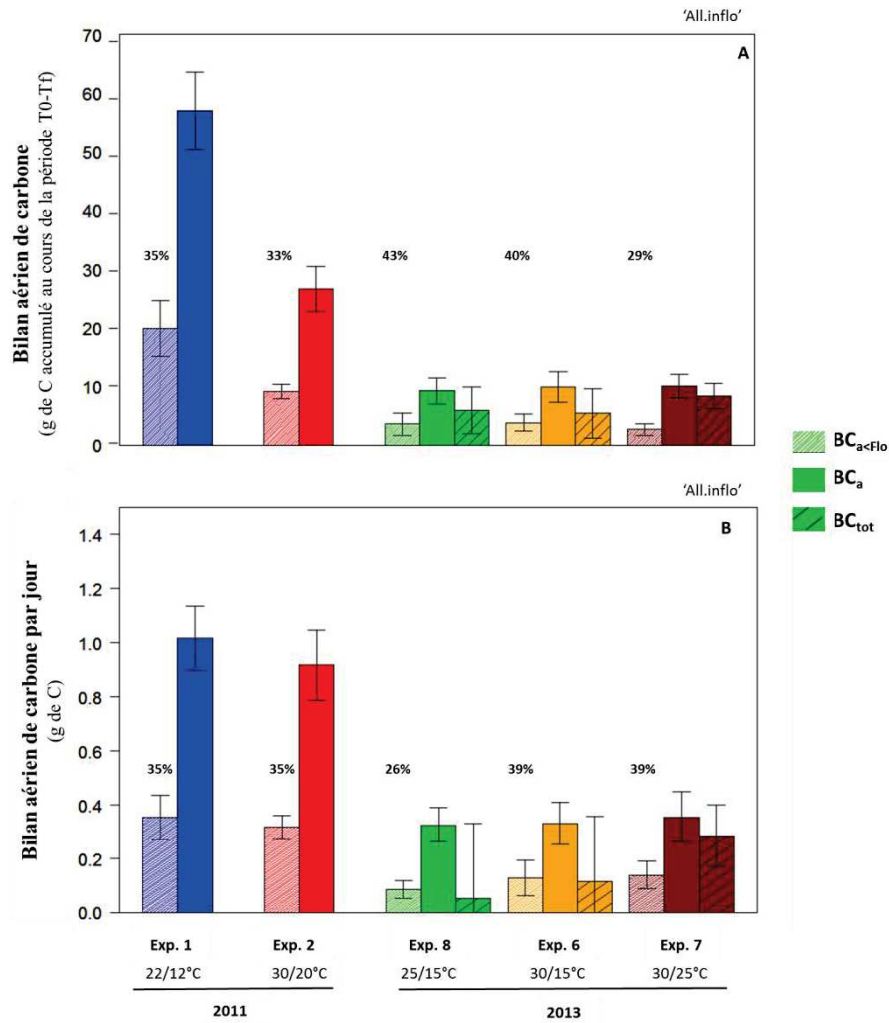


Figure 14: Bilan carboné moyen (BC_a , $BC_{a<Flo}$ et BC_{tot}) pour les expérimentations en phytotron, avec des traitements thermiques de longue durée et le niveau de charge 'All.inflo' (Exp. 1, 2, 6, 7 et 8), évalués pour la période T0-Tf (A) ou par jour (B). Les pourcentages en A correspondent à la fraction de $BC_{a<Flo}$ par rapport à BC_a . Les barres d'erreurs correspondent aux écart-types. Les surfaces foliaires et volumes d'inflorescences à T0 et Tf sont indiqués dans la Table 1.

IV. Discussion

IV.1. L'élévation de la température à court terme réduit le BC_a de la *Microvigne* via la diminution du gain de carbone net des organes aériens (ΔC_{An-R})

En l'absence de période d'acclimatation des plantes aux paliers de température imposés (traitement appliqué en phytotron pendant une durée de 2 jours maximum dans la gamme 15-30°C la nuit et 20-35°C le jour), le bilan carboné des organes aériens (BC_a) de plantes virtuelles simulé sur 24 h est positif et maximum (avec ou sans fruit) à 24/15°C. Ce dernier décroît ensuite lorsque les températures jour/nuit augmentent, et ce jusqu'à -63% à 34/31°C pour les plantes portant des fruits. Il reste toutefois positif à ces niveaux températures. Greer and Sicard (2009) ont montré que le BC_a de la vigne était également positif sauf en début de saison, lorsque les plantes ne sont pas encore autotrophes. Or les expérimentations sur *Microvigne* ont été réalisées après la floraison, soit *a priori* sur des plantes autotrophes (Lebon *et al.*, 2008). Les réductions de BC_a aux températures élevées sont imputables à la fois à une diminution du carbone assimilé par la photosynthèse (ΔC_{An}) et aux augmentations simultanées des quantités de carbone respiré (ΔC_R) ou fixé dans la biomasse aérienne (ΔC_{BMA}).

L'activité photosynthétique des feuilles mesurée pour les traitements thermiques de courte durée (Exp. 9-10), ou simulée par la combinaison des modèles de courbes enveloppes et de covariance des résidus (Fig. 11 & eqt. 19 à 21), est maximale autour de 25°C (Fig. 5A, 5C, 17A). Elle diminue ensuite, quels que soient les niveaux de températures nocturnes. Cette réponse curvilinéaire de la photosynthèse à la température a été largement décrite chez de nombreuses espèces, dont la vigne (Berry and Bjorkman 1980; Parent *et al.* 2010, Zufferey *et al.* 2000). Les respirations des feuilles et des inflorescences augmentent au-delà de 15°C de façon exponentielle (Fig. 5B, 5D, 7, 17B), conformément aux travaux reportés sur plantes annuelles (Jones 1992; Peraudeau *et al.* 2015) et pérennes (Higgins *et al.* 1992; Escalona *et al.* 2012; Zhao *et al.* 2013). D'après le modèle de simulation des échanges gazeux, les termes ΔC_{RF} et ΔC_{RI} sont de -0.098 g et -0.026 g, respectivement, à 24/15°C et ils doublent lorsque la température augmente à 34/31°C (non montré). Les sorties des simulations du BC_a pour l'ensemble des gradients de températures jour/nuit montrent un effet supérieur des augmentations des températures le jour sur la réduction de BC_a , comparé aux augmentations de températures la nuit (+7% pour les plantes portant des grappes et acclimatées aux températures). Cette réponse est cohérente avec la photopériode imposée (14h), et les différentiels de ΔC_{An} supérieurs à ceux de ΔC_R lorsque la température augmente (Fig. 17A ; 17C). Le dispositif expérimental n'a pas permis d'évaluer précisément la contribution des entrenœuds au terme ΔC_R (Fig 10). La respiration des entrenœuds (ΔC_{REN}) a été considérée constante (-0.130 g) sur la base du biais entre les observations et simulations de la respiration plante entière ($R_{estim,pl}$, $R_{obs,pl}$) (Figure 13, Annexe 2, Table 12). L'absence de prise en compte de la taille du compartiment entrenœuds et des réponses de la respiration de ce dernier à la température est une source d'erreur du terme ΔC_R importante. En effet, la respiration des

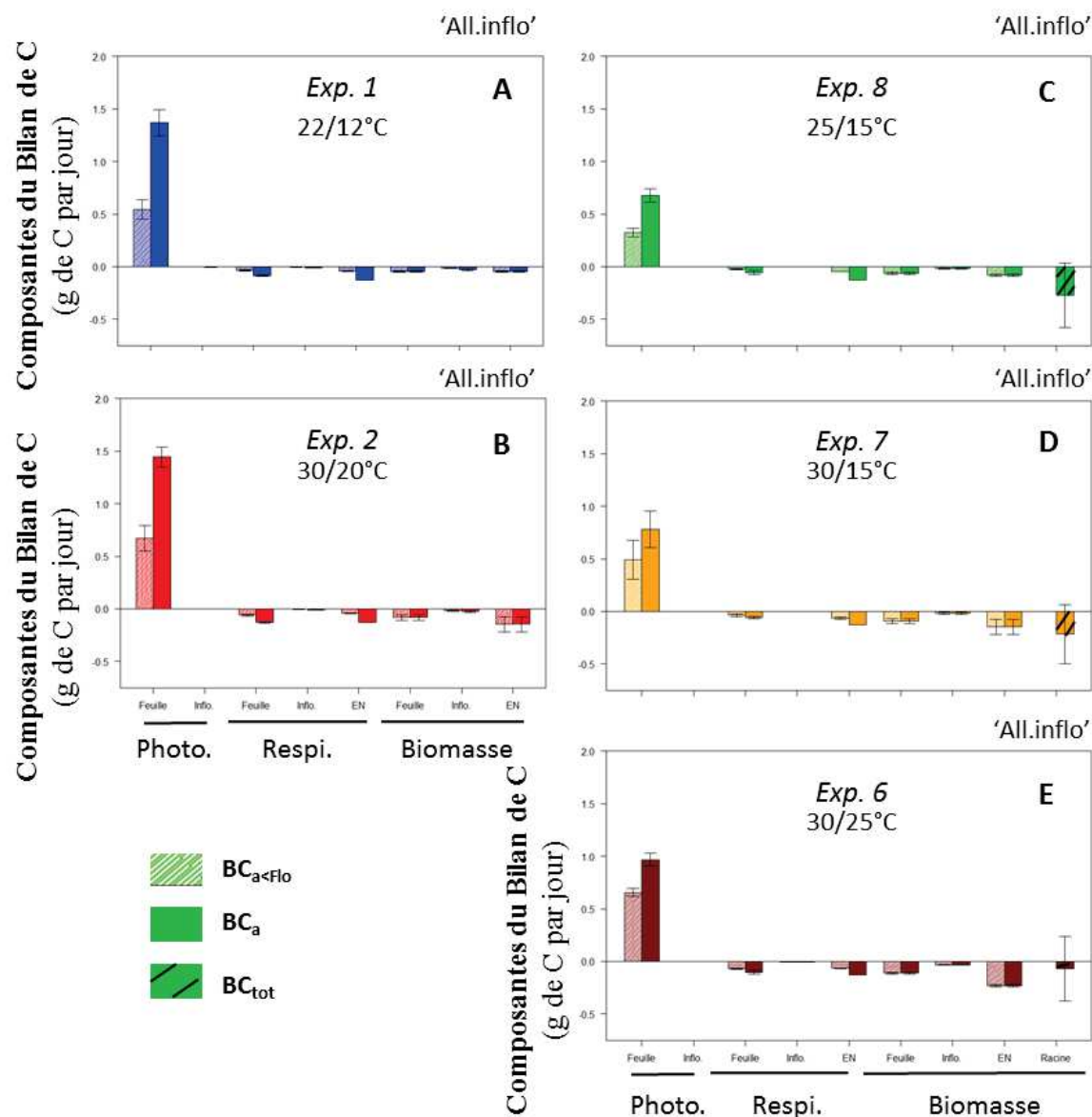


Figure 15: Composantes des bilans carbonés moyens BC_a , $BC_{a<Flo}$ et BC_{tot} , (*i.e.* ΔC_{An} , ΔC_R et ΔC_{BMa}) par organe (feuille, inflorescence & entre-nœuds) pour les expérimentations en phytotron, avec des traitements thermiques de longue durée et le niveau de charge 'All.info' (Exp. 1, 2, 6, 7 et 8). Les composantes du BC sont exprimées en g de C par phytomère émis. Les barres d'erreurs correspondent aux écart-types. Les surfaces foliaires et volumes d'inflorescences à T0 et Tf sont indiqués dans la Table 1.

entrecœuds par unité de masse ou de volume est aussi élevée que celle des feuilles ou celles des baies (Smart 2004; Palliotti et al. 2010).

IV.2. A long terme, l'acclimatation aux températures élevées atténue les diminutions du BC_a , malgré l'augmentation de BM_a , en favorisant le gain de carbone net des organes aériens (ΔC_{An-R})

Lorsque les paliers de température jour/nuit sont appliqués sur une période longue (Exp. 1 & 2 et 6 à 8 en phytotron d'une durée ≥ 5 jours), et similairement aux traitements de courte durée, les BC_a sur 24 h sont positifs dans la gamme de températures 12-30°C la nuit et 20-30°C le jour (Fig. 14). Aucune différence de BC_a n'est observée entre les traitements thermiques pour une année donnée (22/12°C & 30/20°C en 2011 ; 25/25°C, 30/15°C & 30/25°C en 2013). Les simulations du bilan carboné pour les plantes virtuelles indiquent toutefois une diminution de BC_a lorsque la température augmente, de 7% en 2011 et de 9% (30/15°C) et 12% (30/25°C) en 2013 (Fig. 16B). Les différences de BC_a entre les plantes des expérimentations et les plantes virtuelles peuvent être attribuées différences de charges en fruit. Les plantes virtuelles avaient une charge en fruit 1 m²/kg, soit comparable à celle des plantes de l'Exp. 1 (22/12°C) à TF (Table 1). Les plantes des autres expérimentations avaient une charge à TF très inférieure *i.e.* comprise entre 2 m²/kg, pour l'Exp. 2 (30/20°C) en 2011, et jusqu'à 14.5 m²/kg pour l'Exp. 6 (25/15°C) en 2013. Or, les charges en fruit moindre augmentent BC_a aux températures élevées (Fig. 16B, voir ci-dessous).

D'après le modèle, l'optimum de températures se déplace vers des températures journalières plus élevées pour les plantes acclimatées aux températures, comparées aux plantes non acclimatées. Il est ainsi de 26/15°C au lieu de 24/15°C en l'absence d'acclimatation, pour les plantes portant des fruits (Fig. 16). Un tel déplacement de l'optimum de température lorsque les plantes sont acclimatées aux températures élevées est également reporté dans la littérature (Schultz 2000; Sage and Kubien 2007). Les impacts des températures élevées (34/31°C) sur BC_a sont par ailleurs moins sévères que pour les plantes non acclimatées (-42% au lieu -64%), en raison d'une augmentation du gain net de carbone ($\Delta C_{An} - \Delta C_R$). La photosynthèse foliaire augmente en effet de façon significative lorsque les plantes sont acclimatées à la température, alors que la respiration foliaire varie peu (Fig. 4). D'après les mesures des Exp. 1 à 2 et 6 à 8, An aux températures élevées est en effet peu diminué pour les plantes ayant subi le traitement thermique sur une longue période (Fig. 2). Les valeurs de $\Delta C_{An F}$ simulées sont aussi similaire aux seuils de températures 26/15°C et 34/31°C pour les plantes acclimatées (-5% seulement à 34/31°C) (figure 17B). Le modèle prédit une augmentation de ΔC_R entre 26/15°C et 34/31°C pour les plantes acclimatées (+40%) par rapport aux plantes non acclimatées (+30%). Mais cette dernière a un impact modéré sur le gain de carbone net du fait des niveaux de ΔC_{An} 3 fois supérieurs à ΔC_R à 34/31°C. Les acclimations de An_F , et dans une moindre mesure de R_F , aux températures élevées chez la *Microvigne* sont cohérentes avec le phénomène d'acclimatation décrit dans la littérature (Berry and Bjorkman 1980; Way and Sage 2008; Greer and Weedon 2012). Bien

Table 3: Comparaison des gains de carbone net aériens ou de la plante entière (BC_a et BC_{tot}) aux quantités de C accumulé sous forme de sucres TNC dans les organes aériens ou totaux (ΔC_{TNCa} , ΔC_{TNCtot}) pour les expérimentations en phytotron, avec des traitements thermiques de longue durée et le niveau de charge ‘All.inflo’ (Exp. 1, 2, 6, 7 et 8) (voir matériel et méthode III-5).

Année	Exp.		BC_a	ΔC_{TNCa}	BC_{tot}	ΔC_{TNCtot}	$BC_a - \Delta C_{TNCa}$	$BC_{tot} - \Delta C_{TNCtot}$
2011	1	22/12°C	57.19	32.78			24.41	
2011	2	30/20°C	26.65	2.65			24	
2013	8	25/15°C	10.03	0.10	5.93	1.16	9.93	4.77
2013	6	30/15°C	9.48	0.18	5.64	0.93	9.3	4.71
2013	7	30/25°C	10.01	0.27	8.53	0.81	9.74	7.72

Table 4: Comparaison des gains de carbone net aériens ou de la plante entière (BC_a et BC_{tot}) aux quantités de C accumulé forme de sucres TNC exprimés par jour dans les organes aériens ou totaux (ΔC_{TNCa} , ΔC_{TNCtot}) pour les expérimentations en phytotron, avec des traitements thermiques de longue durée et le niveau de charge ‘All.inflo’ (Exp. 1, 2, 6, 7 et 8) (voir matériel et méthode III-5).

Année	Exp.		BC_a	ΔC_{TNCa}	BC_{tot}	ΔC_{TNCtot}	$BC_a - \Delta C_{TNCa}$	$BC_{tot} - \Delta C_{TNCtot}$
2011	1	22/12°C	1.02	0.59			0.44	
2011	2	30/20°C	0.92	0.09			0.83	
2013	8	25/15°C	0.32	0.00	0.19	0.04	0.32	0.15
2013	6	30/15°C	0.34	0.01	0.20	0.03	0.33	0.17
2013	7	30/25°C	0.36	0.01	0.30	0.03	0.35	0.28

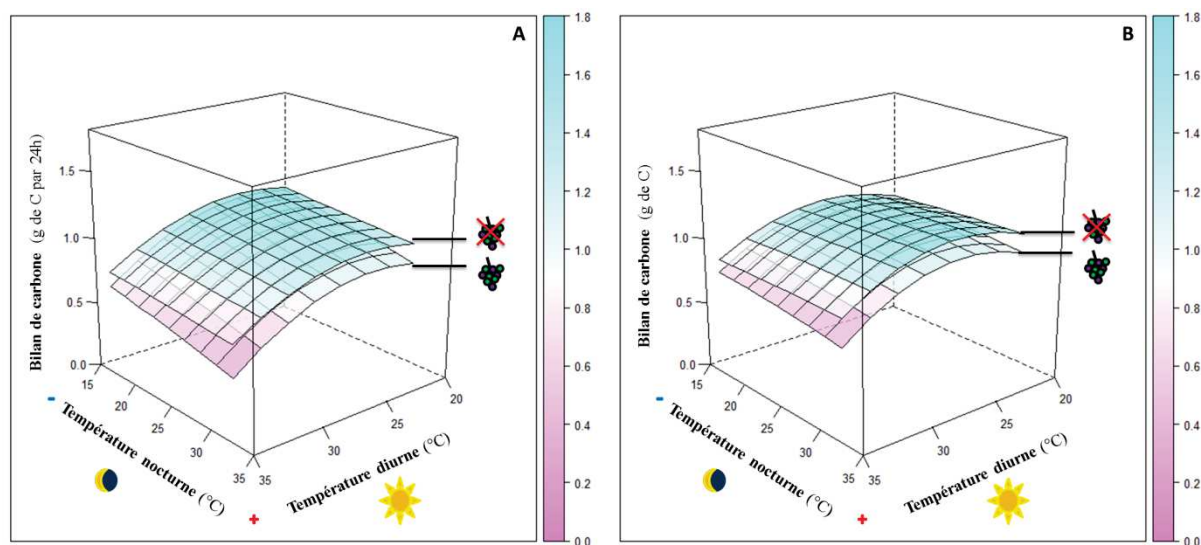


Figure 16: Réponses du BC_a à la température simulé pour une plante virtuelle sans fruit ou avec une charge en fruit de $1 \text{ m}^2.\text{kg}^{-1}$ (surface foliaire de 3500 cm^2 et volume inflorescentiel de 400 cm^3). Le BC_a est calculé sur 24h, sans intégrer de facteur d’acclimation à la température (A) ou en intégrant le facteur d’acclimation à la température (B) (voir texte). Les valeurs de BC_a pour chaque pallier de températures sont simulées indépendamment en utilisant la même plante virtuelle pour chaque pallier.

que largement décrit pour la photosynthèse, l'acclimatation de la respiration est plus sujette à caution. En effet, celle-ci est décrite chez certaines plantes pérennes, dont la vigne (Tjoelker et al. 1999, Salazar-Parra et al. 2015) ou annuelles (Talts et al. 2004), mais est au contraire absente chez d'autres plantes annuelles (Bunce 2007).

Des différences de niveaux de An_F et de R_F ont également été observées entre les dispositifs en serre et en phytotrons aux températures control (25/15°C) (Fig. 3, Exp. 3 'All.inflo' et Exp. 8 'All.inflo'). Les niveaux de An_F et de R_F supérieurs en serre, comparé au phytotron, suggèrent une acclimatation des échanges gazeux foliaires au rayonnement (intensité et qualité), comme reporté chez la vigne (Schultz 2003). En effet, le niveau maximum de rayonnement PAR à hauteur d'apex en phytotron était de $600 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ alors qu'il atteignait en serre $800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Le seuil de PAR saturant pour la photosynthèse augmente lorsque la température de l'air croît. Il atteint ainsi $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ à $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ aux températures élevées ($> 34^\circ\text{C}$) chez la vigne. Les valeurs de An_F , mesurées à un rayonnement maximum de $620 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ étaient inférieures à $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ chez la *Microvigne*, soit très en deçà de celles reportées chez la vigne, *i. e.* $16 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, en conditions de PAR saturant (Zufferey et al. 2000) (Fig. 11). Le faible niveau d'éclairement pourrait être à l'origine de l'absence d'effet du PI sur les valeurs de photosynthèse foliaire (Fig. 2, Fig. 3). En effet, chez la vigne, les feuilles les plus jeunes ($PI < 6$) et dont l'appareil photosynthétique est immature, atteignent des valeurs de An_F maximum à des niveaux de PAR réduits (environ $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ entre 15 et 20°C et $750 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ entre 30 et 25°C) (Zufferey et al. 2000). Le PAR imposé dans les expérimentations sur *Microvigne* ($< 620 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) était par conséquent probablement saturant pour les plus jeunes feuilles ($PI 5$), mais non saturant pour les feuilles plus âgées ($PI 10$ & $PI 25$), dissimulant ainsi l'effet du PI sur An_F .

L'élévation de la température augmente la quantité de carbone fixée dans la biomasse aérienne (ΔC_{BMa}) (Figure 15, Annexe 2, Table 12). Cette dernière a été simulée dans le BC_a à partir du phyllochrone et du gain de biomasse moyen d'un phytomère mature dans le modèle (Fig. 17E). Une augmentation de biomasse par 2.2 est ainsi simulée pour les plantes avec ou sans fruits, lorsque les températures augmentent entre 24/15°C et 34/31°C (Fig 17E). Le modèle prédit une quantité de carbone fixée dans les inflorescences de 42% de la biomasse totale quel que soit le niveau de température. Les Exp 1 à 2 & 6 à 8 montrent toutefois que les températures élevées modifient les allocations de biomasse vers les différents compartiments végétatifs et reproducteurs (Fig. 15 ; Annexe 2, Table 12). Les températures élevées favorisent l'allocation de biomasse vers les feuilles (ΔC_{BMF}) et les entre-nœuds (ΔC_{BMEN}) au détriment des inflorescences (ΔC_{BMI}) et les racines (ΔC_{BMRAC} , voir ci-dessous). La BM_a allouée aux inflorescences était en effet de 25% à 22/12°C et de 10% à 30/20°C en 2011. En 2013 elle était comprise entre 11% à 25/15°C et 7% à 30/15°C. Ceci est cohérent avec les avortements d'inflorescences complètes observées (voir chapitre 2). Poorter et al. (2012) ont également

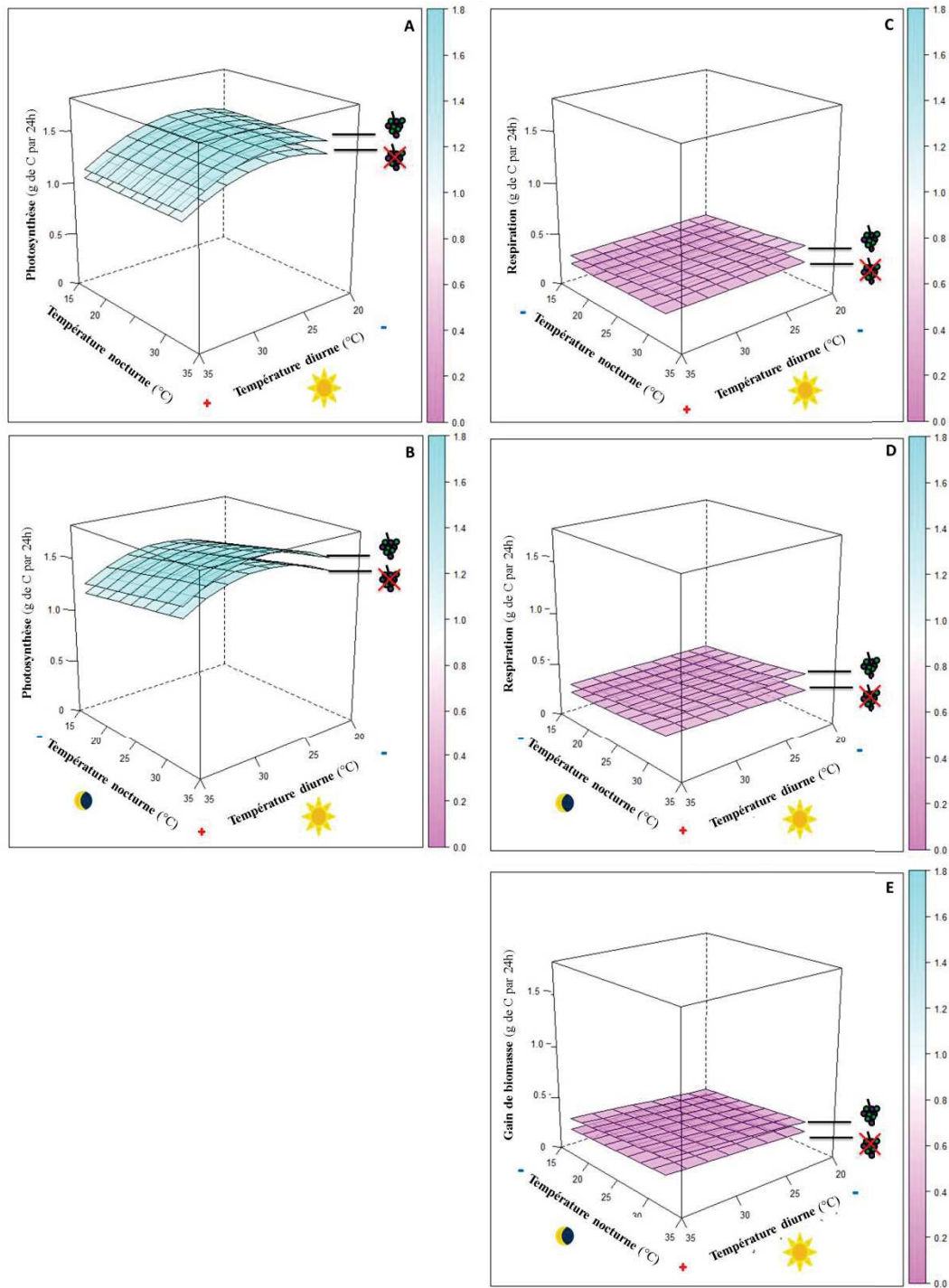


Figure 17: Réponses des composantes du BC_a à la température simulé pour une plante virtuelle sans fruit ou avec une charge en fruit de $1 \text{ m}^2 \cdot \text{kg}^{-1}$ (avec une surface 3500 cm^2 et un volume d'inflorescence 400 cm^3). Le BC_a est calculé sur 24h, en considérant des plantes non acclimatées à la température du pallier (A, C) ou acclimatées à la température du pallier (B, D). Les valeurs de BC_a pour chaque pallier de températures sont simulées indépendamment en utilisant la même plante virtuelle pour chaque pallier. La photosynthèse (A, B) correspond à la quantité de C accumulé au cours de la journée par la photosynthèse des feuilles et des inflorescences. La respiration (C,D) correspond à la quantité de C perdue au cours de la nuit par la respiration des feuilles, des inflorescences et des entre-nœuds. Le gain de biomasse (C) correspond à la quantité de C séquestrée dans la biomasse pendant 24h, dans les feuilles, les inflorescences et les entre-nœuds, il n'est pas différent entre des plantes acclimatées ou non acclimatées.

décrit des modifications des allocations de biomasse en réponse à la température, avec une tendance à l'augmentation de la biomasse allouée aux feuilles, une baisse de la fraction de biomasse allouée aux racines et un certain maintien de la fraction de biomasse allouée aux tiges.

IV.3. Les diminutions de la charge en fruit favorisent le gain de carbone net des organes aériens (ΔC_{An-R}) et augmentent le BC_a

Les plantes ne portant pas de grappe ont un BC_a sur 24 h augmenté comparé aux plantes ayant une charge en fruit de 1 m²/kg (Fig. 16). Cette augmentation est d'autant plus forte que les températures sont élevées et que les plantes n'ont pas été préalablement acclimatées au palier de température imposé (BC_a augmenté jusqu'à +63% à 34/31°C en l'absence d'acclimatation) (Figure 16).

D'après le modèle, l'assimilation du carbone est environ 8% plus basse pour les ne portant pas de grappe comparé aux plantes portant des grappes, quel soit le niveau de température. Ces simulations sont cohérentes avec le plus faible niveau de An_F observé en serre à 25/15°C au PI10 pour le traitement 'Inflo. 1/2' comparé au traitement 'All. info' (fig 3. Exp 3). Par contre aucun effet de la charge en fruit sur An_F n'a été observé en phytotron (Fig. 5 et 6). Il est à noter que les plantes effeuillées ('Leaf 1/3') ont au contraire des niveaux de An_F plus forts. Aucun effet de la charge ou de l'effeuillage sur An_F n'a toutefois été observé en phytotron (Fig. 6). Plusieurs auteurs ont reporté une diminution de An_F lorsque la demande en carbone diminue ou une augmentation An_F lorsque l'offre en carbone diminue (Candolfi-Vasconcelos and Koblet 1991; Petrie et al. 2000; Mullins et al. 2007). Les valeurs de An_F supérieures pour les *Microvignes* défoliées résultent sans doute à la fois de phénomènes de compensation et des réductions d'ombrage entre les feuilles voisines. En l'absence de fruit, la diminution des termes ΔC_R et ΔC_{BMa} contribue fortement à l'augmentation de BC_a (Fig. 17C, 17D, 17E). La réduction de ΔC_R atteint en effet jusqu'à -46% pour le traitement 34/31°C et pour les plantes non acclimatées à la température. Cette diminution de ΔC_R peut être attribuée à l'absence du terme ΔC_{R_I} dans le BC_a pour les plantes sans fruit. Or ce dernier contribue jusqu'à 18% de du terme ΔC_R pour les plantes non acclimatées à la température à 34/31°C. Le terme ΔC_{R_I} est toutefois très dépendant de la charge en fruit. Pour les plantes des expérimentations soumises aux températures élevées, et dont la charge en fruit est très inférieure (2 m²/kg à 14.5 m²/kg) à celle des plantes virtuelles (1 m²/kg), ΔC_{R_I} ne représente que 1% à 4% de ΔC_{R_I} (Exp. 2 et 7 à 8, Table 1). La respiration foliaire ΔC_{R_F} en phytotron est par ailleurs aussi plus faible lorsque la charge diminue (Fig 6). Ceci est cohérent avec les observations réalisées sur la vigne conventionnelle. En effet, il a été démontré que les feuilles opposées aux grappes présentent des photosynthèses et des respirations supérieures (Zufferey et al. 2000). Or chez la *Microvigne* du fait du phénotype de fructification continue, 2/3 des feuilles sont opposées à des inflorescences ou grappes.

Les mesures de photosynthèse de respiration sur organe (feuille, inflorescence) ont été réalisées pour l'ensemble des expérimentations à des niveaux de PI inférieurs ou égaux au PI 25 (stade antérieur à la *véraison*). Par ailleurs, seules les plantes des Exp. 1 à 4 avaient dépassé le stade *véraison* en cours d'expérimentation à des niveaux de PI supérieurs au PI 25. On peut se questionner par conséquent sur l'impact potentiel de stades phénologiques plus avancés sur les termes de ΔC_{AN} et ΔC_R , et par voie de conséquence de ΔC_{BMA} . En effet, les grappes représentent à partir de la *véraison*, un puits majoritaire pour le carbone (Pallas et al. 2008; Dai et al. 2009). L'impact négatif de la charge en fruit sur le BC_a a déjà été mis en évidence chez la vigne conventionnelle. En effet, Greer and Sicard (2009) ont montré que le développement des organes reproducteurs coïncide avec la période du cycle pendant laquelle le bilan carboné est le plus faible.

IV.4. Des différences de BC_a et d'accumulations de sucres TNC marquées entre les années : quels rôles des états initiaux de développement aérien et racinaires?

Le BC_a , calculé sur un pas de temps de 24h, était supérieur pour les expérimentations de 2011 comparé à 2013 (Table 1, Figure 14B). Les valeurs plus élevées de BC_a en 2011 ont pu être attribuées principalement à un gain de carbone assimilé par la photosynthèse ($\Delta C_{AN\ F}$) supérieur, du fait du plus fort développement foliaire à T0 cette année-là (surface foliaire totale de 3200 cm² en 2011 et de 1300 cm² en 2013) (Figure 15 ; Annexe 2, Table 12). Le modèle de simulation des échanges gazeux prédit par ailleurs une stimulation de l'activité photosynthétique lorsque la charge en fruit est plus élevée, ce qui était le cas en 2011 (1.1 m²/kg à 2.3 m²/kg en 2011 vs. 3.9 m²/kg à 14.5 m²/kg en 2013) (Figure 17 B). Pour les PI5, PI10 et PI25, An_F était toutefois semblable en 2011 et 2013 (Figure 2).

Les différences de BC_a et de $\Delta C_{AN\ F}$ entre les deux années sont conservées lorsque le bilan de carbone est calculé sur la zone sensible à l'avortement (stade antérieur à la floraison à T0, $BC_{a<Flo}$). Les valeurs plus élevées de $\Delta C_{AN\ F}$ dans cette zone peuvent être reliées à des états initiaux (T0) différents entre 2011 et 2013. En effet, la surface de la zone avant la floraison était de 900 cm² en 2011 et de 450 cm² en 2013, en raison des différences interannuelles à la fois du nombre de phytomères (15 en 2011 vs. 11 en 2013) et des surfaces individuelles des feuilles (90 cm² en 2011 vs. 60 cm² en 2013 au PI10) (voir chapitre 2). Les termes ΔC_R et ΔC_{BMA} dans la zone sensible à l'avortement variaient peu au contraire entre les années pour des traitements thermiques semblables (22/12°C en 2011 vs. 25/15°C en 2013, ou 30/20°C en 2011 vs. 30/15°C en 2013). Malgré ces différences interannuelles de bilan carboné aérien, $BC_{a<Flo}$ représente environ 35% de BC_a , pour les deux années et l'ensemble des traitements thermiques. De façon similaire, (Poni et al. 2000) ont observé un taux du C assimilé au cours du cycle alloué à la croissance aérienne (feuilles, tiges, grappes) constant pour des systèmes de taille très contrastés (taille conventionnelle vs. taille minimale).

Les quantités de carbone accumulé sous forme de sucre TNC sur 24 h sont environ 6 fois plus élevées à 22/12°C que pour le traitement 30/20°C en 2011 et que pour l'ensemble des traitements thermiques de 2013 (Table 4). Ces résultats sont en accord avec ceux communément admis, quant à la plus forte disponibilité en carbone pour la plante lorsque son développement est ralenti du fait de températures plus basses (Monteith, 1994). Les différentiels entre le bilan de carbone et la quantité de carbone accumulé sous forme de sucre, soit pour les organes aériens, soit pour la plante entière, peuvent être analysés pour appréhender les différences de consommation en carbone du système racinaire (respiration et fixation dans la biomasse racinaire) entre 2011 et 2013. Le différentiel entre ΔBC_a et $\Delta C_{TNC\ a}$ est supérieur en 2011 comparé en 2013, et il est deux fois plus important pour les températures élevées en 2011 (30/20°C) (Table 4). Le plus fort développement aérien à T0 en 2011 comparé à 2013, était sans doute également accompagné d'un développement racinaire supérieur, et par conséquent de besoins en C accrus pour ce compartiment racinaire, en particulier aux températures élevées. Les biomasses racinaires sont en effet corrélées aux biomasses aériennes chez la vigne, quels que soit le niveau de surface foliaire ou la charge en fruit (Petrie et al. 2000). La biomasse racinaire représente environ 25% de la biomasse totale pour différents systèmes de taille (Holzapfel and Smith 2012; Pellegrino et al. 2014). Les parts respectives de la respiration racinaire et de la quantité de carbone fixé dans la biomasse des racines ont pu être approchées *via* les comparaisons des différentiels entre ΔBC_a et $\Delta C_{TNC\ a}$, et entre ΔBC_{tot} et $\Delta C_{TNC\ tot}$ en 2013. Les parts de carbone respiré par les racines et fixées dans la biomasse sont équivalentes à 25/15°C (47% vs. 53%). Lorsque la température augmente, la part de carbone respiré croît, au dépend de celle fixée dans la biomasse pour atteindre à 30/25°C jusqu'à 80% du carbone respiré et 20% seulement du carbone fixé dans la biomasse. L'importance du puits pour le carbone (respiration et fixation dans la biomasse) représenté par le système racinaire, et l'augmentation de la respiration aux températures élevées sont soulignées par de nombreux auteurs (Atkin et al. 2005; Huang et al. 2005). Un bémol peut toutefois être apporté à cette approche d'évaluation de l'utilisation du C par le système racinaire. Une surestimation des valeurs de ΔBC_a et ΔBC_{tot} ne sont pas à exclure. En effet, ni les effets d'ombrage des feuilles, ni les ceux du vieillissement des feuilles (PI>PI25) sur les diminutions potentielles de An_F n'ont été considérés dans le modèle de simulation des échanges gazeux.

V. Conclusion

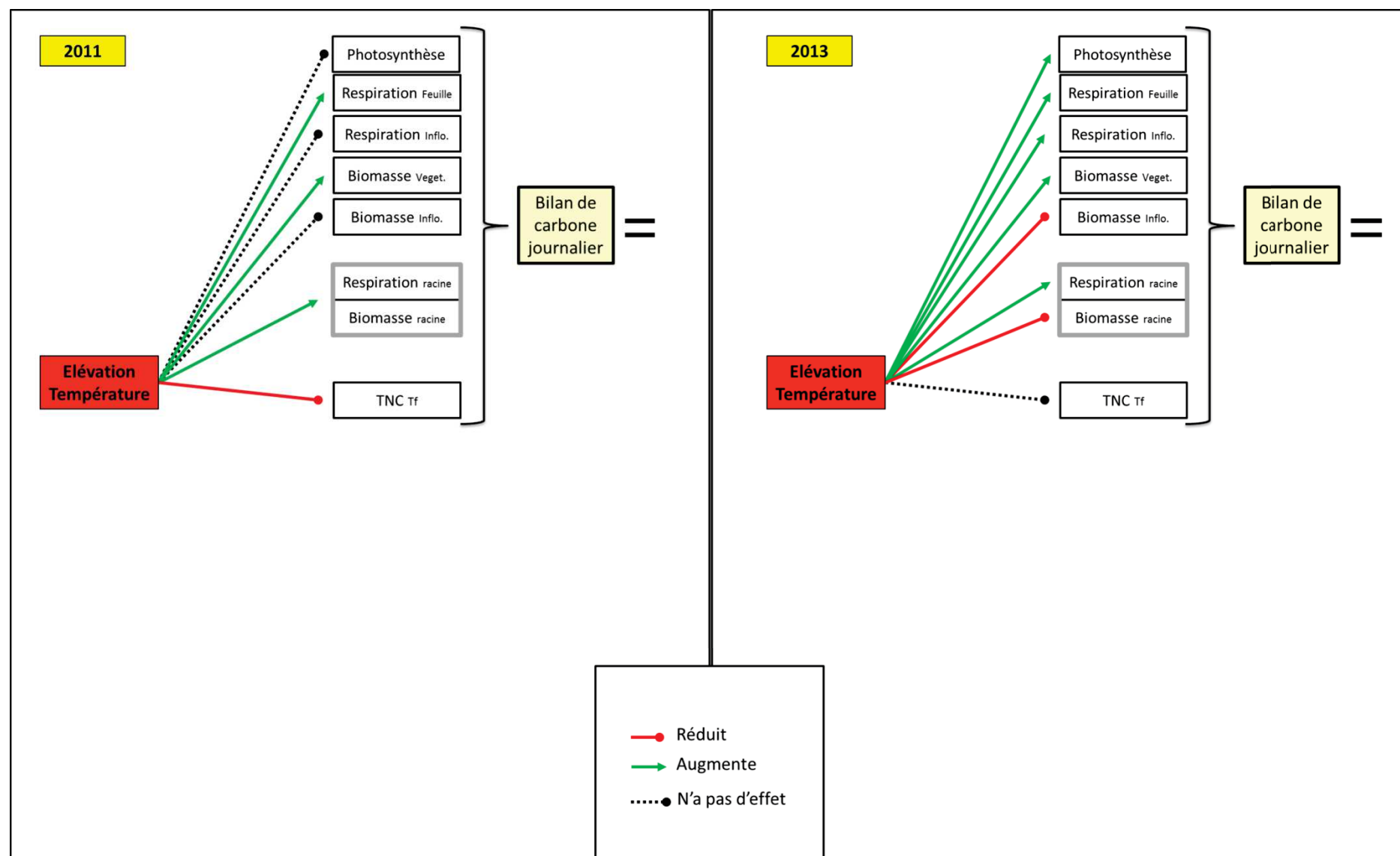
Les impacts des élévations de températures sur le bilan de carbone aérien (BC_a) et sur l'ensemble de ses termes (ΔC_{An} , ΔC_R , ΔC_{BMa}) ont été quantifiés à partir des données issues de 9 expérimentations. Un modèle de simulation des échanges gazeux a été paramétré et utilisé pour simuler le BC_a de plantes virtuelles. Ce dernier a permis de mieux appréhender les réponses intégrées des termes du BC_a aux augmentations de températures diurnes et nocturnes.

Les analyses conjointes des mesures et des simulations ont permis d'identifier des effets contrastés des températures élevées sur le BC_a , notamment en fonction de la charge en fruit et de l'acclimatation à la température des plantes. De façon générale, les réductions du BC_a aux températures élevées sont d'autant plus sévères que la charge en fruit est élevée et que les plantes ne sont pas acclimatées aux températures. Ces diminutions de BC_a aux températures élevées résultent des diminutions de ΔC_{An} , alors que ΔC_R et ΔC_{BMa} augmentent. L'acclimatation des plantes aux températures élevées augmente au contraire les valeurs de ΔC_{An} , atténuant de ce fait les diminutions de BC_a , comparé aux plantes non acclimatées. Les températures élevées favorisent la respiration et l'allocation de biomasse vers les organes végétatifs aériens (feuilles et entre-nœuds) au détriment de celles des inflorescences. La respiration racinaire tend aussi à augmenter, alors que l'allocation de biomasse vers les racines diminue.

Les traitements thermiques appliqués à long terme sur des plantes portant des fruits, ont eu un impact nul sur BC_a en 2011 et 2013, mais au contraire un effet marqué entre les années (Figure 18). Les vigueur contrastées des plantes en 2011 (forte vigueur) par rapport à 2013 (faible vigueur) semblent être à l'origine de ces différences interannuelles. Les valeurs de BC_a étaient supérieures en 2011, comparé à 2013, même lorsque seule la zone sensible à l'avortement était considérée. Il est à noter que le terme ΔC_{An} contribue de façon majoritaire aux valeurs de ΔBC_a . Les facteurs impactant ΔC_{An} ont par conséquent un poids important sur la valeur finale de ΔBC_a . Ainsi, les surfaces foliaires initiales supérieures dans la zone sensible à l'avortement en 2011 ont induit des valeurs de ΔC_{An} et de ΔBC_a supérieures, comparé à 2013. Les plus forts ΔBC_a en 2011 ont permis une accumulation supérieure sucres TNC dans les organes aériens. La consommation du carbone par le système racinaire, évaluée à partir des différentiels entre le bilan carboné et l'accumulation de sucres, était également plus élevée en 2011, comparé à 2013, suggérant que les fortes vigueur aériennes étaient associées à des vigueur du système racinaire également supérieures.

Un modèle de simulation des échanges gazeux et du bilan carboné pouvant être adapté à des phénotypes contrastés de *Microvigne* a été paramétré. L'importance de la consommation en carbone du système racinaire atteste de la nécessité de prendre en compte la respiration et l'allocation de biomasse vers les racines dans le calcul du bilan carboné. La contribution du compartiment

Figure 18: Schéma récapitulatif des effets de la température observée dans le chapitre 3 pour les expérimentations de 2011 et 2013.



entrecroisés au ΔBC_{tot} doit être affinée dans le modèle, en intégrant à la fois la taille de ce compartiment et la sensibilité respiratoire de ce dernier aux températures élevées. Les stades phénologiques plus avancés, *i.e.* phase de maturation des baies, doivent par ailleurs être considérés dans cette approche. Enfin, une meilleure évaluation du microclimat des organes aériens (feuilles, inflorescences) et des impacts de niveaux de rayonnement supérieurs sur l'activité photosynthétique permettraient de compléter et affiner les simulations du ΔBC_{tot} .

VI. References

Atkin OK, Bruhn D, Hurry V, Tjoelker MG. 2005. The hot and the cold: unravelling the variable response of plant respiration to temperature. *Functional Plant Biology* **32**: 87–105.

Atwell BJ, Kriedemann PE, Turnbull CGN. 1999. *Plants in Action: Adaptation in Nature, Performance in Cultivation*. Macmillan Education AU.

Azcon-Bieto J, Osmond B. 1983. Relationship between photosynthesis and respiration. *Plant Physiology* **71**: 574–581.

Bennett J, Trought M, Jarvis P. 2002. The importance of over-wintering carbohydrates on inflorescence development and yield potential. *Australian and New Zealand Grapegrower and Winemaker* **456**: 70–72.

Berry J, Bjorkman O. 1980. Photosynthetic Response and Adaptation to Temperature in Higher Plants. *Annual Review of Plant Physiology* **31**: 491–543.

Bunce JA. 2007. Direct and Acclimatory Responses of Dark Respiration and Translocation to Temperature. *Annals of Botany* **100**: 67–73.

Candolfi-Vasconcelos MC, Koblet W. 1991. Influence of partial defoliation on gas exchange parameters and chlorophyll content of field-grown grapevines _ Mechanism and limitations of the compensation capacity. *Vitis*: 129–141.

Chew YH, Wenden B, Flis A, Mengin V, Taylor J, Davey CL, Tindal C, Thomas H, Ougham HJ, de Reffye P, Stitt M, Williams M, Muetzelfeldt R, Halliday KJ, Millar AJ. 2014. Multiscale digital Arabidopsis predicts individual organ and whole-organism growth. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **111**: E4127–E4136.

Dai ZW, Vivin P, Robert T, Milin S, Li SH, Génard M. 2009. Model-based analysis of sugar accumulation in response to source–sink ratio and water supply in grape (*Vitis vinifera*) berries. *Functional Plant Biology* **36**: 527.

Düring H, Harst M. 1996. Stomatal behaviour, photosynthesis and photorespiration of in vitro-grown grapevines: Effects of light and CO₂. *VITIS-GEILWEILERHOF*- **35**: 163–168.

Escalona J m., Tomàs M, Martorell S, Medrano H, Ribas-Carbo M, Flexas J. 2012. Carbon balance in grapevines under different soil water supply: importance of whole plant respiration. *Australian Journal of Grape and Wine Research*: no–no.

- Evans J, Poorter H. 2001.** Photosynthetic acclimation of plants to growth irradiance: the relative importance of specific leaf area and nitrogen partitioning in maximizing carbon gain. *Plant, Cell & Environment* **24**: 755–767.
- Grechi I, Vivin P, Hilbert G, Milin S, Robert T, Gaudillère J-P. 2007.** Effect of light and nitrogen supply on internal C:N balance and control of root-to-shoot biomass allocation in grapevine. *Environmental and Experimental Botany* **59**: 139–149.
- Greer DH, Sicard SM. 2009.** The net carbon balance in relation to growth and biomass accumulation of grapevines (*Vitis vinifera* cv. Semillon) grown in a controlled environment. *Functional Plant Biology* **36**: 645–653.
- Greer DH, Weedon MM. 2011.** Modelling photosynthetic responses to temperature of grapevine (*Vitis vinifera* cv. Semillon) leaves on vines grown in a hot climate. *Plant, Cell & Environment*: 1–15.
- Greer DH, Weedon MM. 2012.** Interactions between light and growing season temperatures on, growth and development and gas exchange of Semillon (*Vitis vinifera* L.) vines grown in an irrigated vineyard. *Plant Physiology and Biochemistry* **54**: 59–69.
- Higgins SS, Larsen FE, Bendel RB, Radamaker GK, Bassman JH, Bidlake WR, Al Wir A. 1992.** Comparative gas exchange characteristics of potted, glasshouse-grown almond, apple, fig, grape, olive, peach and Asian pear. *Scientia Horticulturae* **52**: 313–329.
- Holzapfel BP, Smith JP. 2012.** Developmental stage and Climatic factors impact more on carbohydrate reserve dynamics of shiraz than cultural practice. *American Journal of Enology and Viticulture* **63**: 333–342.
- Holzapfel BP, Smith JP, Field SK, Hardie WJ. 2010.** 3 Dynamics of Carbohydrate Reserves in Cultivated Grapevines. *Horticultural Reviews* **37**: 143–211.
- Huang X, Lakso AN, Eissenstat DM. 2005.** Interactive Effects of Soil Temperature and Moisture on Concord Grape Root Respiration. *Journal of Experimental Botany* **56**: 2651–2660.
- Jones H. 1992.** *Plants and Microclimate: A quantitative approach to environmental plant physiology*. Press Syndicate of the University of Cambridge.
- Jones GV, Davis RE. 2000.** Climate influences on grapevine phenology, grape composition, and wine production and quality for Bordeaux, France. *American Journal of Enology and Viticulture* **51**: 249–261.
- Jones JE, Lee G, Wilson SJ. 2013.** A Statistical Model to Estimate Bud Fruitfulness in Pinot noir. *American Journal of Enology and Viticulture* **64**: 274–279.
- Keller M, Tarara JM, Mills LJ. 2010.** Spring temperatures alter reproductive development in grapevines. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **16**: 445–454.
- Lakso AN, Intrigliolo D, Eissenstat DM. 2007.** Modeling concord grapes with “VitiSim”, a simplified carbon balance model: understanding pruning effects. *VIII International Symposium on Modelling in Fruit Research and Orchard Management* 803.243–250.
- Lebon G, Brun O, Magné C, Clément C. 2005.** Photosynthesis of the grapevine (*Vitis vinifera*) inflorescence. *Tree physiology* **25**: 633–639.

- Lebon E, Pellegrino A, Tardieu F, Lecoeur J. 2004.** Shoot development in grapevine (*Vitis vinifera*) is affected by the modular branching pattern of the stem and intra- and inter-shoot trophic competition. *Annals of Botany* **93**: 263–274.
- Lebon G, Wojnarowicz G, Holzapfel B, Fontaine F, Vaillant-Gaveau N, Clement C. 2008.** Sugars and flowering in the grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Journal of Experimental Botany* **59**: 2565–2578.
- Lescourret F, Génard M. 2005.** A virtual peach fruit model simulating changes in fruit quality during the final stage of fruit growth. *Tree Physiology* **25**: 1303–1315.
- Monteith J. 1994.** Validity of the correlation between intercepted radiation and biomass. *Agricultural and Forest Meteorology* **68**: 213–220.
- Morinaga K, Imai S, Yakushiji H, Koshita Y. 2003.** Effects of fruit load on partitioning of ¹⁵N and ¹³C, respiration, and growth of grapevine roots at different fruit stages. *Scientia Horticulturae* **97**: 239–253.
- Mullins M, Bouquet A, Williams LE. 2007.** Biology of the Grapevine. *The Biology of Horticultural Crops*.
- Niinemets Ü, Oja V, Kull O. 1999.** Shape of leaf photosynthetic electron transport versus temperature response curve is not constant along canopy light gradients in temperate deciduous trees. *Plant, Cell & Environment* **22**: 1497–1513.
- Pallas B, Christophe A, Cournède P-H, Lecoeur J. 2009.** Using a mathematical model to evaluate the trophic and non-trophic determinants of axis development in grapevine. *Functional Plant Biology* **36**: 156.
- Pallas B, Louarn G, Christophe A, Lebon E, Lecoeur J. 2008.** Influence of intra-shoot trophic competition on shoot development in two grapevine cultivars (*Vitis vinifera*). *Physiologia Plantarum* **134**: 49–63.
- Pallioti A, Silverstroni O, Petoumenou D. 2010.** Seasonal Patterns of Growth Rate and Morphophysiological Features in Green Organs of Cabernet Sauvignon Grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture* **61**: 74–82.
- Parent B, Turc O, Gibon Y, Stitt M, Tardieu F. 2010.** Modelling temperature-compensated physiological rates, based on the co-ordination of responses to temperature of developmental processes. *Journal of Experimental Botany* **61**: 2057–2069.
- Pellegrino A, Clingeleffer P, Cooley N, Walker R. 2014.** Management practices impact vine carbohydrate status to a greater extent than vine productivity. *Frontiers in Plant Science* **5**.
- Peraudeau S, Roques S, O. Quiñones C, Fabre D, Van Rie J, Ouwerkerk PBF, Jagadish KSV, Dingkuhn M, Lafarge T. 2015.** Increase in night temperature in rice enhances respiration rate without significant impact on biomass accumulation. *Field Crops Research* **171**: 67–78.
- Petrie PR, Trought MCT, Howell GS. 2000.** Growth and dry matter partitioning of Pinot Noir (*Vitis vinifera* L.) in relation to leaf area and crop load. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **6**: 40–45.

Poni S, Bernizzoni F, Civardi S. 2008. The effect of early leaf removal on whole-canopy gas exchange and vine performance of *Vitis vinifera* L. 'Sangiovese'. *VITIS-GEILWEILERHOF*- **47**: 1.

Poni S, Intrieri C, Magnanini E, others. 2000. Seasonal growth and gas exchange of conventionally and minimally pruned Chardonnay canopies. *VITIS-GEILWEILERHOF*- **39**: 13–18.

Poorter H, Niklas KJ, Reich PB, Oleksyn J, Poot P, Mommer L. 2012. Biomass allocation to leaves, stems and roots: meta-analyses of interspecific variation and environmental control: Tansley review. *New Phytologist* **193**: 30–50.

Prieto JA, Louarn G, Perez Peña J, Ojeda H, Simonneau T, Lebon E. 2012. A leaf gas exchange model that accounts for intra-canopy variability by considering leaf nitrogen content and local acclimation to radiation in grapevine (*Vitis vinifera* L.): Modelling intra-canopy variability on gas exchange. *Plant, Cell & Environment* **35**: 1313–1328.

Quereix A, Dewar R, Gaudillere JP, Dayau S, Valancogne C. 2001. Sink feedback regulation of photosynthesis in vines: measurements and a model. *Journal of Experimental Botany* **52**: 2313–2322.

Rewald B, Rechenmacher A, Godbold DL. 2014. It's Complicated: Intraroot System Variability of Respiration and Morphological Traits in Four Deciduous Tree Species. *PLANT PHYSIOLOGY* **166**: 736–745.

Sage RF, Kubien DS. 2007. The temperature response of C3 and C4 photosynthesis. *Plant, Cell & Environment* **30**: 1086–1106.

Sawicki M, Jeanson E, Celiz V, Clement C, Jacquard C, Vaillant-Gaveau N. 2012. Adaptation of grapevine flowers to cold involves different mechanism depending on stress intensity. *PLoS ONE* **7**.

Schultz HR. 2000. Climate change and viticulture: A European perspective on climatology, carbon dioxide and UV-B effects. *Australian Journal of grape and wine research* **6**: 2–12.

Schultz HR. 2003. Extension of a Farquhar model for limitation of leaf photosynthesis induced by light environment, phenology and leaf age in grapevine (*Vitis vinifera* L. cvv. White Riesling and Zinfandel). *Functional Plant Biology* **30**: 673–687.

Smart DR. 2004. Exposure to elevated carbon dioxide concentration in the dark lowers the respiration quotient of *Vitis* cane wood. *Tree Physiology* **24**: 115–120.

Soar CJ, Collins MJ, Sadras VO. 2009. Irrigated Shiraz vines (*Vitis vinifera*) upregulate gas exchange and maintain berry growth in response to short spells of high maximum temperature in the field. *Functional Plant Biology* **36**: 801–814.

Talts P, Tiit P, Per G, Olav K. 2004. Respiratory acclimation in *Arabidopsis thaliana* leaves at low temperature. *J Plant Physiol* **161**: 573–579.

Tjoelker M, Oleksyn J, Reich PB, others. 1999. Acclimation of respiration to temperature and CO2 in seedlings of boreal tree species in relation to plant size and relative growth rate. *Global Change Biology* **5**: 679–691.

Way DA, Sage RF. 2008. Thermal acclimation of photosynthesis in black spruce [*Picea mariana* (Mill.) B.S.P.]. *Plant, Cell & Environment* **31**: 1250–1262.

Webb LB, Whetton PH, Barlow EWR. 2007. Modelled impact of future climate change on the phenology of winegrapes in Australia. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **13**: 165–175.

Yamori W, Noguchi K, Hikosaka K, Terashima I. 2010. Phenotypic Plasticity in Photosynthetic Temperature Acclimation among Crop Species with Different Cold Tolerances. *PLANT PHYSIOLOGY* **152**: 388–399.

Zapata C, Deleens E, Chaillou S, Magne C. 2004. Partitioning and mobilization of starch and N reserves in grapevine (Vitis vinifera L.). *Journal of Plant Physiology* **161**: 1031–1040.

Zhao J, Hartmann H, Trumbore S, Ziegler W, Zhang Y. 2013. High temperature causes negative whole-plant carbon balance under mild drought. *New Phytologist* **200**: 330–339.

Zufferey V, Murisier F, Schultz HR, others. 2000. A model analysis of the photosynthetic response of Vitis vinifera L. cv Riesling and Chasselas leaves in the field: I. Interaction of age, light and temperature. *Vitis* **39**: 19–26.

Zufferey V, Murisier F, Vivin P, Belcher S, Lorenzini F, Spring J-L, Viret O. 2012. Carbohydrate reserves in grapevine (Vitis vinifera L. “Chasselas”): the influence of the leaf to fruit ratio. *Vitis* **51**: 103–110.

Discussion générale

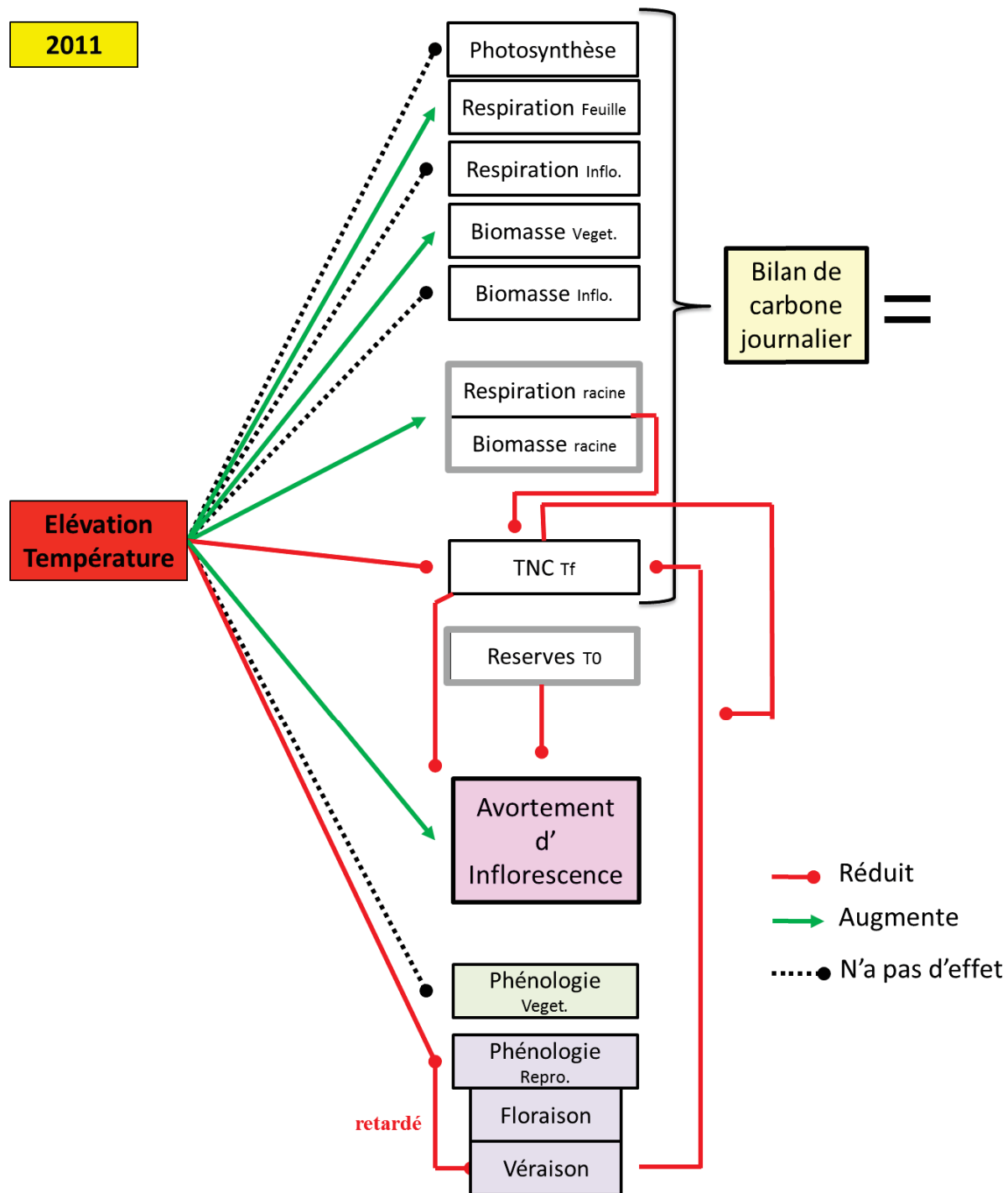


Figure 1 : Schéma récapitulatif des résultats obtenus par l'analyse des Exp. 1 et 2 de 2011.

I. Quel est le lien entre BC, température et avortement des inflorescences?

Deux contextes différents d'avortement¹ ont été mis en évidence

L'analyse conjointe des expérimentations réalisées au cours de la thèse a permis dans un premier temps de mettre en évidence l'absence de phénomène de coulure chez la *Microvigne*, tel qu'il est habituellement décrit. En effet, aucune abscission de fleurs ou de baies nouées n'a été observée de manière significative que ce soit en condition témoin ou au cours de traitements thermiques. En revanche, des chutes totales d'inflorescences ont été observées pour toutes les conditions thermiques. Les avortements d'inflorescences étaient significativement augmentés en réponse à l'élévation des températures diurnes. L'analyse des profils d'avortement à l'issue des expérimentations thermiques a permis de mettre évidence que la floraison était le stade limite d'avortement des inflorescences chez la *Microvigne*. Cette observation a permis de formuler une interprétation temporelle des profils spatiaux d'avortement des inflorescences pour les traitements thermiques de 2011 et 2013.

Les avortements d'inflorescences aux températures élevées semblaient résulter de causes différentes. En 2011, l'avortement était tardif, alors qu'en 2013 il était précoce et suivi d'une période de récupération. Les deux années expérimentales différaient principalement quant à l'âge des plantes utilisées et à leur vigueur. Ainsi, en 2011, les plantes étaient plus âgées qu'en 2013 (temps thermique cumulé depuis le débourrement supérieur), et avaient une surface foliaire jusqu'à deux fois supérieure, laissant supposer que leur développement racinaire était également supérieur. Leur développement reproducteur était continu le long de l'axe proleptique. Les inflorescences de la base étaient au plateau herbacé lors de l'initialisation des traitements thermiques. En 2013, le développement reproducteur était incomplet le long de l'axe proleptique, dû à des avortements d'inflorescences avant l'application des traitements thermiques. Les inflorescences étaient de stade antérieur à la floraison au début des traitements thermiques. Des différences de vigueur à T0 entre les années, en termes de réserves carbonées sont soupçonnées du fait des niveaux de développements aériens contrastés. Ces différences seraient à l'origine des niveaux très différents de concentrations en TNC mesurés à TF en 2011 et en 2013. Des liens entre ces contextes d'avortement et le métabolisme de la plante d'une part et son bilan carboné d'autre part ont été mis en évidence dans les chapitres 2 et 3. Ceux-ci sont repris et synthétisés ci-dessous.

2011, un avortement tardif synchrone avec la véraison des baies malgré des teneurs en sucres importantes et un BC favorable

Les résultats obtenus à partir l'analyse des expérimentations de 2011, et permettant d'expliquer les profils d'avortement d'inflorescence tardif sont présentés dans la figure 1.

En 2011, les plantes utilisées pour les expérimentations thermiques présentaient à la fin de l'expérimentation des teneurs en TNC dans les organes aériens au moins 2 fois supérieures à celles des

plantes utilisées dans les expérimentations de 2013 (Table 3.3 et 3.4). Ces différences suggèrent des niveaux de réserves en carbohydrates contrastés entre les deux années avant l'application des traitements thermiques. Cette hypothèse paraît corroborée par les faibles taux d'avortements d'inflorescences en 2011 et au contraire les taux importants d'avortement des inflorescences en 2013, à T0. Des plantes caractérisées par une séquence complète d'étages reproducteurs entre l'initiation des inflorescences jusqu'au plateau herbacé ont donc été utilisées en 2011, alors qu'en 2013, les stades reproducteurs présents sur les plantes ont dû être homogénéisés en ne conservant que des inflorescences de stade antérieur au stade floraison. Malgré cette harmonisation, certaines plantes ne portaient pas d'inflorescences en dessous du PI 6 (rang auquel les fleurs sont séparées et peuvent facilement être comptabilisées) du fait des avortements. Cette hypothèse est cohérente avec les résultats montrant chez la vigne, un lien étroit entre développement reproducteur précoce, en particulier le taux de nouaison, et la teneur en TNC, en particulier dans les racines (Rogiers et al. 2011).

En 2011, d'importants décalages phénologiques ont été observés aux températures élevées (30/20°C), comparés aux températures plus fraîches (22/12°C) (Chapitre 1 et 2). En effet, bien que ni la floraison ni le développement des baies pour une partie de la première phase de croissance n'aient été impactés par les traitements thermiques, la fin de la croissance des baies et tout particulièrement le stade *véraison* était retardée de 330°C j par une augmentation des températures diurnes et nocturnes de 8°C. Ces observations semblent contredire les observations sur la vigne conventionnelle, pour laquelle le développement reproducteur est raccourci en réponse à la température (Webb *et al.*, 2007, 2012). Cependant, ces dernières provenaient d'expérimentations au champ, où d'autres conditions environnementales que la température variaient, notamment le VPD et le statut hydrique du sol. Le retard de la maturation des baies de la *Microvigne* en réponse aux températures élevées pourrait être une stratégie d'évitement de la carence en carbone pour la plante, visant à retarder le pic de demande en TNC. Mais, le retard de la *véraison* pourrait également être la conséquence des teneurs plus faibles en TNC aux températures élevées. Dans ce cas, le retard développemental serait lié à l'impossibilité pour la plante de satisfaire la demande en TNC des organes reproducteurs. Un ralentissement du développement reproducteur en réponse à une carence en carbone est une réponse classique chez les plantes (Smith and Stitt 2007; Matsoukas et al. 2012; Ruan 2014; Jeong et al. 2015). L'élévation des températures a induit en effet une baisse massive de la teneur en TNC dans les organes aériens (Figures 2.10 à 2.14, Table 2.3 et 2.4). Celle-ci n'était pas liée à une détérioration du bilan de carbone aérien mais pourrait être due en revanche à l'augmentation de la demande racinaire pour la croissance et la respiration.

L'apparition de la *véraison* sur la première grappe de la base du rameau au cours du traitement 30/20°C en 2011 était concomitante avec le début des avortements des inflorescences de stade antérieur à la floraison sans la partie apicale du rameau (chapitre 2). Ceci semble indiquer que la

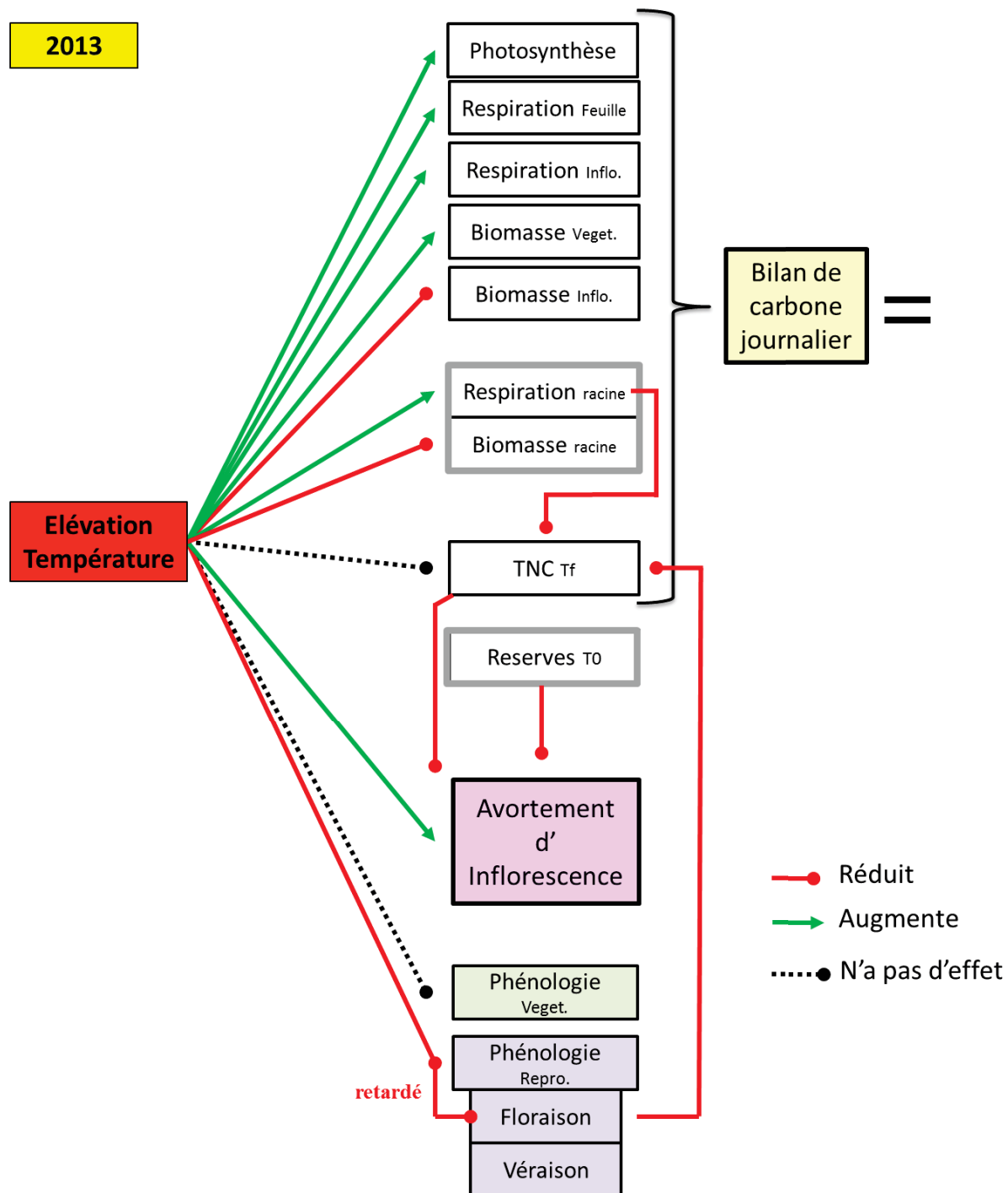


Figure 2 : Schéma récapitulatif des résultats obtenus par l'analyse des Exp. 6, 7 et 8 de 2013.

véraison des grappes, qui marque le début du remplissage en TNC des baies, est à l'origine des avortements tardifs d'inflorescences. L'absence d'avortement lors de la véraison à 22/12°C, pourrait être liée à un rétrocontrôle des fortes teneurs en TNC dans les organes aériens (6 fois supérieures à celles du traitement 30/20°C, Chapitre 3 Tables 3 & 4) permettant ainsi l'alimentation carbonée des jeunes inflorescences. En effet, la *véraison* induit une augmentation de l'avortement et une baisse des taux de TNC à 30/20°C alors que les taux de TNC restent élevés en l'absence d'avortement à 22/12°C. Ainsi à 30/20°C la véraison induirait une importante réduction du taux de TNC (en pourcentage), alors qu'à 22/12°C cette réduction serait plus faible du fait des quantités importantes de carbone disponible. Ceci est en accord avec les observations réalisées en 2013 et décrites ci-dessous, qui suggèrent que l'avortement d'inflorescence est sensible au changement de concentration en TNC et non pas à leur concentration absolue. En conclusion, les avortements tardifs d'inflorescences observés en 2011 seraient liés au changement brutal de la teneur en TNC induit par l'apparition, bien que retardée, de la *véraison*.

Les BC aériens (BC_a) n'étaient que modérément impactés par les traitements thermiques en 2011 et 2013, alors que des différences majeures ont pu être observées entre les années. Les BC_a étaient en effet supérieurs en 2011 comparé à 2013, dû à des développements aériens (et probablement également racinaires) supérieurs en 2011. Le faible impact des températures élevées sur le BC_a résulte de l'acclimatation de l'activité photosynthétique aux températures élevées, qui permet de compenser les augmentations de la respiration et du gain de biomasse des organes végétatifs aériens. Les analyses des différentiels entre les BC et l'accumulation de sucres TNC ont permis d'estimer indirectement la part de carbone utilisé par le compartiment racinaire. Celle-ci était supérieure en 2011, et ce particulièrement à 30/20°C, comparé aux 3 traitements thermiques en 2013. Ceci suggère que les fortes vigueurs aériennes étaient associées à des vigueurs du système racinaire également supérieures. Malgré des quantités de carbone utilisé par le système racinaire similaires en 2013, la part allouée à la biomasse des racines semble diminuer drastiquement lorsque la température augmente au bénéfice de la respiration racinaire. Ainsi, nos résultats suggèrent que ce n'est pas directement le bilan de carbone au niveau plante entière qui contrôlerait l'avortement des inflorescences dans nos conditions expérimentale, en relation avec les températures mais plutôt ses composantes, en particulier celles qui se manifestent au travers du niveau de TNC ainsi que du niveau global de réserves.

Les BC sur toute la durée des traitements thermiques variaient en 2011. Les différences étaient liées aux différences de durées des traitements (en jour) cette année-là : 30 jours à 30/20°C contre presque 60 jours à 22/12°C. Ainsi, les plantes de l'expérimentation 22/12°C ont reçu 2 fois plus d'éclairement cumulé au cours de l'expérimentation. Cette importante différence laisse envisager la possibilité de réévaluer l'analyse réalisée sur ces deux expérimentation au cours du chapitre 1 non pas en considérant du temps thermique mais un coefficient photo-thermique.

2013, un avortement précoce lié aux faibles réserves des plantes et contrebalancé par des températures froides

Les résultats obtenus à partir l'analyse des expérimentations de 2013, et permettant d'expliquer les profils d'avortement d'inflorescences précoces sont présentés dans la figure 2.

Comme expliqué précédemment, les plantes utilisées pour les expérimentations de 2013 présentaient des niveaux de réserves inférieures à celles des plantes de 2011. Ces faibles réserves sont à l'origine des avortements d'inflorescences, observés en amont des expérimentations thermiques. Malgré des avortements liés probablement au faible niveau de réserves initiales des plantes, des différences d'avortement en réponse à la température ont pu être observés entre les 3 traitements thermiques réalisés en 2013 (25/15°C, 30/15°C et 30/25°C). L'avortement s'est poursuivi lors de l'application des traitements chauds (30/15°C et 30/25°C). L'observation des profils spatiaux a toutefois permis d'identifier une période de récupération sans avortement dans la partie distale de l'axe proleptique. L'avortement le long de l'axe proleptique a au contraire cessé dès l'initialisation du traitement frais (25/15°C).

Comme observé en 2011, un retard du développement des organes reproducteurs a été observé en réponse aux températures élevées en 2013 avec cette fois un retard de la floraison de 60 °C j à 30/15°C à 80°C j à 30/25°C. Cet effet des températures élevées sur le retard de développement reproducteur précoce pourrait être également une stratégie d'évitement de la carence en carbone. Le retard de floraison, permettrait ainsi de retarder la forte demande en carbone liée à la croissance des baies en biomasse ainsi qu'à leur accumulation en TNC lors de la phase post-véraison

La comparaison des contenus et des concentrations en TNC des organes aériens à la fin des expérimentations de 2013 n'a pas montré de différences entre les traitements thermiques. Mais, ces mesures ont été réalisées uniquement au terme de l'expérimentation, *i.e.* en période de récupération sans avortement. En l'absence de mesures des taux de TNC pendant les périodes d'avortement précoces, seules des conjectures basées sur les observations de 2011, peuvent être établies pour expliquer l'alternance de la zone d'avortement précoce et de la zone de récupération. Ainsi, à l'inverse de 2011, ce serait en 2013 le changement d'un taux de TNC faible à un taux supérieur qui pourrait expliquer les phénotypes observés. Ainsi, malgré les réserves initiales faibles, le retard du développement reproducteurs et l'augmentation de l'acquisition de carbone (*via* une surface foliaire en augmentation au cours des expérimentations) ont favorisé le gain de TNC au cours des traitements thermiques. Cette augmentation des teneurs en TNC serait à l'origine du phénomène de récupération, d'autant plus précoce en conditions de températures favorable à 25/15°C. La différence de vitesse de récupération pourrait être expliquée ici non pas par des différences de BC_a mais par des taux plus faibles de carbone alloués à la respiration racinaire à 25/15°C qu'à 30/25°C (Table 3.4).

Comme évoqué précédemment, ce serait donc non pas les concentrations en TNC qui seraient à l'origine des phénomènes d'avortement d'inflorescence mais les changements brutaux des rapports entre offre et demande. Cette hypothèse est soutenue par l'absence d'avortement d'inflorescence à Tf en 2013 (période de récupération) à 30/20°C ou 30/25°C, alors qu'à ce moment-là les concentrations en TNC étaient plus faibles que celles mesurées en 2011 à 30/20°C pendant la période d'avortement tardif. Cette hypothèse semble être en accord avec les observations réalisées sur *Arabidopsis thaliana* et qui montrent que les gènes de réponse à la 'faim en carbone' réagissent aussi bien à de faibles variations qu'à d'importants changements de concentrations en TNC (Stitt et al. 2007; Osuna et al. 2007; Usadel et al. 2008).

Les deux contextes d'avortement, tardifs et précoces observés dans nos expérimentations, et surtout la mise en évidence de périodes de récupération révèlent l'existence d'avortements par vague au cours du développement de l'axe proleptique de la *Microvigne*. Cette idée de vagues d'avortement le long des plantes est en accord avec les observations réalisées en serre au cours des 4 années d'observation de la *Microvigne* lors de la préparation des expérimentations réalisées et analysées ici. Ces avortements 'par vague' font penser aux alternances d'années à fruit chez les fruitiers (Monselise and Goldschmidt 1982; Guitton et al. 2012). En effet, chez ceux-ci, des alternances d'années à fort et à faible rendement sont couramment observées, et il est classiquement rapporté que les années à fort rendements présentent des taux élevés de réserves en TNC, contrairement aux années à faible rendement (Goldschmidt and Golomb 1982; Stutte and Martin 1986; Wilkie et al. 2008). Ces vagues d'avortement ressemblent également aux vagues de fertilité observées sur les hampes florales d'*Arabidopsis thaliana* en réponse à des carences en carbone déclenchées par une prolongation de 24h de la phase obscure au cours de son développement (Smith and Stitt 2007).

II. La *Microvigne* était-elle un modèle adapté à cette analyse ?

L'adéquation de la *Microvigne* pour l'étude des réponses de la vigne à la température est partiellement abordée dans le chapitre 1. Nous reprenons cette discussion ici à la lumière des résultats présentés précédemment.

De par sa mutation, la *Microvigne* présente de nombreuses limites, tant pour sa culture que pour son utilisation pour l'analyse de ses réponses à la température. La mutation du gène *Vvgail*, altère les protéines DELLA, qui deviennent alors insensibles aux Gibbérellines et ne sont plus dégradées sous leur effet. Celles-ci répriment alors de manière constitutive l'expression des gènes de réponse aux Gibbérellines.

La mutation du gène *Vvgail* est à l'origine d'un phénotype de fructification continu. Ce phénotype est un des avantages majeurs de la *Microvigne*. Cependant ce gène de la voie de signalisation des gibbérellines est impliqué dans de nombreux autres processus. Parmi ceux-là, les voies de

signalisation la résistance aux stress biotiques. En effet, les gibbérellines sont connues pour interagir avec le jasmonate et l'acide salicylique au cours des attaques de pathogènes biotrophes et nécrotrophes (Bari and Jones 2009; Robert-Seilanianantz et al. 2011). Ainsi l'insensibilité de la *Microvigne* aux gibbérellines pourrait la rendre plus sensible aux maladies que la vigne conventionnelle, en particulier l'oïdium. De plus le phénotype nain de la *Microvigne* créé de par l'entassement des feuilles et des organes reproducteurs, un microclimat favorable au développement de maladies comme l'oïdium. Cette sensibilité rend obligatoire l'application de procédures strictes de veille sanitaire, de traitements préventifs et curatifs réguliers. Les propriétés décrites dans la partie précédente quant à l'existence de vagues d'avortement liées à des changements de taux de TNC font également partie des limites de la *Microvigne*. En effet, l'avortement d'inflorescence est ainsi un comportement régulièrement observé, qui peut être accru par des modifications même de courte durée des conditions de culture (panne des systèmes de régulation de la serre, attaque de pathogène). Ceci rend difficile l'obtention de profils de développement reproducteurs complets le long de l'axe. Cette difficulté est particulièrement illustrée par les expérimentations de 2013 dont les profils de développement reproducteurs à T0 ont été fortement impactés par les avortements subis dans la serre pendant la période d'acclimatation.

La mutation et les propriétés émergentes de la *Microvigne* compliquent sa culture, mais également les interprétations des expérimentations. En effet, la *Microvigne* présente un phénotype d'insensibilité aux gibbérellines, or celles-ci sont impliquées dans certaines réponses des plantes aux températures élevées. Ainsi, les gibbérellines sont impliquées dans le thermopériodisme, *i.e.* la capacité des plantes à ressentir les différences de températures entre le jour et la nuit (Penfield 2008). Elles interviennent dans la régulation par la photopériode de la croissance de la tige et de la floraison chez *Arabidopsis thaliana* (Arana et al. 2011). Ces phytohormones ont également un rôle dans les réponses des plantes à la lumière (Yamaguchi 2008), incluant par la germination (Fleet and Sun 2005), l'étiollement et l'évitement de l'ombre (Shade avoidance syndrom, SAS) (Franklin 2008, 2009; Alabadí and Blázquez 2008). De plus, chez *Arabidopsis thaliana* l'implication des gibbérellines et particulièrement des protéines DELLA a été démontré dans la réponse aux stress biotiques tels que le stress hydrique et le stress thermique (chaud et froid) (Kang et al. 2011). Malgré l'existence de nombreux isogènes chez la vigne, il paraît difficile d'envisager qu'aucun des mécanismes impliqués dans la réponse du rendement à la température chez la vigne conventionnelle ne soit impacté par la mutation du gène *Vvgai* chez la *Microvigne*. En effet, bien que le développement du fruit ne paraisse pas modifié par la mutation dans son phénotype et ses réponses aux contraintes thermiques (Rienth et al. 2014a, b), ce n'est peut-être pas le cas du développement végétatif.

En outre, il a été décrit chez le blé, que la mutation du gène *Rht* codant pour une protéine DELLA en induisant une insensibilité aux Gibbérellines (Wu et al. 2011), induit un phénotype qui est dépendant de la température (Pinthus and Abraham 1996). En effet, le phénotype semi-nain des blés portant l'allèle *Rht* est modifié en réponse à la température ; la longueur des tiges est réduite en réponse à

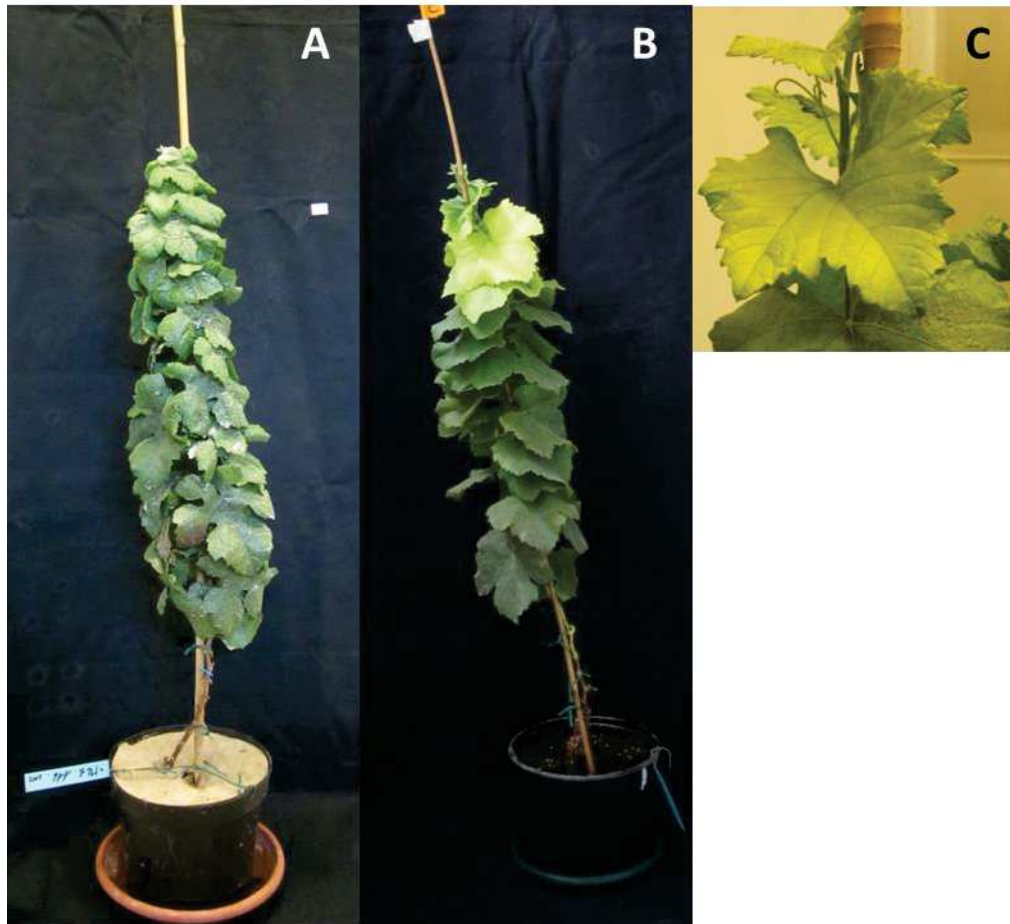


Figure 3 : Photographie d'une *Microvigne* cultivée en conditions optimale (A) et d'une *Microvigne* présentant un stress oxydatif lié à l'interaction lumière x température (B) ; les symptômes du stress oxydatif sont majoritairement observés sur les feuilles les plus jeunes au niveau de l'apex (C).

l'élévation des températures (Pereira et al. 2002). De fait, la possibilité de l'existence d'un tel mécanisme de régulation du gène *VvGAI*, et donc de l'allèle muté *Vvgai* est envisageable. Cette possibilité semble confirmée par les phénotypes observés en réponse à la température. En effet, des phénotypes de SAS, avec des entre-nœuds et des feuilles plus grandes ont été observés en réponse à la température. Or, le SAS est lui-même sous le contrôle des gibbérellines et ne devrait pas être visible en cas d'insensibilité à la température. De plus, l'augmentation des tailles d'entre-nœuds et de feuilles pourraient directement être liées à une levée de l'insensibilité aux gibbérellines et ainsi une dilution de du phénotype semi-nain. Ceci est également cohérent avec l'apparition de thermopériodisme, c'est dire de réponses différentielles aux températures de nuit et de jour, et plus particulièrement de la durée d'expansion des feuilles qui est augmentée en réponse à l'élévation des températures diurnes uniquement. Enfin, des phénotypes liés à l'interaction lumière x températures ont été observés chez la *Microvigne*. En effet, il a été observé que des températures au-delà de 33°C déclenchent l'apparition de stress oxydatifs chez les feuilles les plus jeunes, et que ces blanchiments de feuilles peuvent être revertés par un ombrage des feuilles ou une baisse des températures (données non publiées, expérimentations exclues des analyses ; Fig. 3). Les gibbérellines étant fortement impliquées dans les réponses à la lumière il paraît fortement probable que l'insensibilité aux gibbérellines puisse être au moins partiellement levée en réponse à la température, d'où les phénotypes observés.

Malgré ces limites dans l'interprétation des phénotypes observés au niveau des organes végétatifs en réponse à la température, la *Microvigne* présente d'importants avantages pour son utilisation dans des programmes d'écophysiologie de la vigne. En effet, de par son phénotype semi-nain, la *Microvigne* favorise l'étude de la vigne en condition contrôlées avec des densités de plantes supérieures à celle de la vigne conventionnelle. De plus son phénotype de fructification continue, permet de raccourcir les expérimentations. En effet, elle permet de d'impacter en même temps plusieurs stades phénologiques qui sont généralement espacés de plusieurs mois chez la vigne conventionnelle. Cette propriété permet en quelque sorte une analyse à haut débit (forte densité, courte durée). Cette propriété est d'autant plus intéressante pour l'étude la physiologie de la baie que la baie de *Microvigne* présente un phénotype non altéré de par l'expression dans celle-ci d'isogènes non mutés de *VvGAI* (L.Torregrosa, com. pers.). En effet, l'étude du transcriptome de la baie de *Microvigne* a montré de nombreuses similarités avec celui des baies de vigne conventionnelle (Rienth et al. 2014a; Rienth et al. 2014b).

De plus, il a été établi dans le Chapitre 1, que le développement végétatif et reproducteur le long de l'axe principal de la *Microvigne* était stable, et similaires à ceux observés chez la vigne conventionnelle. De surcroît, la possibilité d'analyser le gradient spatial de développement en tant que gradient temporel est un avantage considérable pour l'allègement des protocoles coûteux en temps tels que les suivis de croissance de baies.

La *Microvigne* présente également plusieurs avantages pour l'obtention de nouveau matériel génétique, par transformation ou par croisement (Chaïb et al. 2010; Chatbanyong et al. 2014). De plus, l'absence de phase juvénile permet une évaluation des phénotypes des organes reproducteurs dès le premier cycle de la plante. Par ailleurs, la correspondance spatio-temporelle du programme de développement reproducteur conduit à une précision du suivi phénotypique du développement de la baie résultant inégalée (Rienth et al. 2014a; Rienth et al. 2014b). Ces propriétés de facilité et de précision du phénotypage végétatif et reproducteur ont d'ores et déjà utilisées pour caractériser des populations de *Microvignes* et identifier des QTLs de développement chez la vigne (Chatbanyong et al. 2014; Houel et al. 2015). En effet, la *Microvigne* a été utilisée par Houel et al. (2015) pour détecter 14 QTLs stable reliées au développement et à la qualité de la baie ainsi qu'à la détermination de la surface individuelle des feuilles.

Enfin, un des principaux avantages à l'utilisation de la *Microvigne* dans l'étude de l'écophysiologie de la vigne est sont importante plasticité en terme de ratio feuille : fruit. En effet, le ratio feuille : fruit et les relations sources : puits sont des sujets fortement étudiés chez la vigne entre autre de par leur importance dans l'élaboration du rendement et de la qualité (Poni et al. 2008; Palliotti et al. 2012). L'étude dynamique de l'interaction entre les programmes de développements végétatifs et reproducteurs est compliquée chez les plantes pérennes fruitières du fait du fonctionnement séquentiel de l'organogenèse reproductrice. C'est le cas chez la vigne qui déroule un programme d'induction et de différenciation du système reproducteur sur les axes proleptiques sur 2 cycles végétatifs (Carmona et al. 2007) avec des effets interannuels importants (Candolfi-Vasconcelos and Koblet 1990; Koblet et al. 1994; Guilpart et al. 2014). Par ailleurs, chez *V. vinifera*, le programme développement reproducteur de la vigne conduit au développement de quelques grappes à la base des axes proleptiques dont le développement au cours de la saison se confronte à des fluctuations importantes de l'équilibre carbonée. En particulier, 2 phases de déséquilibre critiques sont à considérer : i) la floraison qui se positionne au moment du basculement vers l'autotrophie carbonée de la plante (Lebon et al. 2008) et ii) le début de la maturation qui intervient après l'arrêt de croissance végétative (Matthews et al. 1987).

Dans notre travail nous avons montré que la maîtrise du modèle *Microvigne* est délicate et qu'il n'est pas exempt de limitations mais, la présence de tous les stades de développement reproducteur le long de l'axe de manière simultanée permettent de tester des ratios feuille : fruit différents, en offrant la possibilité de créer des conditions qui ne sont ni observables, ni possible à manipuler sur de la vigne conventionnelle (e.g. une forte surface foliaire lors des stades reproducteurs jeunes).

ⁱ Le terme avortement est utilisé ici de manière sans doute abusive dans la mesure où nous n'avons pas pu vérifier qu'il y avait eu fécondation avant chute des inflorescences. C'est néanmoins le terme que nous avons retenu car le phénomène concerne la chute précoce d'organes reproducteurs.

Conclusion et perspectives

Ce travail de thèse a utilisé pour la première fois la *Microvigne* pour décrire les réponses du développement de la vigne, et plus particulièrement les réponses du développement reproducteur précoce à l'élévation des températures ainsi que l'implication du bilan de carbone dans ces réponses. Nous avons développé des outils d'analyse prenant en compte les spécificités de la *Microvigne* pour l'utiliser en tant que modèle pour l'étude de l'écophysiologie de la vigne (Chapitre 1). Ce cadre d'analyse a permis d'analyser les réponses des développements végétatifs et reproducteurs précoces à l'élévation des températures diurnes et nocturnes (Chapitre 2). Cette analyse a mis en évidence l'existence de plusieurs types de phénomènes d'avortement d'inflorescence en réponse à la température. La réponse du bilan de carbone de la *Microvigne* à la température a ensuite été analysé (Chapitre 3) par une méta-analyse de nombreuses données d'échanges gazeux à l'échelle de la feuille, de l'inflorescence et de la plante entière. Celle-ci a permis de construire des modèles de réponses des échanges gazeux à la température, qui ont été intégrés dans un modèle de réponse du bilan de carbone à la température. L'analyse a posteriori des expérimentations thermiques réalisées et analysées dans le cadre de la thèse a mis en évidence un impact des températures sur les termes du bilan de carbone. Enfin, les variations observées des composantes du bilan de carbone ont été reliés aux phénomènes d'avortement d'inflorescences observées précédemment (Discussion générale). Ceci a permis de mettre en évidence une implication des taux de TNC et de l'état des réserves dans l'abscission des inflorescences observées chez la *Microvigne*, particulièrement en réponse à la température.

Les modèles d'échanges gazeux développés dans cette thèse nécessitent encore travaux complémentaires et ajustements pouvant encore améliorer leur capacité à estimer les échanges gazeux d'une plante entière. Pour ce faire, 2 implémentations sont prévues et avaient été envisagées lors de la construction des modèles. Dans un premier temps, l'ajout d'un modèle d'estimation du rayonnement en fonction de la taille de la plante et du rang de PI considéré devrait permettre de ne plus surestimer la photosynthèse de par un rayonnement considéré constant le long de la plante pour le moment. Les modèles d'échanges gazeux ayant été réalisés en utilisant des données issues de mesures obtenues sous PAR variables, l'implémentation d'un modèle de rayonnement PI-dépendant ne devrait pas nécessiter de modification de ceux-ci. Dans un second temps, l'amélioration de l'estimation de la respiration des entrenœuds à l'échelle plante entière pourrait être amélioré. En effet, il s'agit pour le moment d'une constante estimée à partir du biais existant entre les respirations nocturnes mesurées à l'échelle plante entière et celles estimés à partir de nos modèles. Celle-ci devrait a minima être estimée en tenant compte du volume total d'entrenœuds et de la température de l'air. De plus, la meilleure estimation de la photosynthèse permise par l'implémentation d'un modèle de rayonnement, devrait également nous permettre d'accéder à respiration diurne des entrenœuds. Enfin, on pourrait envisager d'accéder à la respiration individuelle des entrenœuds à partir de mesures réalisées grâce à une pince mise au point

spécialement pour la mesure des échanges gazeux de rameaux, afin de faire entrer un terme de niveau de lignification dans la respiration des entrenœuds.

Ces améliorations devraient permettre d'augmenter l'efficacité du modèle de réponse du bilan de carbone à la température. En effet, dans le modèle actuel pour l'estimation du gain de biomasse, seule la réponse à la température du phyllochrone est prise compte. Le gain de biomasse étant estimé à partir de la biomasse d'un phytomère. La mise en place de gain de biomasse spatialisée devrait pouvoir permettre de prendre en compte l'effet de la température sur la taille et la biomasse des organes. De fait, le décalage de phénologie du développement reproducteur ainsi que l'avortement d'inflorescence pourrait également être pris en compte. Enfin, la prise en compte de la forte demande en carbohydrate des baies après véraison pourrait être ajoutée à ce modèle. Pour le moment, ce modèle ne considère que le développement reproducteur précoce avant l'accumulation du sucre dans les baies.

Malgré les améliorations possibles du modèle de bilan de carbone mis au point dans cette thèse, celui-ci pourrait d'ores et déjà être utilisé pour dans un premier temps, tenter de simuler les conditions des 5 expérimentations analysées précisément dans le chapitre 2, afin d'essayer de visualiser les changements de taux de TNC qui sont à l'origine des phénomènes d'avortement en 2011 et de récupération en 2013.

Finalement, la *Microvigne* a été utilisée pour étudier les mécanismes de réponse de la vigne à la température. Bien que nous ayons été confronté à certaines difficultés expérimentales (maladies, avortement), nous savons à présent comment contourner celle-ci de grâce à des protocoles stricts de veille sanitaire, et surtout une meilleure gestion de la période d'acclimatation des plantes afin d'obtenir des développements reproducteurs optimaux au début des expérimentations. Pour éviter les dérives dues aux variations préalables du bilan carboné, nous proposons un égrappage systématique des plantes pendant l'année de culture initiale afin d'obtenir des réserves maximales (et constantes) au démarrage des expérimentations afin d'éviter de trop grandes vagues d'avortements d'inflorescences en début des expérimentations comme observés en 2013. Il paraît évident au vu de notre nouvelle capacité à cultiver la *Microvigne* en condition optimales, que celle-ci pourrait être utilisée pour l'étude d'autres contraintes environnementales, voire de stress combinés. Ceci devrait nous permettre d'aborder des problématiques d'interaction entre le développement végétatif et reproducteur en réponse aux contraintes abiotiques complexes (stress hydrique x contrainte thermique par exemple). Ces études pourraient permettre de mettre en évidence des caractères d'intérêt pour la sélection de variétés adaptées aux contraintes abiotiques.

Nous avons par ailleurs utilisé les outils de caractérisation écophysiologique de la *Microvigne*, pour le phénotypage de plusieurs populations génétiques de *Microvignes* développées dans le cadre du programme DURAVITIS. Ces travaux ont permis d'identifier des QTLs de développement dont certains présentent une stabilité en situation d'environnement fluctuant (Houel et al, BMC Plant Biology en révision). La poursuite de l'étude de certaines lignées porteuses de QTLs d'intérêts et/ou

de phénotypes marqués pourrait permettre de tester des hypothèses sur l'adaptation de la vigne à l'élévation de la température et/ou d'identifier des gènes candidats, régulateurs de ces réponses.

Alabadí D, Blázquez MA. 2008. Molecular interactions between light and hormone signaling to control plant growth. *Plant Molecular Biology* **69**: 409–417.

Arana MV, Marín-de la Rosa N, Maloof JN, Blázquez MA, Alabadí D. 2011. Circadian oscillation of gibberellin signaling in Arabidopsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **108**: 9292.

Bari R, Jones JDG. 2009. Role of plant hormones in plant defence responses. *Plant Molecular Biology* **69**: 473–488.

Candolfivasconcelos M, Koblet W. 1990. Yield, Fruit-Quality, Bud Fertility and Starch Reserves of the Wood as a Function of Leaf Removal in Vitis-Vinifera - Evidence of Compensation and Stress Recovering. *Vitis* **29**: 199–221.

Carmona MJ, Cubas P, Calonje M, Martinez-Zapater JM. 2007. Flowering transition in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne De Botanique* **85**: 701–711.

Chaïb J, Torregrosa L, Mackenzie D, Corena P, Bouquet A, Thomas MR. 2010. The grape microvine - a model system for rapid forward and reverse genetics of grapevines. *The Plant journal: for cell and molecular biology* **62**: 1083–1092.

Chatbanyong R, Houel C, Rienth M, Doligez A, Luchaire N, Adiveze A, Roux C, Miralles V, Lopez G, Farnos M, François P, Gil I, Alcantara Novelli Dias F, Pellegrino A, This P, Romieu C, Torregrosa L. 2014. QTLs for Grapevine Adaptation to Elevated Temperature. Beijing, China, .

Fleet CM, Sun T. 2005. A DELLAcate balance: the role of gibberellin in plant morphogenesis. *Current Opinion in Plant Biology* **8**: 77–85.

Franklin KA. 2008. Shade avoidance. *New Phytologist* **179**: 930–944.

Franklin KA. 2009. Light and temperature signal crosstalk in plant development. *Current Opinion in Plant Biology* **12**: 63–68.

Goldschmidt EE, Golomb A. 1982. the carbohydrate balance of alternate-bearing citrus tree and the significance of reserves for flowering and fruiting. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **107**: 206–208.

Guilpart N, Metay A, Gary C. 2014. Grapevine bud fertility and number of berries per bunch are determined by water and nitrogen stress around flowering in the previous year. *European Journal of Agronomy* **54**: 9–20.

Guitton B, Kelner J-J, Velasco R, Gardiner SE, Chagne D, Costes E. 2012. Genetic control of biennial bearing in apple. *Journal of Experimental Botany* **63**: 131–149.

Houel C, Chatbanyong R, Doligez A, Rienth M, Foria S, Luchaire N, Roux C, Adiveze A, Lopez G, Farnos M, Pellegrino A, This P, Romieu C, Torregrosa L. 2015. Identification of stable QTLs for vegetative and reproductive traits in the microvine (*Vitis vinifera* L.) using the 18K Infinium chip. *BMC plant biology* **accepted**.

Jeong E-Y, Seo PJ, Woo JC, Park C-M. 2015. AKIN10 delays flowering by inactivating IDD8 transcription factor through protein phosphorylation in Arabidopsis. *BMC Plant Biology* **15**.

- Kang HG, Kim J, Kim B, Jeong H, Choi SH, Kim EK, Lee HY, Lim PO. 2011.** Overexpression of FTL1/DDF1, an AP2 transcription factor, enhances tolerance to cold, drought, and heat stresses in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Science*.
- Koblet W, Candolfivasconcelos M, Zweifel W, Howell G. 1994.** Influence of Leaf Removal, Rootstock, and Training System on Yield and Fruit Composition of Pinot-Noir Grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture* **45**: 181–187.
- Lebon G, Wojnarowicz G, Holzapfel B, Fontaine F, Vaillant-Gaveau N, Clement C. 2008.** Sugars and flowering in the grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Journal of Experimental Botany* **59**: 2565–2578.
- Matsoukas IG, Massiah AJ, Thomas B. 2012.** Florigenic and Antiflorigenic Signaling in Plants. *Plant and Cell Physiology* **53**: 1827–1842.
- Matthews MA, Anderson MM, Schultz HR. 1987.** Phenologic and growth responses to early and late season water deficits in cabernet franc. *Vitis* **26**: 147–160.
- Monselesse S, Goldschmidt E. 1982.** Alternate bearing in fruit trees 1. *Horticultural reviews* **4**: 128–173.
- Osuna D, Usadel B, Morcuende R, Gibon Y, Bläsing OE, Höhne M, Günter M, Kamlage B, Trethewey R, Scheible W-R, Stitt M. 2007.** Temporal responses of transcripts, enzyme activities and metabolites after adding sucrose to carbon-deprived *Arabidopsis* seedlings: Dynamics of transcriptional and metabolic responses to sucrose. *The Plant Journal* **49**: 463–491.
- Pallioti A, Gardi T, Berrios JG, Civardi S, Poni S. 2012.** Early source limitation as a tool for yield control and wine quality improvement in a high-yielding red *Vitis vinifera* L. cultivar. *Scientia Horticulturae* **145**: 10–16.
- Penfield S. 2008.** Temperature perception and signal transduction in plants. *New Phytologist* **179**: 615–628.
- Pereira MJ, Pfahler PL, Barnett RD, Blount AR, Wofford DS, Littell RC. 2002.** Coleoptile length of dwarf wheat isolines. *Crop science* **42**: 1483–1487.
- Pinthus MJ, Abraham M. 1996.** Effects of light, temperature, gibberellin (GA3) and their interaction on coleoptile and leaf elongation of tall, semi-dwarf and dwarf wheat. *Plant growth regulation* **18**: 239–247.
- Poni S, Bernizzoni F, Civardi S. 2008.** The effect of early leaf removal on whole-canopy gas exchange and vine performance of *Vitis vinifera* L. 'Sangiovese'. *VITIS-GEILWEILERHOF* **47**: 1.
- Rienth M, Torregrosa L, Kelly MT, Luchaire N, Pellegrino A, Grimplet J, Romieu C. 2014.** Is transcriptomic regulation of berry development more important at night than during the day? *PLoS ONE* **9**: e88844.
- Rienth M, Torregrosa L, Luchaire N, Chatbanyong R, Lecourieux D, Kelly MT, Romieu C. 2014.** Day and night heat stress trigger different transcriptomic responses in green and ripening grapevine (*Vitis vinifera*) fruit. *Bmc Plant Biology* **14**.

- Robert-Seilanianantz A, Grant M, Jones JDG. 2011.** Hormone Crosstalk in Plant Disease and Defense: More Than Just JASMONATE-SALICYLATE Antagonism. *Annual Review of Phytopathology* **49**: 317–343.
- Rogiers SY, Smith JP, Holzapfel BP, Hardie WJ. 2011.** Soil temperature moderates grapevine carbohydrate reserves after bud break and conditions fruit set responses to photoassimilatory stress. *Functional Plant Biology* **38**: 899.
- Ruan Y-L. 2014.** Sucrose Metabolism: Gateway to Diverse Carbon Use and Sugar Signaling. *Annual Review of Plant Biology* **65**: 33–67.
- Smith AM, Stitt M. 2007.** Coordination of carbon supply and plant growth. *Plant, Cell & Environment* **30**: 1126–1149.
- Stitt M, Gibon Y, Lunn JE, Piques M. 2007.** Multilevel genomics analysis of carbon signalling during low carbon availability: coordinating the supply and utilisation of carbon in a fluctuating environment. *Functional Plant Biology* **34**: 526–549.
- Stutte G, Martin G. 1986.** Effect of light intensity and carbohydrate reserves on flowering in olive. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **111**: 27–31.
- Usadel B, Blasing OE, Gibon Y, Retzlaff K, Hohne M, Gunther M, Stitt M. 2008.** Global Transcript Levels Respond to Small Changes of the Carbon Status during Progressive Exhaustion of Carbohydrates in Arabidopsis Rosettes. *PLANT PHYSIOLOGY* **146**: 1834–1861.
- Webb LB, Whetton PH, Barlow EWR. 2007.** Modelled impact of future climate change on the phenology of winegrapes in Australia. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **13**: 165–175.
- Webb LB, Whetton PH, Bhend J, Darbyshire R, Briggs PR, Barlow EWR. 2012.** Earlier wine-grape ripening driven by climatic warming and drying and management practices. *Nature Climate Change* **2**: 259–264.
- Wilkie JD, Sedgley M, Olesen T. 2008.** Regulation of floral initiation in horticultural trees. *Journal of Experimental Botany* **59**: 3215–3228.
- Wu J, Kong X, Wan J, Liu X, Zhang X, Guo X, Zhou R, Zhao G, Jing R, Fu X, Jia J. 2011.** Dominant and Pleiotropic Effects of a GAI Gene in Wheat Results from a Lack of Interaction between DELLA and GID1. *Plant Physiology* **157**: 2120–2130.
- Yamaguchi S. 2008.** Gibberellin metabolism and its regulation. *Annu. Rev. Plant Biol.* **59**: 225–251.

Supplementary data of chapter 2

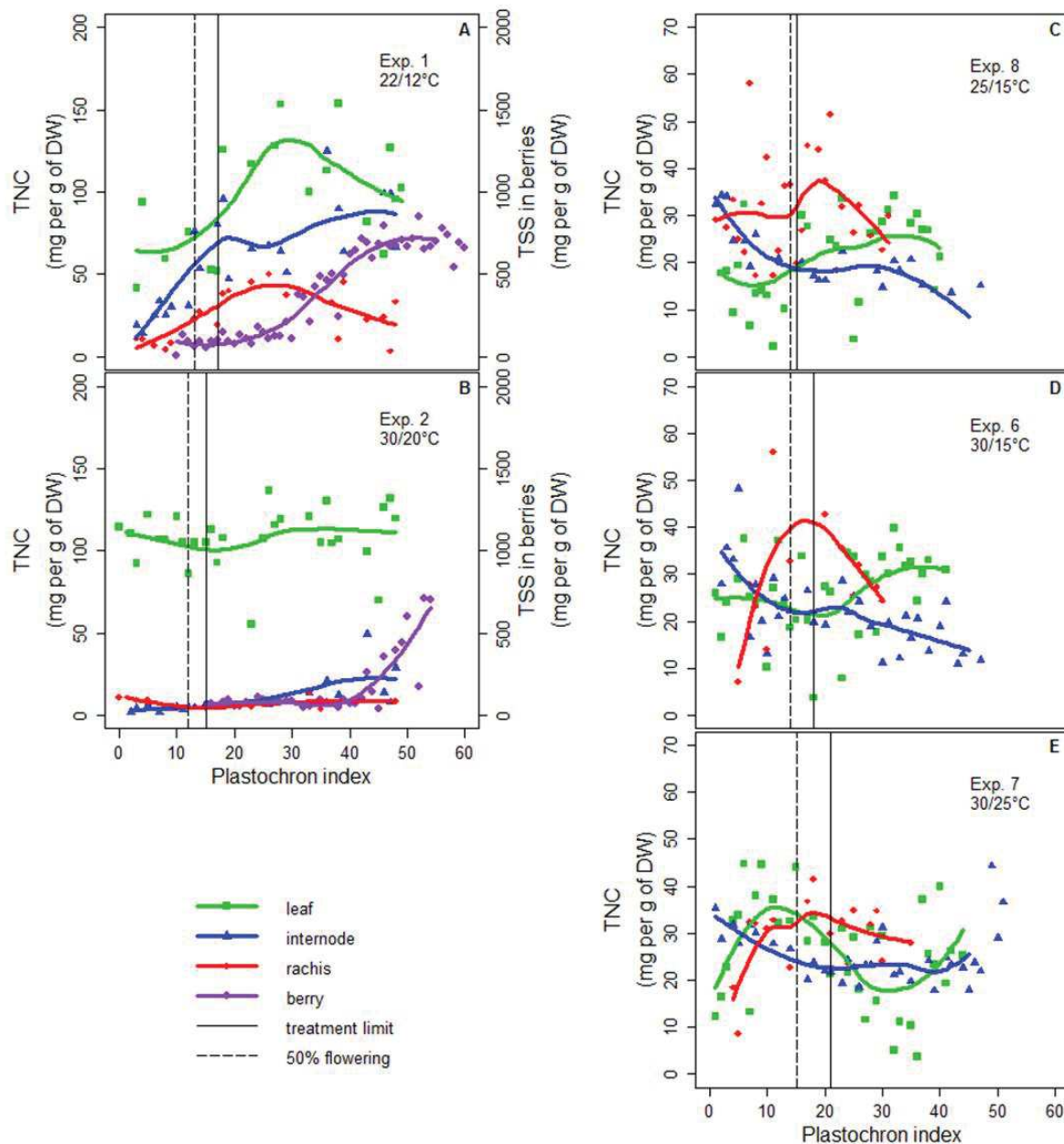


Figure 1. Organs total non-structural carbohydrates (TNC) spatial profiles in Exp. 1 (A), 2 (B), 8 (C), 6 (D) and 7 (E) expressed as a function of plastochron index. Leaf (green), internode (blue), rachis (red) and berries (purple) TNC concentration are represented by average values and loess smoothing. Each point is the average of at least 3 plants and of at least 3 clusters. Dotted vertical line represents flowering stage (50% of open flowers). Solid vertical line represents the limit between organ emitted during the treatment and the one that were already emitted before treatment.

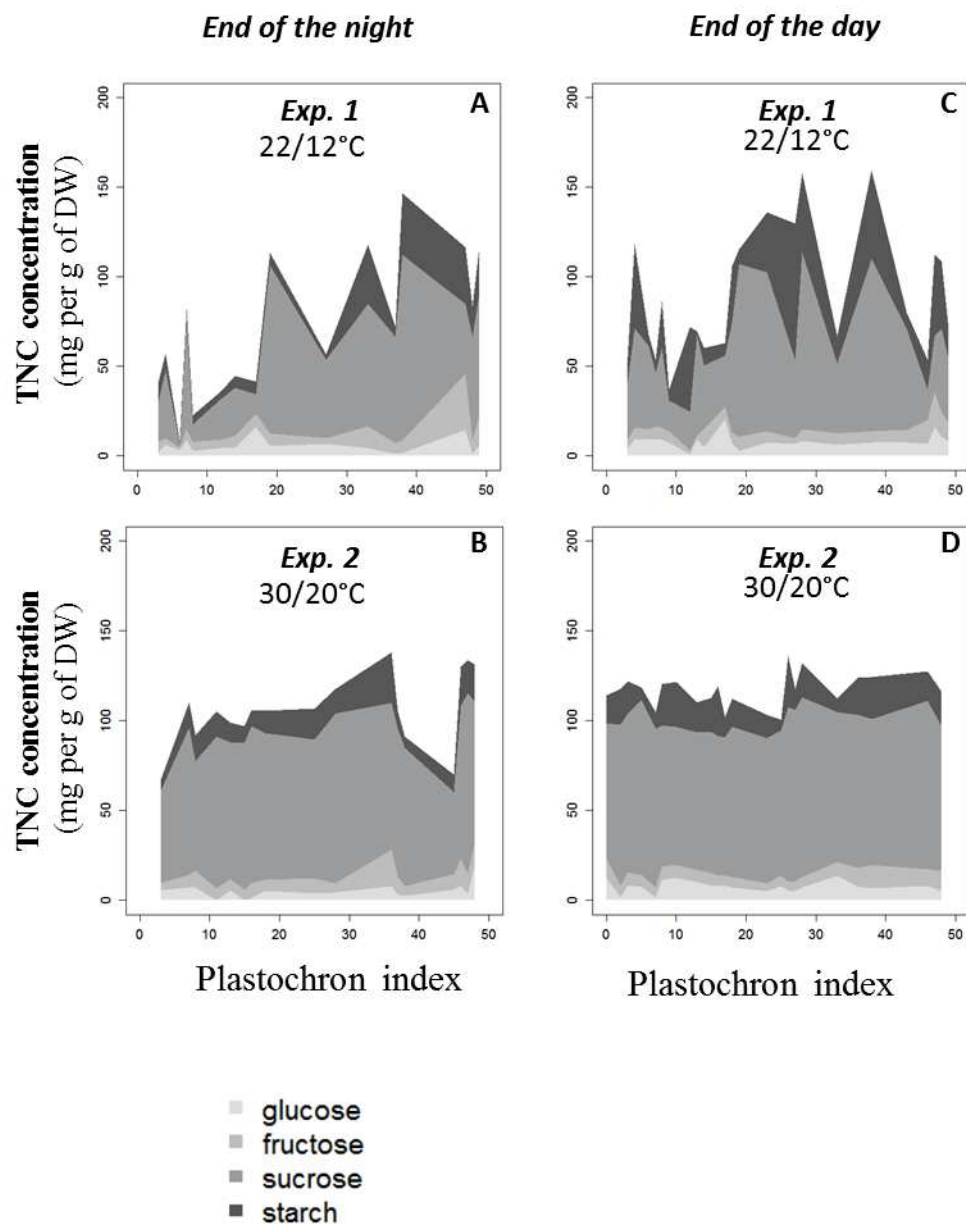


Figure 2. Total non-structural carbohydrates (TNC) concentrations in leaves in Exp. 1 (A, C) and 2 (B, D) expressed as a function of plastochron index. Concentrations were measured at the end of the night (A, B), end at the end of the day (C, D).

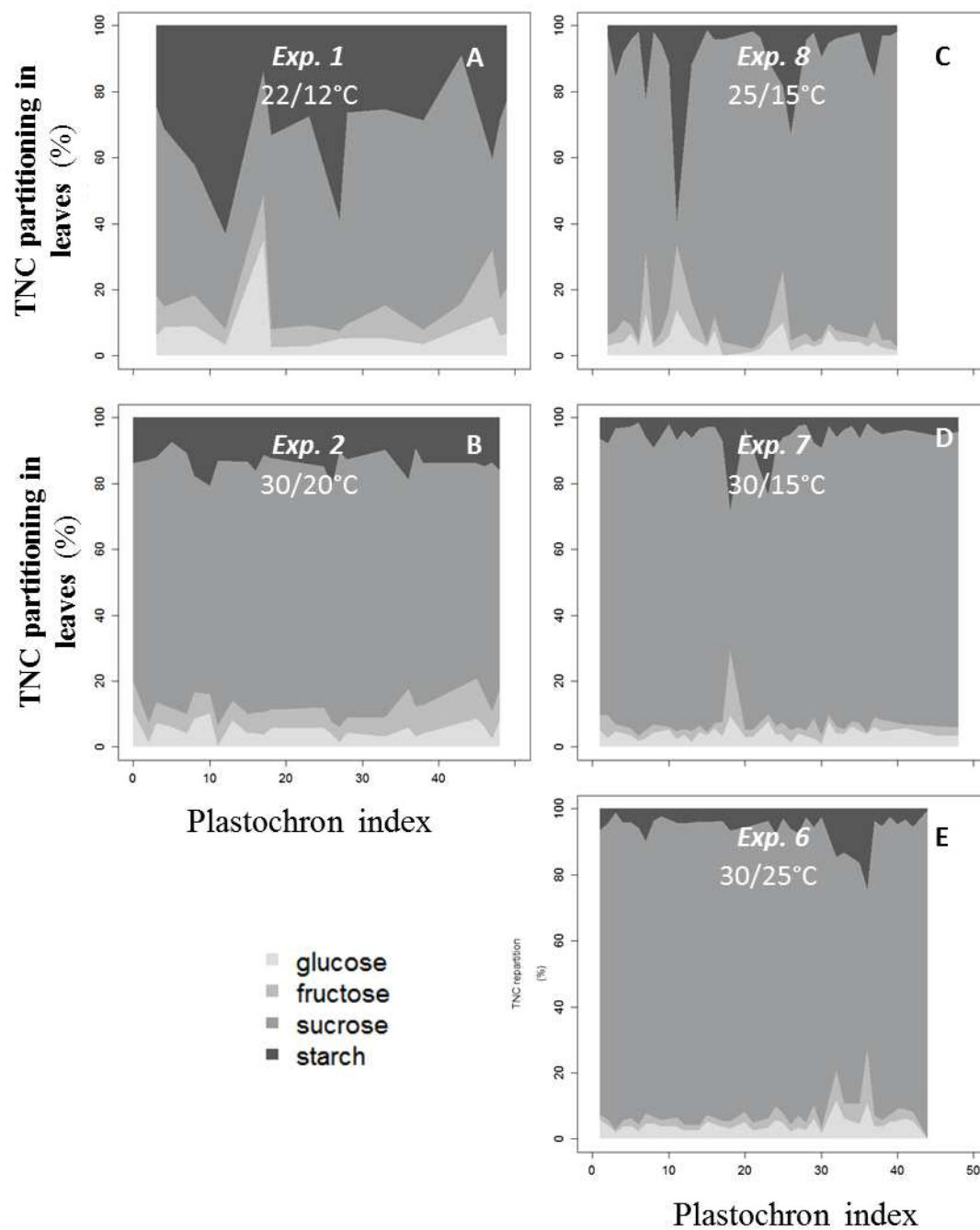


Figure 3. Total non-structural carbohydrates (TNC) partitioning in leaves in Exp. 1 (A), 2 (B), 8 (C), 6 (D) and 7 (E) expressed as a function of plastochron index. Percentage of glucose, fructose, sucrose and starch in leaves was calculated from the ratio of the considered carbohydrate concentration on the TNC concentration.

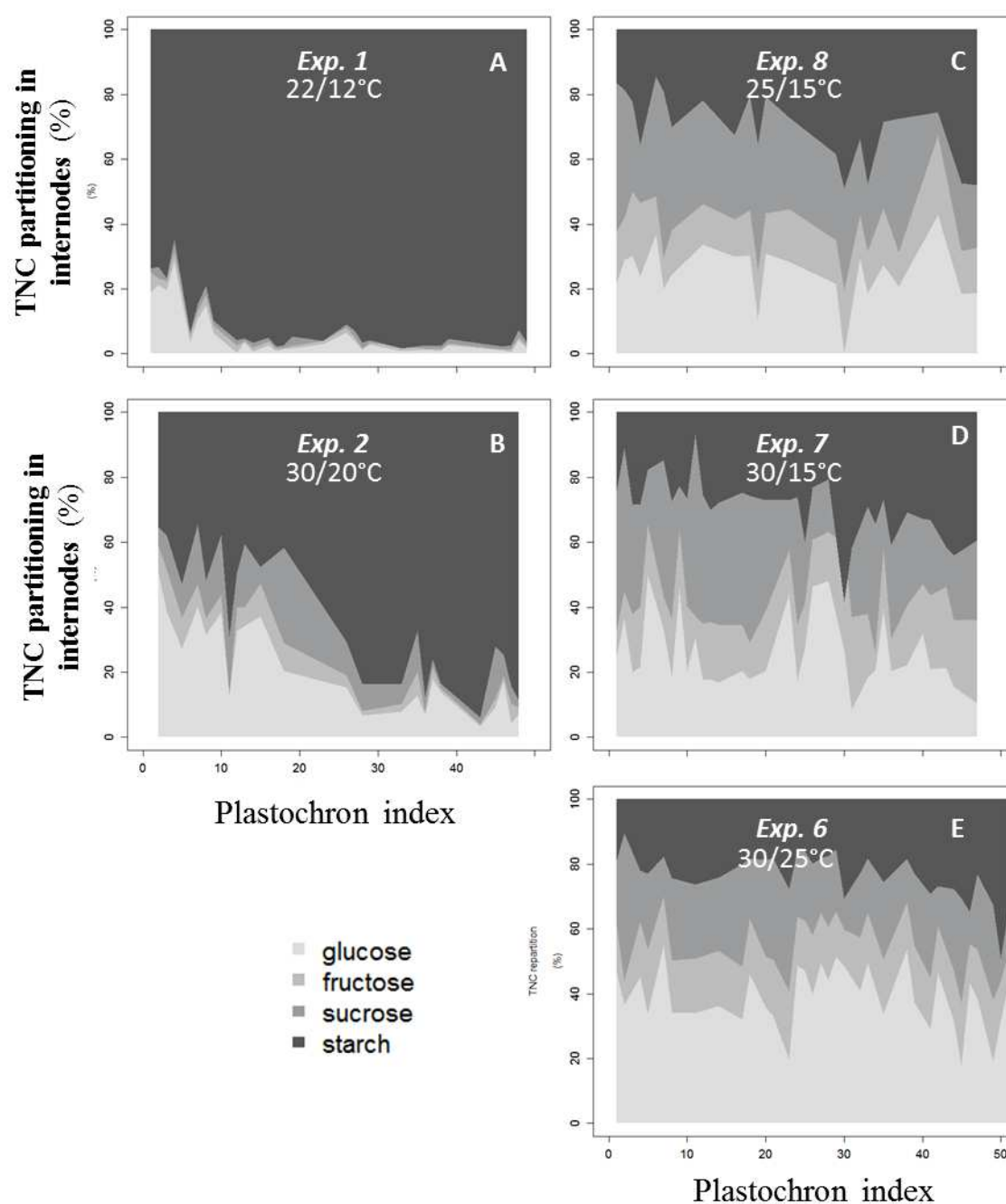


Figure 4. Total non-structural carbohydrates (TNC) partitioning in internodes in Exp. 1 (A), 2 (B), 8 (C), 6 (D) and 7 (E) expressed as a function of plastochron index. Percentage of glucose, fructose, sucrose and starch in internodes was calculated from the ratio of the considered carbohydrate concentration on the TNC concentration.

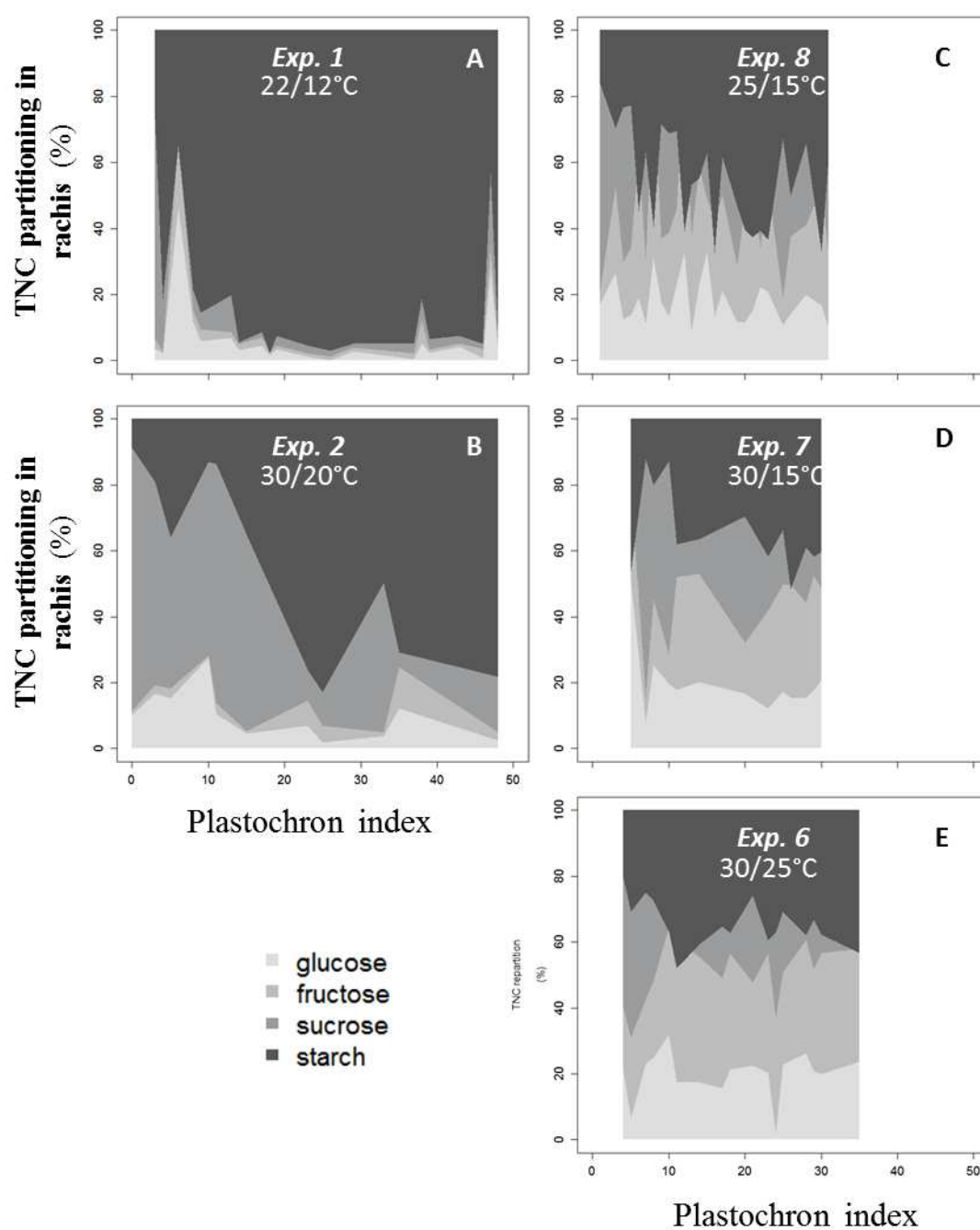


Figure 5. Total non-structural carbohydrates (TNC) partitioning in rachis in Exp. 1 (A), 2 (B), 8 (C), 6 (D) and 7 (E) expressed as a function of plastochron index. Percentage of glucose, fructose, sucrose and starch in rachis was calculated from the ratio of the considered carbohydrate concentration on the TNC concentration.

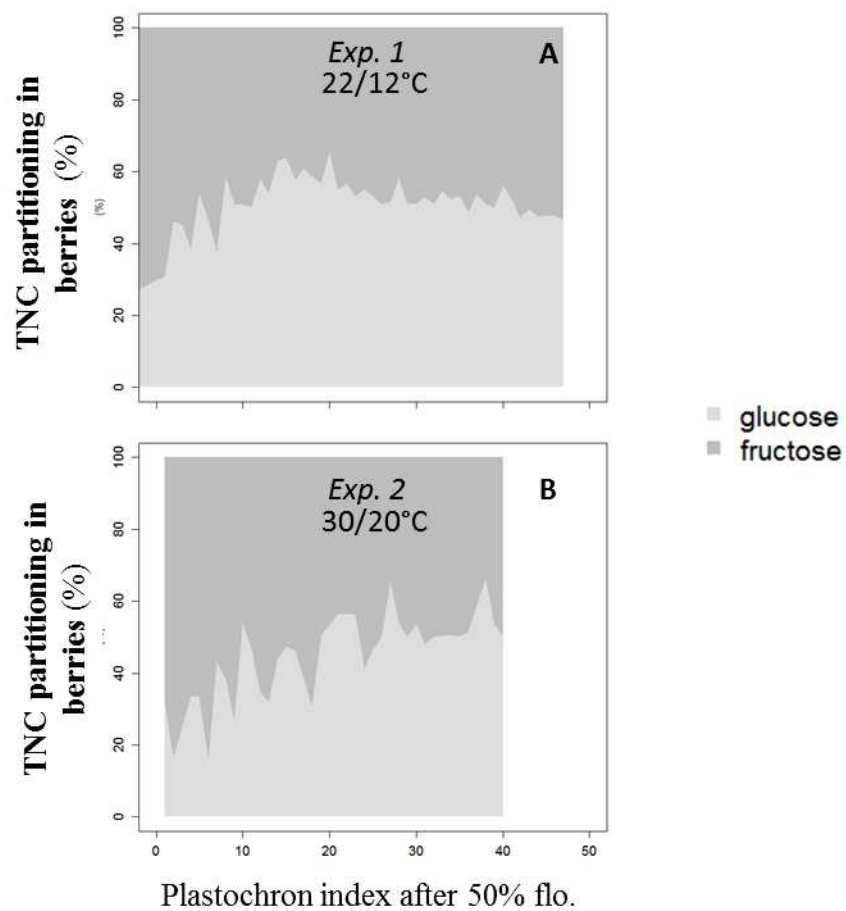


Figure 6. Total non-structural carbohydrates (TNC) partitioning in berries in Exp. 1 (A), 2 (B), 8 (C), 6 (D) and 7 (E) expressed as a function of plastochron index after flowering. Percentage of glucose and fructose in berries was calculated from the ratio of the considered carbohydrate concentration on the TNC concentration.

Figures supplémentaires du chapitre 3

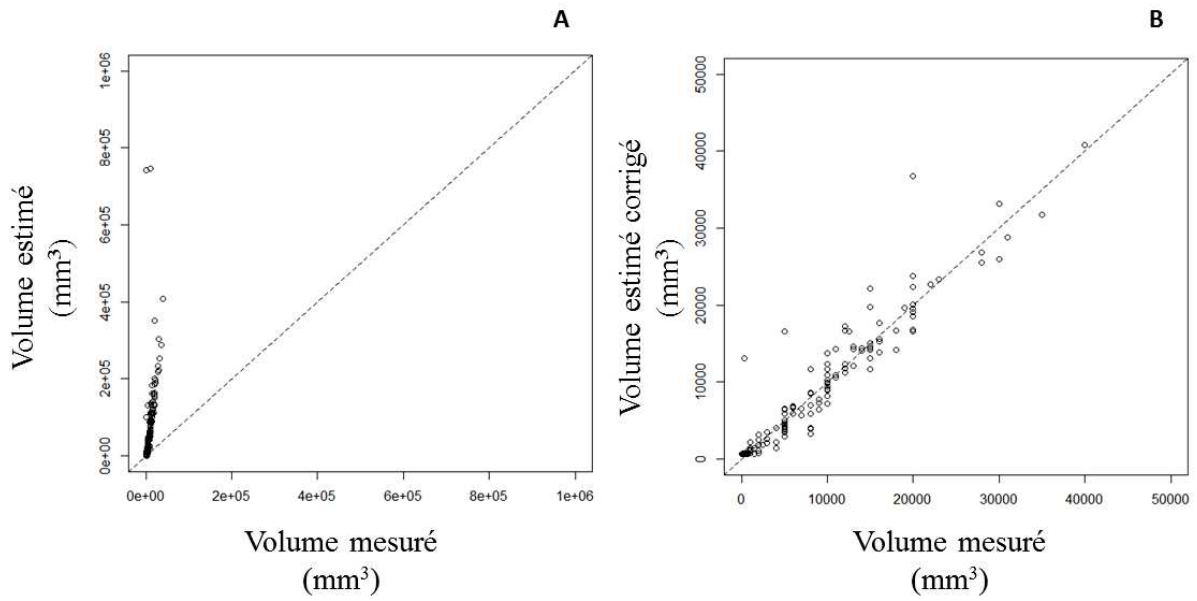


Figure 1: Comparaison des volumes d'inflorescences et de grappes mesurés *via* la méthode d'Archimède et calculés par analyse d'image avant (A), et après application de coefficients de correction des valeurs estimées par analyse d'image (B). Les valeurs ont été corrigées *via* l'équation suivante :

$$Vol. cor. (mm^3) = -8 \times 10^{-8} - 8 \times (Vol. estim.)^2 + 0.1312 \times Vol. estim. + 630.03 \quad (Eq.1)$$

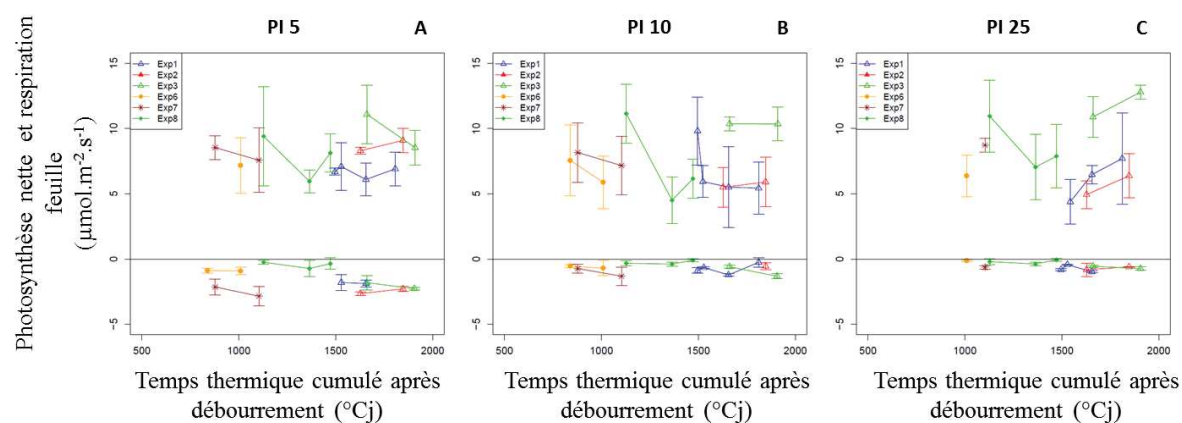


Figure 2. Evolutions de la photosynthèse et de la respiration exprimées par unité de surface foliaire ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) pour les expérimentations avec des traitements thermiques de longue durée et le niveau de charge 'All.inflo' en serre ou en phytotron (Exp. 1, 2, 3, 6, 7 et 8). Les valeurs de A_{N}^{F} et R_{F} sont représentées pour chaque classe de PI : PI 5 (A), PI 10 (B) et PI 25 (C). Les barres d'erreurs correspondent aux écart-types. Chaque point est la moyenne d'au moins 3 mesures réalisées à une même date.

Table 1. Effet de la date de mesure sur les valeurs de photosynthèse et de respiration par unité de surface foliaire ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) mesurées au cours des expérimentations avec des traitements thermiques de longue durée et le niveau de charge 'All.inflo' en serre ou en phytotron (Exp. 1, 2, 3, 6, 7 et 8).

Effet de la date sur la photosynthèse				Effet de la date sur la respiration			
Exp.	PI	p-value	significativité	Exp.	PI	p-value	significativité
1	5	0.944	ns	1	5	0.394	ns
	10	0.129	ns		10	0.123	ns
	25	0.119	ns		25	0.0858	.
2	5	0.228	ns	2	5	0.424	ns
	10	0.39	ns		10	0.307	ns
	25	0.28	ns		25	0.827	ns
3	5	0.129	ns	3	5	0.439	ns
	10	0.848	ns		10	0.0518	.
	25	0.191	ns		25	0.899	ns
6	5	0.484	ns	6	5	0.262	ns
	10	0.321	ns		10	0.0452	*
	25				25	0.000378	***
7	5	0.396	ns	7	5	0.0301	*
	10	0.464	ns		10	0.527	ns
	25				25	0.249	ns
8	5	0.268	ns	8	5	0.327	ns
	10	0.000486	***		10	0.0262	*
	25	0.0377	*		25	0.202	ns

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

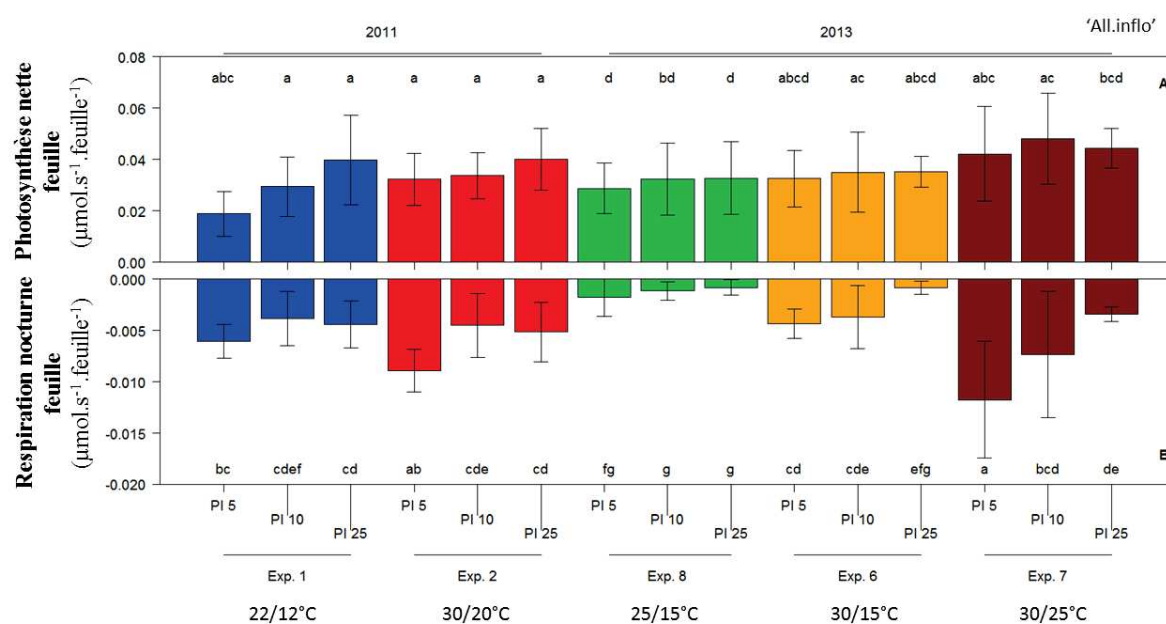


Figure 4. Photosynthèse (A) et respiration (B) foliaires ($\mu\text{mol.s}^{-1}$ par feuille) mesurées au cours des expérimentations avec des traitements thermiques de longue durée et le niveau de charge 'All.inflo' en phytotron (Exp. 1, 2, 6, 7 et 8). Les valeurs de A_{F} et R_{F} sont représentées pour chaque classe de PI : PI 5, PI 10 et PI 25. Les barres d'erreurs correspondent aux écarts types. Les lettres indiquent les différences significatives ($P=0.05$).

Table 2. Effet des températures nocturne sur la photosynthèse et des températures diurnes sur la respiration foliaires par unité de surface mesurées au cours de l'Exp. 9 en phytotron (traitement thermique de courte durée, et niveau de charge 'No. Inflo').

<i>Effet de la Temperature nocturne sur la photosynthèse</i>				<i>Effet de la Temperature journaliere sur la respiration</i>			
PI	T° jour	p-value	significativité	PI	T° nuit	p-value	significativité
5	20	0.4652	ns	5	15	0.1551	ns
5	25	0.05457	.	5	20	0.06932	.
5	30	0.7032	ns	5	25	0.3108	ns
5	35	0.06409	.	5	30	0.5218	ns
10	20	0.6682	.	10	15	0.05454	.
10	25	0.3131	ns	10	20	0.0289	*
10	30	0.2936	ns	10	25	0.7014	ns
10	35	0.1279	ns	10	30	0.01762	*
25	20	0.2864	ns	25	15	0.1453	ns
25	25	0.8239	ns	25	20	0.1743	ns
25	30	0.3735	ns	25	25	0.05156	.
25	35	0.9847	ns	25	30	1	ns

Signif. codes: 0 '****' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Table 3. Effet des températures nocturne sur la photosynthèse et des températures diurnes sur la respiration foliaires par unité de surface mesurées au cours de l'Exp. 10 en phytotron traitement thermique de courte durée, et niveau de charge 'All. Inflo').

<i>Effet de la Temperature nocturne sur la photosynthèse</i>				<i>Effet de la Temperature journaliere sur la respiration</i>			
PI	T° jour	p-value	significativité	PI	T° nuit	p-value	significativité
5	20	0.634	ns	5	15	0.544	ns
5	25	0.504	ns	5	20	0.173	ns
5	30	0.00404	**	5	25	0.482	ns
5	35	0.0188	*	5	30	0.325	ns
10	20	0.0826	.	10	15	0.12	ns
10	25	0.559	ns	10	20	0.827	ns
10	30	0.996	ns	10	25	0.936	ns
10	35	0.00659	**	10	30	0.344	ns
25	20	0.353	ns	25	15	0.209	ns
25	25	0.0455	*	25	20	0.0653	.
25	30	0.963	ns	25	25	0.118	ns
25	35	0.0376	*	25	30	0.433	ns

Signif. codes: 0 '****' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Table 4. Effet des températures nocturne sur la photosynthèse et des températures diurnes sur la respiration inflorescentielles par unité devolume mesurées au cours de l'Exp. 10 en phytotron ('All. Inflo').

<i>Effet de la Temperature nocturne sur la photosynthèse</i>				<i>Effet de la Temperature journaliere sur la respiration</i>			
PI	T° jour	p-value	significativité	PI	T° nuit	p-value	significativité
5	20	0.393	ns	5	15	0.597	ns
5	25	0.535	ns	5	20	0.801	ns
5	30	0.882	ns	5	25	0.856	ns
5	35	0.917	ns	5	30	0.878	ns
10	20	0.00548	**	10	15	0.29	ns
10	25	0.478	ns	10	20	0.998	ns
10	30	0.711	ns	10	25	0.00246	**
10	35	0.907	ns	10	30	0.852	ns
25	20	0.182	ns	25	15	0.539	ns
25	25	0.929	ns	25	20	0.0246	*
25	30	0.524	ns	25	25	0.87	ns
25	35	0.00655	**	25	30	0.259	ns

Signif. codes: 0 '****' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Table 5. Effet de l'indice plastochronique (PI) sur les photosynthèses et respirations foliaires par unité de surface mesurées au cours de l'Exp. 9 en phytotron (traitement thermique de courte durée, et niveau de charge 'No. Inflo').

<i>Effet du rang</i>		<i>Photosynthèse</i>		<i>Respiration</i>	
Tjour	Tnuit	p-value	significativité	p-value	significativité
20	15	0.6065	ns	0.001651	**
25	15	0.2039	ns	0.00011	***
30	15	0.5195	ns	0.003225	**
35	15	0.1443	ns	0.002937	**
20	20	0.4056	ns	0.01084	*
25	20	0.2086	ns	0.002754	**
30	20	0.186	ns	0.03059	.
35	20	0.1975	ns	0.004858	**
25	25	0.2805	ns	0.00236	**
30	25	0.04648	*	0.009844	**
35	25	0.179	ns	0.001158	**
30	30	0.1299	ns	0.0008107	***
35	30	0.2291	ns	0.003321	**

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Table 6. Effet de l'indice plastochronique (PI) sur les photosynthèses et respirations par unité de surface mesurées au cours de l'Exp. 10 en phytotron ('traitement thermique de courte durée, et niveau de charge 'All. Inflo').

<i>Effet du rang</i>		<i>Photosynthèse</i>		<i>Respiration</i>	
Tjour	Tnuit	p-value	significativité	p-value	significativité
20	15	0.0362	*	0.38	ns
25	15	0.0773	.	0.114	ns
30	15			0.243	ns
35	15	0.699	ns		
20	20	0.104	ns	0.0157	*
25	20	0.624	ns	0.0819	.
30	20			0.0134	*
35	20	0.00703	**	0.213	ns
25	25	0.135	ns	0.00709	**
30	25	0.709	ns	0.00585	**
35	25	0.437	ns	0.0311	*
30	30	0.01	*	0.536	ns
35	30	0.0595	.	0.0897	.

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Table 7. Effet de l'indice plastochronique (PI) sur les photosynthèses et respirations inflorescentielles par unité de volume mesurées au cours de l'Exp. 10 en phytotron (traitement thermique de courte durée, et niveau de charge 'All. Inflo').

Effet du rang		Photosynthèse		Respiration	
Tjour	Tnuit	p-value	significativité	p-value	significativité
20	15	0.226	ns	0.103	ns
25	15	0.948	ns	0.602	ns
30	15			0.254	ns
35	15	0.0215	*		
20	20	0.185	ns	0.0284	*
25	20	0.263	ns	0.584	ns
30	20			0.992	ns
35	20	0.0433	*	0.388	ns
25	25	0.589	ns	0.269	ns
30	25	0.006	**	0.9	ns
35	25	0.349	ns	0.429	ns
30	30	0.227	ns	0.475	ns
35	30	0.972	ns	0.881	ns

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

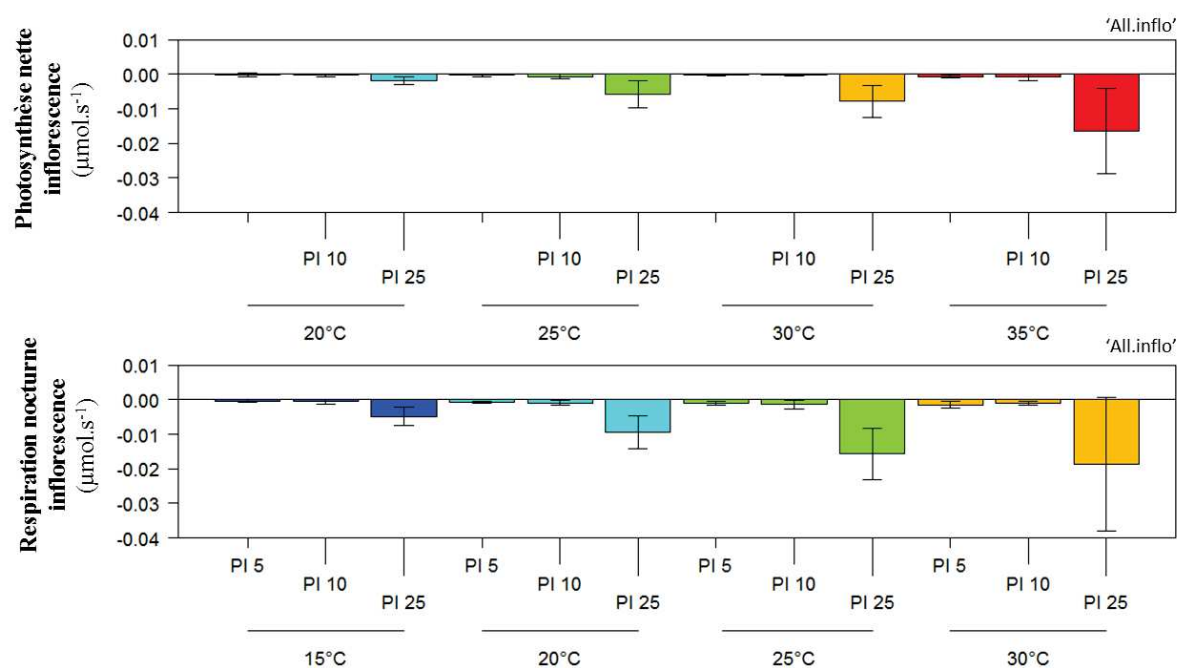


Figure 5. Photosynthèse (A) et respiration (B) inflorescence exprimées par inflorescence pour l'Exp. 10 en phytotron avec des traitements thermiques de courte durée et le niveau de charge 'All. Inflo'. Les valeurs de A_{n_i} et R_i sont représentées aux différentes classes de PI (PI5, PI10 et PI25) et pour les 4 paliers de température jour/nuit dans la gamme 15°C-35°C. Chaque barre est la moyenne d'au moins 3 plantes. Les barres d'erreurs correspondent aux écarts types.

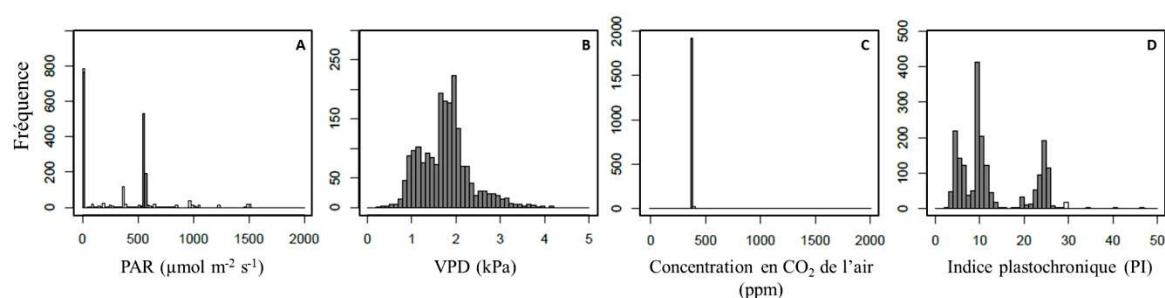


Figure 6. Histogrammes de fréquence des données sélectionnées pour la modélisation des échanges gazeux foliaires, pour les facteurs PAR (A), VPD_{fa} (B), concentration en CO_2 de l'air (C) et PI (D). Pour le PAR, seules les données comprises entre 0 à $10 \mu mol m^{-2} s^{-1}$ ont été considérées pour la respiration, et celles comprises entre 10 et $620 \mu mol m^{-2} s^{-1}$ pour la photosynthèse. Les classes de PI conservées sont les PI 5 (de 0 à 7 PI), PI 10 (de 8 à 14 PI) et les PI 25 (de 15 à 29 PI).

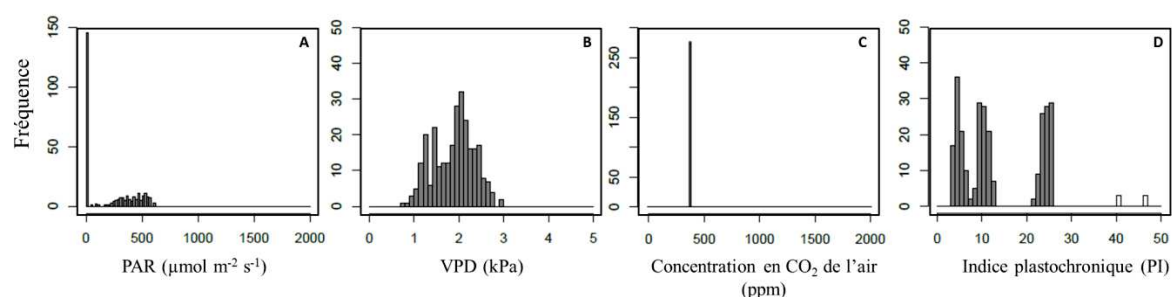


Figure 7. Histogrammes de fréquence des données sélectionnées pour la modélisation des échanges gazeux inflorescentiels, pour les facteurs PAR (A), VPD_{fa} (B), concentration en CO_2 de l'air (C) et PI (D). Pour le PAR, seules les données comprises entre 0 à $10 \mu mol m^{-2} s^{-1}$ ont été considérées pour la respiration, et celles comprises entre 10 et $620 \mu mol m^{-2} s^{-1}$ pour la photosynthèse. Les classes de PI conservées sont les PI 5 (de 0 à 7 PI), PI 10 (de 8 à 14 PI) et les PI 25 (de 15 à 29 PI).

Table 8. Résultats de l'analyse de covariance des résidus relatifs de la photosynthèse des feuilles.

Photosynthèse feuille:

```
lm(formula = Residu_rel ~ PAR_moy + Tmoy.5jours_moy + Dispositif + PI_class + Trait.inflo)
```

Residuals:

	Min	1Q	Median	3Q	Max
	-44.475	-12.743	-0.294	12.946	40.661

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)
(Intercept)	87.09289	15.20351	5.728	7.44e-08 ***
PAR_moy	-0.02899	0.01927	-1.504	0.13513
Tmoy.5jours_moy	-1.22506	0.44268	-2.767	0.00653 **
Dispositifserre	-39.22645	8.59054	-4.566	1.20e-05 ***
PI_class25	-1.01507	3.93355	-0.258	0.79680
PI_class5	-7.70232	3.92993	-1.960	0.05229 .
Trait.infloall.inflo	-5.78659	3.60921	-1.603	0.11146

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 18.19 on 122 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.2329, Adjusted R-squared: 0.1952

F-statistic: 6.173 on 6 and 122 DF, p-value: 1.115e-05

Table 9. Résultats de l'analyse de covariance des résidus relatifs de la respiration des feuilles.

```

Respiration feuille:
lm(formula = Residu_rel ~ Tmoy.5jours_moy + Dispositif + PI_class + Trait.inflo)

Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-46.676 -10.506  -0.835   10.790   62.859

Coefficients:
                Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)      111.2759    12.9999   8.560 4.44e-14 ***
Tmoy.5jours_moy    -1.3687     0.5067  -2.701 0.00791 **
Dispositifserre   -11.8752     8.1232  -1.462 0.14639
PI_class25         3.0391     4.1000   0.741 0.46000
PI_class5        -40.5324     4.0753  -9.946 < 2e-16 ***
Trait.infloall.inflo -19.6181     3.6662  -5.351 4.26e-07 ***
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 18.78 on 120 degrees of freedom
Multiple R-squared: 0.5951,    Adjusted R-squared: 0.5783
F-statistic: 35.28 on 5 and 120 DF,  p-value: < 2.2e-16

```

Table 10. Résultats de l'analyse de covariance des résidus relatifs des photosynthèse et respiration des inflorescences.

```

Photosynthèse et Respiration inflorescence:
lm(formula = Residu_rel ~ VpdL_moy + PAR_moy + Tmoy.5jours_moy + PI_class)

Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-57.795  -6.781  -0.578    8.401   40.098

Coefficients:
                Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)      43.81524    23.06485   1.900  0.0633 .
VpdL_moy        -19.96427     9.31110  -2.144  0.0369 *
PAR_moy          0.10529     0.01617   6.510 3.51e-08 ***
Tmoy.5jours_moy    1.42001     0.96837   1.466  0.1488
PI_class25       -16.32395     7.44544  -2.192  0.0330 *
PI_class5        -6.99296     7.20821  -0.970  0.3366
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 20.48 on 50 degrees of freedom
Multiple R-squared: 0.5209,    Adjusted R-squared: 0.473
F-statistic: 10.87 on 5 and 50 DF,  p-value: 4.114e-07

```


Table 11. Effet de la température sur le $BC_{a,<Flo}$, le BC_a et le BC_{tot} exprimé en g de C accumulé au cours de la période T0-Tf.

Exp	1 22/12°C		2 30/20°C		8 25/15°C		6 30/15°C		7 30/25°C	
$BC_{a,<Flo}$	19.90	a	9.20	b	2.70	c	3.60	c	3.90	c
BC_a	57.04	a	26.66	b	10.10	c	9.30	c	9.97	c
BC_{tot}					6	a	5.46	a	8.49	a

Table 12. Effet de la température sur les composantes du $BC_{a,<Flo}$, du BC_a et du BC_{tot} exprimé en g de C par jour.

Exp		1 22/12°C	2 30/20°C	8 25/15°C	6 30/15°C	7 30/25°C
$BC_{a,<Flo}$	$BC_{a,<Flo}$	0.355 a	0.318 a	0.086 b	0.128 b	0.139 b
	ΔC_{BM}	0.107 a	0.246 bcd	0.164 d	0.258 b	0.376 c
	ΔC_{AN}	0.542 ab	0.671 ac	0.325 d	0.490 b	0.658 c
	ΔC_R	-0.080 a	-0.107 b	-0.074 a	-0.103 b	-0.143 c
	ΔC_{BMF}	0.045 a	0.083 bc	0.064 c	0.093 bd	0.111 d
	ΔC_{BMEN}	0.047 a	0.147 bc	0.082 c	0.147 b	0.232 b
	ΔC_{BMI}	0.015 a	0.016 a	0.019 a	0.019 a	0.033 b
	ΔC_{ANF}	0.542 ab	0.671 a	0.325 c	0.490 b	0.656 a
	ΔC_{ANI}	-0.001 a	0.000 b	0.000 b	0.000 b	0.002 c
	ΔC_{RF}	-0.034 ab	-0.061 c	-0.025 b	-0.036 a	-0.071 c
	ΔC_{RI}	-0.003 a	-0.003 a	-0.002 b	-0.002 b	-0.005 c
	ΔC_{REN}	-0.044 a	-0.043 a	-0.047 a	-0.065 b	-0.066 b
BC_a	BC_a	1.018 a	0.918 a	0.326 b	0.332 b	0.356 b
	ΔC_{BM}	0.123 a	0.256 bcd	0.164 d	0.258 b	0.376 c
	ΔC_{AN}	1.365 a	1.442 a	0.678 b	0.779 b	0.970 c
	ΔC_R	-0.224 a	-0.268 b	-0.188 c	-0.189 c	-0.238 a
	ΔC_{BMF}	0.045 a	0.083 bc	0.064 c	0.093 bd	0.111 d
	ΔC_{BMEN}	0.047 a	0.147 bc	0.082 c	0.147 b	0.232 b
	ΔC_{BMI}	0.031 ab	0.026 abc	0.019 c	0.019 ac	0.033 b
	ΔC_{ANF}	1.368 a	1.443 a	0.678 c	0.779 bc	0.968 b
	ΔC_{ANI}	-0.003 a	-0.002 b	0.000 c	0.000 c	0.002 d
	ΔC_{RF}	-0.085 a	-0.129 b	-0.056 c	-0.057 c	-0.104 a
	ΔC_{RI}	-0.010 a	-0.009 a	-0.002 b	-0.002 b	-0.005 c
	ΔC_{REN}	-0.130 a	-0.130 a	-0.130 a	-0.130 a	-0.130 a
BC_{tot}	BC_{tot}			0.052 a	0.115 a	0.286 a
	ΔC_{BM}			0.438 a	0.475 a	0.445 a
	$\Delta C_{BM Rac}$			0.274 a	0.217 a	0.070 a

Mesures en série des échanges gazeux à l'échelle plante entière de plantes cultivées en pot

Alexis Bédiee^{1*}, Nathalie Luchaire^{2,3}, Anaëlle Dambreville¹, Nicolas Brichet¹, Philippe Hamard¹, Myriam Dauzat¹, Bertrand Muller¹, Anne Pellegrino²

Résumé

Un système permettant de mesurer la photosynthèse nette, la respiration et la transpiration individuelles de 4 plantes en pot a été développé. Ces dernières sont positionnées dans des chambres d'assimilation dont la hauteur est ajustable selon l'espèce et selon les contraintes d'encombrement liées au lieu de mesure (serre, chambre de culture, extérieur). Il s'agit d'un système ouvert : l'air dans les chambres d'assimilation est sans cesse renouvelé, ce qui évite une décroissance du taux de CO₂ (due à la consommation de la plante) et un éventuel effet de serre. Le système a été testé en conditions contrôlées sur la Microvigne pour différents gradients thermiques et sur le colza. Les échanges gazeux par unité de surface déterminés à l'échelle plante entière sont comparables aux mesures réalisées simultanément à l'échelle foliaire bien que ces dernières semblent sous-estimer les valeurs. Les améliorations à prévoir concernant la conception des chambres et le protocole de mesure sont discutées.

Mots clés

Chambre d'assimilation, circuit ouvert, cylindre emboitable, photosynthèse nette, plante entière, respiration, transpiration.

I. Introduction

L'évaluation de l'adaptation des plantes aux contraintes abiotiques est un enjeu majeur dans le cadre des changements climatiques. L'optimisation du gain de carbone (photosynthèse nette) et de l'efficacité d'utilisation de l'eau (photosynthèse nette/transpiration) sous contrainte hydrique et/ou thermique est essentielle pour assurer la durabilité des cultures (Flexas et al., 2010). La photosynthèse et la transpiration sont généralement mesurées à l'échelle foliaire via l'utilisation d'analyseurs d'échanges gazeux. Ces mesures localisées ne permettent d'accéder qu'à une information partielle du fonctionnement de la plante, et non représentative de celui de la plante entière. En effet, l'activité photosynthétique nette d'une feuille isolée est différente de celle de la plante entière due à la présence d'organes hétérotrophes (Poni *et al.*, 1997). De plus, l'extrapolation des mesures d'échanges gazeux de l'échelle foliaire à l'échelle de la plante entière est complexe, car elle nécessite d'intégrer les facteurs microclimatiques au sein de la canopée et les comportements individuels de chacune des

¹INRA, UMR LEPSE - Laboratoire d'Ecophysiologie des Plantes sous Stress Environnementaux, 2 Place Viala, F-34060 Montpellier, France

² Montpellier SupAgro, UMR LEPSE - Laboratoire d'Ecophysiologie des Plantes sous Stress

Environnementaux, 2 Place Viala, F-34060 Montpellier, France

³ Montpellier SupAgro, UMR AGAP - Amélioration et Génétique de l'Adaptation des Plantes, 2 Place Viala, F-34060 Montpellier, France

* Contact : bediee@supagro.inra.fr

feuilles en fonction de leur position et de leur âge. Une approche de modélisation permettant de simuler la structure de la canopée, l'interception du rayonnement et les échanges gazeux de la vigne a été développée au LEPSE par Louarn et al. (2008) et Prieto et al. (2012). Ces modèles nécessitent toutefois de renseigner un nombre important de paramètres physiques et biologiques, difficilement accessibles. Perez Peña et Tarara (2004) ont conçu un prototype de chambres reliées en série, fonctionnant chacune en circuit ouvert, et dont le couplage avec des analyseurs gazeux infrarouges (IRGA) permet de mesurer directement les échanges de CO₂ et d'H₂O sur plante entière. Ce dispositif a été utilisé pour comparer la photosynthèse et l'efficacité d'utilisation de l'eau de la vigne au champ pour différents régimes d'irrigation. Le même type de chambre a été utilisé par le LEPSE pour évaluer la performance de systèmes de taille contrastés chez la vigne (Prieto, 2011). Le volume imposant de ces chambres (8 m³) est toutefois incompatible avec une utilisation en conditions de culture contrôlées. Leur dimension est par ailleurs fixée par la présence d'armatures en aluminium, permettant de maintenir le film polymère de recouvrement. Le volume de la chambre ne peut donc pas être redimensionné en fonction de la surface foliaire de l'espèce considérée. Daudet (1987) et Poni et al. (1997) ont développé et testé sur le tournesol et la vigne un système de chambre de type « ballon » dont la taille est également fixe, mais ne requérant pas d'armature. Le film polymère constituant l'enceinte de ces chambres est gonflé par un système de soufflerie. Ces chambres ont été utilisées afin de tester l'impact de la défoliation précoce sur les échanges gazeux de la vigne (Poni et al., 2008). Une autre alternative de structure de chambre, constituée d'un cylindre en Polyméthacrylate de méthyle, a été proposée par Centinari et al. (2009). Cette dernière a été utilisée pour mesurer la transpiration d'une culture intercalaire dans un vignoble.

Sur la base de ces différents travaux, nous avons conçu un système regroupant quatre chambres d'assimilation reliées en série. Leurs dimensions ont été raisonnées de façon à pouvoir conduire des expérimentations en pot, dans des conditions contrôlées ou semi-contrôlées. Les chambres sont constituées de tubes cylindriques emboîtables en Polyméthacrylate de méthyle. Leur volume est adaptable à la surface foliaire de l'espèce considérée. La photosynthèse nette, la respiration et la transpiration ont été mesurées via ces chambres sur la Microvigne et le colza pour différents gradients thermiques et des niveaux de surfaces foliaires contrastés. Les mesures d'échanges gazeux à l'échelle plante entière ont ensuite été comparées aux mesures sur feuilles isolées.

II. Matériel et méthodes

II.1 Les chambres d'assimilation

La structure des chambres d'assimilation est façonnée à partir de Polyméthacrylate de méthyle extrudé d'une épaisseur de 0,4 cm. Ce choix de matière a été motivé par les travaux de Centinari et al. (2009). Selon les tests que nous avons effectués, le Polyméthacrylate de méthyle est transparent à plus de 92% dans le visible (figure 1).

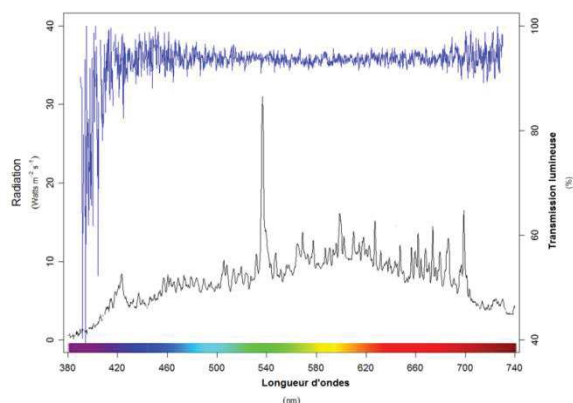


Figure 1 : Transmission lumineuse du Polyméthacrylate de méthyle. La transmission lumineuse (ligne bleue, % de lumière) et le spectre lumineux (ligne noire, Watts $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$) sont représentés. Le test a été effectué dans une chambre de culture équipée de 6 lampes à halogénure métallique de 250W de type HPI-T Plus 250W 645 E40 (PHILIPS©, Amsterdam, *Netherlands*).

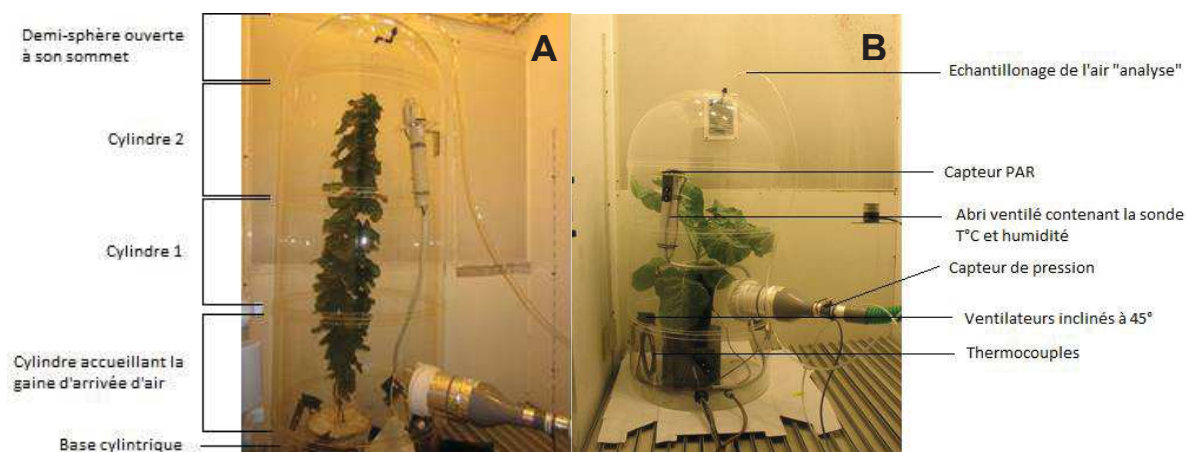


Figure 2 : Chambre d'assimilation permettant de mesurer les échanges gazeux de plantes en pot dans une chambre de culture de 2 m^3 : *Microvigne* (A) et colza (B). La chambre d'assimilation présentée sur la figure A mesure 130 cm de haut pour un volume de 0.239 m^3 et celle présentée sur la figure B mesure 100 cm pour un volume de 0.180 m^3 .

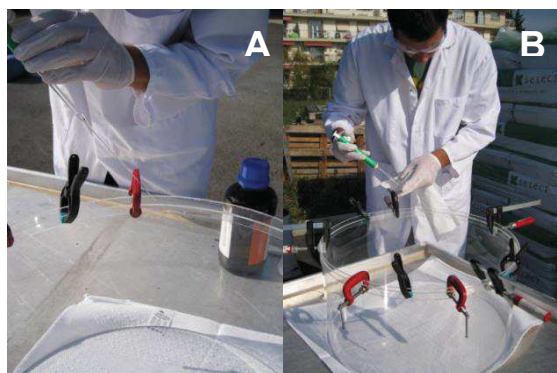


Figure 3 : Cerclage soudé au chloroforme. Une bande de Polyméthacrylate de méthyle d'une largeur de 2.5 cm est enroulée autour du cylindre en dépassant de 1.20 cm. La bande est maintenue en place par des serre-joints puis soudée avec du chloroforme au niveau de la partie plaquée contre le cylindre.

Le Polyméthacrylate de méthyle (PMMA) est donc plus transparent que le verre mais également plus solide et moins lourd que ce dernier. L'utilisation de structures métalliques n'est pas nécessaire, ce qui permet d'éviter la présence d'ombrage au sein des chambres. Les chambres d'assimilation sont composées chacune d'une base cylindrique de 50 cm de diamètre ayant une face fermée hermétiquement et de différents cylindres adaptables sur cette même base permettant l'ajustement de la hauteur totale. À leur sommet est disposée une demi-sphère ouverte sur 12,5 cm de diamètre. Une gaine d'arrivée d'air est raccordée à la base cylindrique. Quatre petits ventilateurs 12 volts sont disposés selon un angle de 45 degrés à l'intérieur de cette base afin de créer un brassage homogène de l'air à l'intérieur de l'enceinte (figure 2).

Un cerclage (en PMMA également) est effectué à l'intersection des cylindres permettant de les assembler. La soudure de celui-ci est réalisée à l'aide de chloroforme (figure 3). La plus petite taille concevable d'une chambre est actuellement de 100 cm de hauteur (pour un diamètre fixe de 50 cm) soit un volume de 0.180 m³ (voir figure 2B).

II.2 Déroulement des mesures

Un capteur de pression dynamique de type 176PC series (Honeywell©, Morristown, NJ, USA) est présent au niveau de la gaine d'arrivée d'air de chaque chambre d'assimilation. Chacune des chambres d'assimilation est équipée de trois thermocouples pour effectuer des mesures de température (°C) d'organes et d'un capteur PAR ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) fabriqué au LEPSE et comprenant une cellule de silicium (Solems©, Palaiseau, France). Elles contiennent également un abri ventilé renfermant une sonde de température et d'humidité (%) HC2-s (Rotronic©, Croissy Beaubourg, France) (voir figure 1B). Toutes ces mesures sont collectées par une centrale d'acquisition de données de type CR1000 (Campbell Scientifique©, Leicestershire, UK) (voir annexes figure 14, section 7.2). Les mesures se font alternativement sur les quatre chambres d'assimilation sur un pas de temps défini par l'utilisateur.

La concentration de CO₂ (ppm) et la pression partielle d'H₂O (mbar) de l'air à l'extérieur des chambres sont mesurées grâce à un analyseur CIRAS DC (PP Systems©, Amesbury, MA, USA) (figure 4). Il s'agit d'un analyseur à double canal comprenant quatre IRGA indépendants. La concentration de CO₂ et la pression partielle d'H₂O sont déterminées en amont de la chambre sur l'air « référence » par les deux premiers IRGA, et en aval de la chambre sur l'air « analyse » par les deux autres. Les échantillons d'air « analyse » sont prélevés au niveau du sommet des chambres d'assimilation (voir figure 1B). Les différentiels de concentration de CO₂ et de pression partielle d'H₂O entre l'air « analyse » et l'air « référence » sont calculés par l'analyseur et correspondent aux variations de concentration engendrées par la plante.

Le signal analogique du CIRAS est envoyé vers la centrale d'acquisition de données, ce qui permet de n'avoir qu'un seul fichier de sortie par chambre d'assimilation et donc de ne pas avoir à assembler les fichiers issus du CIRAS et ceux issus de la CR1000. Les calculs utiles pour la récupération du signal analogique sont présentés en annexe (voir partie 7.1, eq.8 à eq.15).



Figure 4: CIRAS DC (PP Systems©, Amesbury, MA, USA)

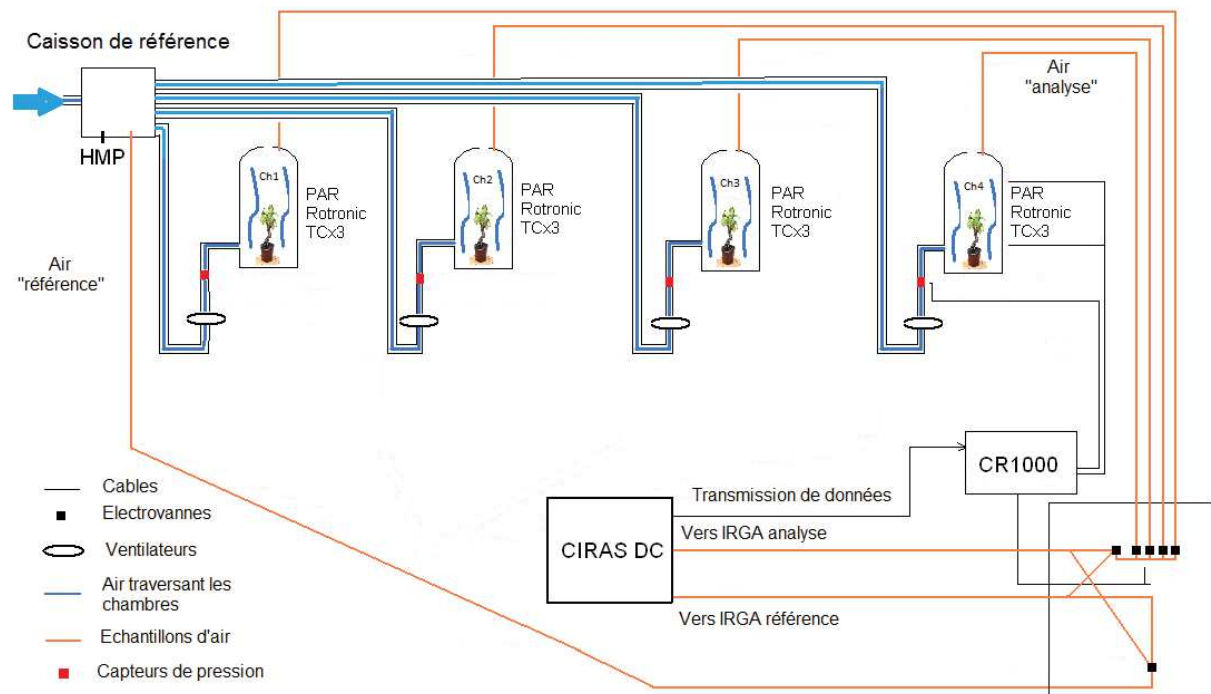


Figure 5 : Schéma général du système reliant les chambres d'assimilation au caisson de référence, les électrovalves, la centrale d'acquisition et l'analyseur d'échanges gazeux.

Les chambres d'assimilation disposent chacune en amont d'un ventilateur avec variateur (annexes figure 14, section 7.2) permettant de régler la vitesse de l'air et d'obtenir un débit entre 6 et 7 litres par seconde, pour un renouvellement d'air dans les chambres autour de deux fois et demie par minute (variable selon la taille des chambres et les besoins de l'échantillon analysé). Un débit excessif d'air entrant dans la chambre réduit les valeurs de différentiels de CO₂ et H₂O, et diminue la précision des mesures. À l'inverse, un débit d'air trop faible génère un effet de serre (réchauffement de l'air) ainsi qu'une décroissance du taux de CO₂ due à l'assimilation de la plante.

L'air circulant dans le système est extrait d'une chambre de culture vide où la concentration de CO₂ est stable et les conditions environnementales contrôlées. Cet air est aspiré par les ventilateurs vers un caisson dit de « référence ». C'est ici que sont mesurées la température et l'humidité de l'air qui permettent, avec la pression dynamique mesurée avant chaque chambre, de calculer les flux d'air entrant (variable indispensable au calcul de la photosynthèse et de la transpiration). C'est également de ce caisson étanche que l'échantillon d'air de « référence » est prélevé (figure 5).

L'échantillon d'air « analyse » prélevé au niveau de la sortie des chambres, est envoyé vers une armoire contenant des électrovannes pilotées par la centrale d'acquisition de données. Ces dernières servent à laisser passer l'air d'une chambre (la chambre 1 par exemple) vers l'analyseur et de bloquer le passage de l'air d'analyse des autres pendant un temps défini par l'utilisateur en début d'expérimentation. Lorsque l'analyse de l'air sortant de la chambre 1 est terminée, l'électrovanne de celle-ci se ferme et celle correspondant à la chambre 2 s'ouvre, laissant passer l'air provenant de cette dernière vers l'analyseur, et ce jusqu'à ce que l'étude complète des quatre chambres soit réalisée. Le processus complet se réitère jusqu'à la mise en arrêt du système.

Comme indiqué dans la figure 6, après son passage dans le premier jeu d'électrovannes reliées aux chambres (EV 1 à 4), l'air est redirigé vers une électrovanne « analyse » (EV ANA). L'air provenant du caisson de référence est quant à lui dirigé vers une électrovanne « référence » (EV REF). Ces deux électrovannes, de type 3/2, sont placées pour annuler les dérives des IRGA. Elles ont pour but d'effectuer une « inversion d'échantillonnage ». Lorsqu'elles se trouvent en position ouverte (position 1), EV REF envoie l'air vers l'IRGA référence et EV ANA vers l'IRGA analyse. En position fermée (position 2), EV REF envoie l'air vers l'IRGA analyse et EV ANA vers l'IRGA référence. Le passage de la position 1 à la position 2 des deux électrovannes s'opère lorsque la moitié du temps de mesure de l'air de la chambre est atteint. En moyennant les valeurs obtenues en position 1 et celles obtenues en position 2 la dérive des IRGA est alors annulée. Ainsi l'auto calibration de l'analyseur, appelée « zéro » et « différentiel-balance », n'est plus nécessaire (auto-calibration pendant laquelle les mesures effectuées par le CIRAS sont stoppées et qui n'intervient pas à intervalles réguliers). Le passage de la position 1 à la position 2, ainsi que les changements de chambre, sont suivis d'une période d'une minute pendant laquelle les mesures ne sont pas utilisables. Cette période sert à neutraliser la stagnation de l'échantillonnage d'air dans les tuyaux lorsque les électrovannes sont fermées (EV 1 à 4) et d'assurer ainsi le traitement de l'air issu de la bonne chambre dans la bonne position. Cette technique a été utilisée en se basant sur les travaux de Perez-Peña et Tarara (2004). Une photo de l'armoire est disponible en annexe (figure 15, section 7.3).

Ces échantillons d'air sont prélevés par les pompes internes du CIRAS DC. Compte tenu des faibles longueurs de tuyau, il n'a pas été nécessaire de rajouter des pompes externes.

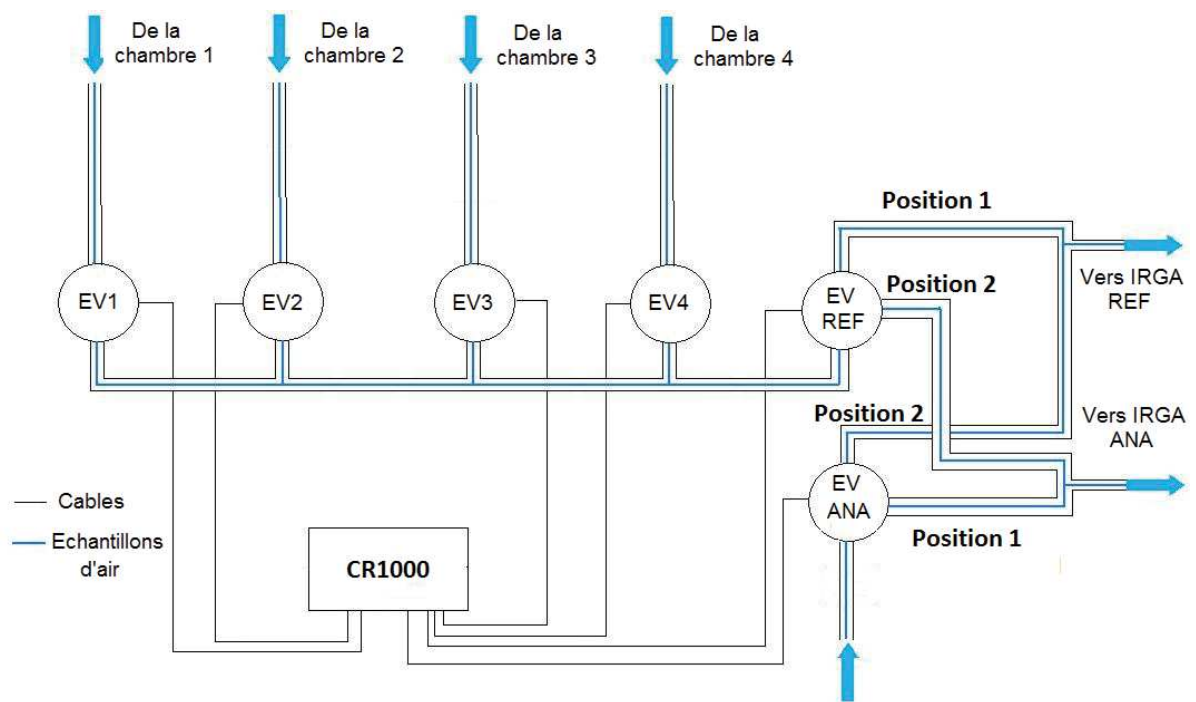


Figure 6 : Schéma des électrovannes.

II.3 Calcul de la photosynthèse et de la transpiration

Les données collectées à partir de la centrale permettent le calcul de la photosynthèse et de la transpiration grâce aux équations développées par Farquhar *et al.* (1980).

La transpiration E (en mol/s/unité de surface) est calculée comme suit :

$$E = \frac{W \times \frac{\Delta H_2O}{(P - H_2O_{ref} - \Delta H_2O)}}{\text{surface foliaire}} \quad (\text{eq. 1})$$

où W représente le flux d'air entrant dans les chambres (en mol/s), ΔH_2O le différentiel de pression partielle de vapeur d'eau (en mbar) entre l'air sortant de la chambre et l'air de référence, H_2O_{ref} la pression partielle de référence (en mbar) et P la pression atmosphérique (en hPa). Dans notre cas la valeur de P a été fixée à 1013 hPa.

La photosynthèse et la respiration A (en $\mu\text{mol/s/unité de surface}$) sont définies ainsi :

$$A = \left(\frac{W \times \Delta CO_2 + (CO_2_{ref} - \Delta CO_2) \times E}{\text{surface foliaire}} \right) \quad (\text{eq. 2})$$

où ΔCO_2 correspond au différentiel de concentration de dioxyde de carbone (en ppm) entre l'air sortant de la chambre et l'air de référence, et CO_2_{ref} la concentration de dioxyde carbone dans l'air de référence (en ppm).

Le calcul du flux d'air entrant dans les chambres W (en mol/s) est:

$$W = q_d \times \frac{\frac{P}{101300}}{22.41 \times 273.15} / (273.15 + T^{\circ}\text{C de l'air}) \quad (\text{eq. 3})$$

où q_d symbolise le débit d'air (en L/s). $T^{\circ}\text{C de l'air}$ correspond à la température mesurée dans le caisson de « référence ». La pression atmosphérique P est ici exprimée en Pascal, soit 101300 Pa dans notre cas.

Le débit d'air q_d (en L/s) est calculé ainsi :

$$q_d = V_{air} \times S \times 1000 \quad (\text{eq. 4})$$

où V_{air} représente la vitesse de l'air (en m/s) et S la section de passage en (m^2) où la pression dynamique de l'air est mesurée. Le nombre 1000 est présent afin de convertir des m^3 en litres.

La vitesse de l'air V_{air} (en m/s) s'obtient comme suit :

$$V_{air} = \sqrt{\left(\frac{2 \times q_p}{\rho} \right)} \quad (\text{eq. 5})$$

où q_p correspond à la pression dynamique de l'air (en Pa) mesurée par les capteurs de pression placés devant chaque chambre et ρ la masse volumique de l'air (en kg/m^3).

Enfin, la masse volumique de l'air ρ (en kg/m^3) est calculée ainsi :

$$\rho = \left(\frac{1}{287.06 \times (T^{\circ}\text{C de l'air} + 273.15)} \right) \times (P - 230,617 \times \left(\frac{\text{humidité de l'air}}{100} \right)) \times e^{\left(\frac{17.5043 \times T^{\circ}\text{C de l'air}}{241.2 + T^{\circ}\text{C de l'air}} \right)} \quad (\text{eq. 6})$$

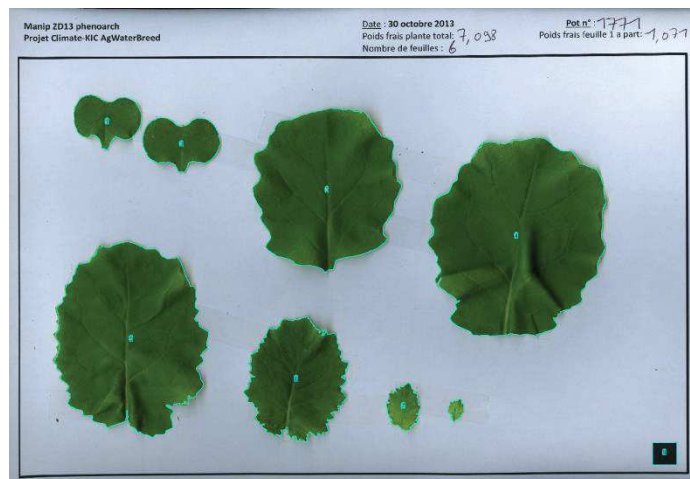


Figure 7 : Feuilles de colza fixées sur une feuille de papier au format A3 et dont les surfaces individuelles sont mesurées en nombre de pixels *via* le logiciel d'analyse d'images ImageJ.

où $T^{\circ}C$ de l'air et humidité de l'air (en %) correspondent aux mesures effectuées dans le caisson de « référence ». Comme pour l'équation 3, P est ici exprimé en Pa, soit 101300 dans notre cas.

II.4 Détermination de la surface foliaire

Les échanges gazeux sont souvent exprimés par unité de surface. Par conséquent, après avoir réalisé les mesures de photosynthèse, de respiration et de transpiration à l'échelle plante entière, il est indispensable de connaître la surface foliaire de l'échantillon. Deux techniques sont présentées ici : les mesures destructives effectuées sur des feuilles scannées et l'estimation non destructive de la surface foliaire à partir d'une relation allométrique.

II.4.1 Mesure de la surface foliaire *via* les scans de feuilles.

Les feuilles récoltées sont fixées (sans le pétiole) sur une feuille de papier A3 sur laquelle est présent un carré noir dont les dimensions en mm^2 sont connues (dit « carré de calibration »). Cette feuille de papier est ensuite scannée (figure 7).

A l'aide du logiciel ImageJ, la surface des feuilles de la plante ainsi que le carré de calibration sont mesurés en pixels puis convertis en mm^2 .

II.4.2 Calcul de la surface foliaire *via* une relation allométrique

La surface foliaire individuelle est estimée grâce à sa longueur de nervure centrale selon une relation allométrique préalablement paramétrée à partir de scans de feuilles (partie 2.4.1) :

$$SF = a \times LN^2 + b \times LN \quad (\text{eq. 7})$$

où SF (cm^2) et LN (mm) sont respectivement la surface et la longueur de la nervure principale de la feuille, et a et b sont deux coefficients dépendant de l'espèce et variété. Dans le cas de la *Microvigne*, $a = 0.0096$ et $b = 0.1343$ (Luchaire *et al.*, 2013).

II.5 Limites et perspectives d'amélioration

Le flux d'air entrant dans les chambres est une variable indispensable et déterminante tant pour le calcul de la photosynthèse, que pour la respiration et la transpiration. Les capteurs de pression utilisés sont dans notre cas moins précis que des anémomètres. Une des prochaines étapes consiste donc à remplacer ces capteurs par des sondes plus adéquates.

Bien que la pression atmosphérique P (présente dans les équations 1, 3 et 6) ait une influence mineure sur le calcul des échanges gazeux, une valeur fixe à 1013 hPa entraîne une légère perte de précision. L'installation d'un capteur de pression atmosphérique est donc envisagée.

A ce jour, il est impossible de réguler le taux de CO_2 dans les chambres d'assimilation. Une attention toute particulière est donc portée sur ce point, et différentes pistes sont envisagées. Une chambre de culture où le taux de CO_2 serait ajustable et d'où serait extrait l'air vers les chambres d'assimilation pourrait être créée. Le développement d'un dispositif de régulation du CO_2 intégré au système est également envisagé.

Le Polyméthacrylate de méthyle, exposé à un fort rayonnement et à des températures élevées, a tendance à devenir opaque avec le temps. Ce phénomène n'a pas encore été observé sur nos enceintes après plus de 300 heures d'utilisation. Cependant des mesures de spectrophotométrie doivent être

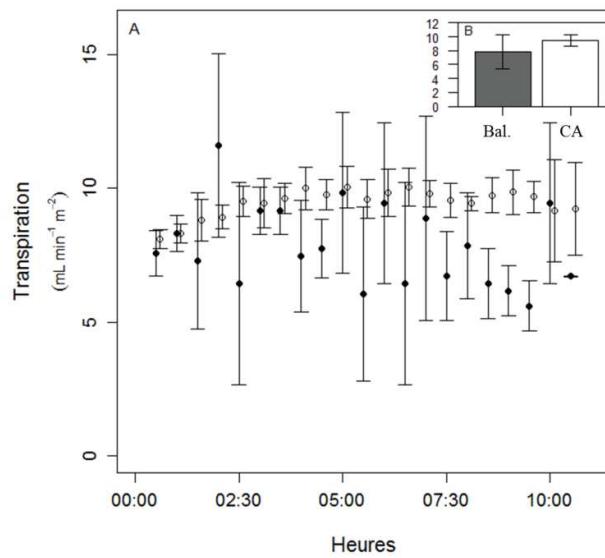


Figure 8 : Transpiration d'un colza mesurée avec une chambre d'assimilation et avec une balance. La transpiration a été mesurée pendant dix heures de jour en chambre de culture. Sur la figure A, chaque point correspond à la moyenne de transpiration (mL H₂O min⁻¹ m⁻²) de trois colzas sur une période de 30 minutes. Les cercles transparents et noirs correspondent respectivement aux mesures réalisées avec la chambre d'assimilation et avec la balance. La figure B montre la moyenne de la transpiration w (mL H₂O min⁻¹ m⁻²) mesurée avec la balance (Bal., en gris) et avec la chambre d'assimilation (CA, en blanc) pendant les 10 heures de mesures. Les barres d'erreur correspondent aux écart-types.

réalisés régulièrement afin de suivre le vieillissement de nos enceintes et pouvoir ainsi les renouveler quand nécessaire.

La méthode d'« inversion d'échantillonnage » (voir partie 2.2) remplit pleinement son rôle, cependant il est possible de monter en option sur le CIRAS DC un « Probe connector », qui permet entre autre de déclencher l'auto-calibration de l'analyseur en envoyant un signal 5 volts. Ainsi il serait possible de définir cette auto-calibration à intervalles de temps connus et réguliers (à chaque changement de chambre par exemple) et d'arrêter les autres mesures pendant cette étape (environ 3 minutes). L'« inversion d'échantillonnage » deviendrait ainsi inutile sans qu'il soit nécessaire de procéder à un nettoyage manuel des données.

III. Résultats et discussion

III.1 Validation des mesures de transpiration

Afin de s'assurer de la conformité du système, 3 colzas ont été placés successivement dans une chambre d'assimilation. Les variations du poids des plantes ont été continuellement enregistrées grâce à une balance positionnée dans la chambre d'assimilation. La transpiration a été mesurée en condition diurne sur 3 colzas et a été convertie en millilitres en utilisant la masse molaire et la densité de l'eau. Ces valeurs ont ensuite été comparées à la transpiration mesurée avec une balance puis moyennée toutes les 30 minutes (figure 8A) et au bout de 10 heures de mesures (figure 8B). Les deux méthodes présentent des résultats similaires, ce qui prouve l'adéquation du système à mesurer la transpiration des plantes. Cependant, la chambre d'assimilation semble surestimer les flux d'eaux (figure 8B) mais présente des valeurs plus stables (figure 8A).

III.2 Photosynthèse et respiration aux échelles plante entière et foliaire chez la *Microvigne* pour différents gradients thermiques

L'expérimentation a été réalisée dans une chambre de culture dont le volume est de 12 m³ après une phase de développement des plantes jusqu'à une quarantaine de feuilles en serre. Son but était de comparer la photosynthèse et la respiration de la *Microvigne* aux échelles plante entière et foliaire à différents paliers de température (de 15 à 30°C pendant la nuit et de 20 à 35°C pendant la journée). Les *Microvignes* étudiées durant cette expérimentation ont été réduites à un axe unique, et leurs organes reproducteurs ont été éliminés au fur et mesure de leur apparition. Ces dernières ont été irriguées automatiquement à leur capacité au champ (1.45 g H₂O g⁻¹ de sol sec) toutes les quatre heures.

Les mesures à chaque palier ont été effectuées pendant 24 heures avec une photopériode de 14h. Des valeurs fixes de VPD de 2 kPa, un PAR de 560 μ mol de photons m⁻² s⁻¹ à hauteur d'apex pendant la période diurne ont été imposées. Pour les mesures d'échanges gazeux plante entière, une chambre a été laissée vide (chambre 4) afin de corriger la présence de fuites éventuelles du système. Le temps de mesure passé sur chaque chambre a été fixé à vingt minutes. Les parties aériennes des plantes ont été isolées des pots en emballant ces derniers avec plusieurs couches de film alimentaire étirable pour éliminer les flux de carbone (et d'eau) en provenance du substrat et du système racinaire. Le taux de CO₂ de référence a été constant tout au long de l'expérimentation, à savoir une concentration moyenne de 390 ppm.

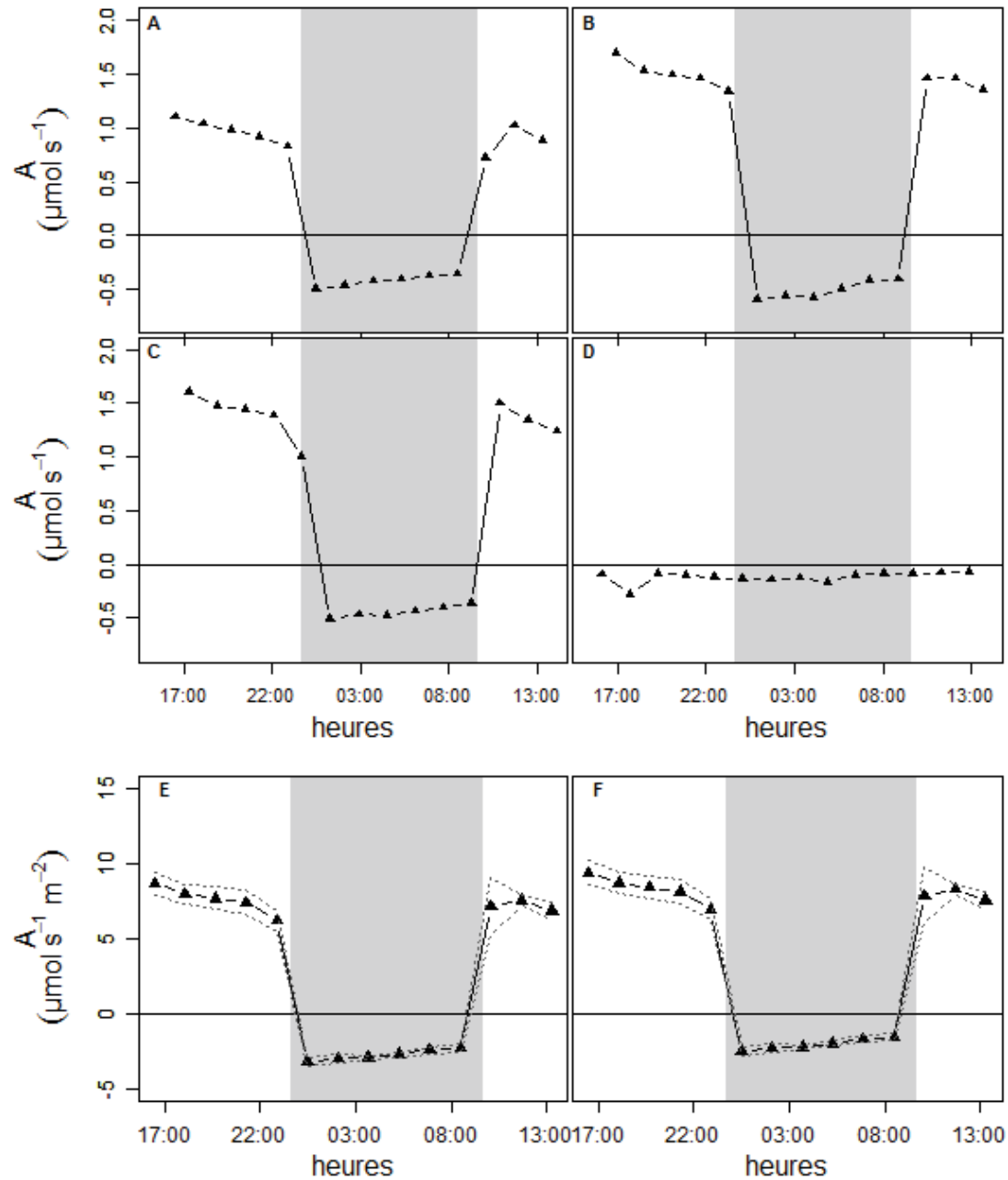


Figure 9 : Photosynthèse et respiration à l'échelle plante entière de 3 Microvignes. Les mesures de d'assimilation de CO₂ ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ s}^{-1}$) présentées ont été effectuées sur une période de 24 heures avec une température de 25°C/15°C (jour/nuit) dans les chambres 1 (A), 2 (B), 3 (C) and 4 (D). La chambre 4 est restée vide pendant les mesures. Les figures E et F présentent la moyenne des échanges de CO₂ ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) pour les chambres 1 à 3 avant (E) et après (F) avoir corrigé les valeurs avec les données de la chambre 4 . Chaque point représente la moyenne sur une période de 20 minutes et lignes en pointillés les écart-types. Les zones grisées correspondent à la phase obscure.

III.2.1 Evolutions journalières de la photosynthèse et de la respiration à l'échelle plante entière

Les évolutions de la photosynthèse et de la respiration de 3 plantes pour un exemple de journée de mesures à 25°C le jour et 15°C la nuit sont représentées dans la figure 9. On peut observer qu'au cours de 24 heures d'enregistrement, les valeurs mesurées dans la chambre vide (chambre n°4) fluctuent très peu et sont proches de zéro. Dans les autres chambres, la photosynthèse décroît lentement pendant la phase diurne. Pendant la phase obscure, les valeurs de photosynthèse sont négatives et correspondent à la respiration des plantes. La photosynthèse et la respiration par unité de surface foliaire ont été obtenues *via* une relation allométrique selon Luchaire *et al.*, 2013, puis moyennées pour les 3 plantes avant et après correction par la valeur moyenne de la chambre vide (respectivement figure 9E et 9F). De légères augmentations de la photosynthèse et des réductions de la respiration sont observées après cette correction.

III.2.2 Comparaison des réponses de la photosynthèse et de la respiration à la température aux échelles plante entière et foliaire.

Avant chaque série de mesures dans les chambres d'assimilation, la photosynthèse et la respiration de portions de feuilles ont été déterminées sur six plantes à l'aide de la pince du LICOR® LI-6400XT pro (LiCor®, Lincoln, Neb. USA) équipée d'une chambre de mesure rectangulaire d'une surface de 6 cm² (figure 10).

Ces mesures ont été effectuées sur des feuilles à des stades de développement contrastés, situées aux rangs cinq (Indice Plastochronique 5, PI 5), dix (PI 10) et vingt-cinq (PI 25) en partant de l'apex et à différents paliers de températures (20, 25, 30, 35°C pendant le jour et 15, 20, 25, 30°C la nuit). La photosynthèse a tendance à diminuer avec l'augmentation de la température quel que soit le PI observé. Aucune différence significative ($P_{\text{value}} > 5\%$) n'a été détectée entre les différents PI à chaque palier. L'absence d'effet PI, qui va à l'encontre des travaux de Zufferey *et al.* (2000), peut s'expliquer par le fait que l'appareil photosynthétique des plus jeunes feuilles mesurées était déjà fonctionnel. Quel que soit le palier de température observé la respiration nocturne est significativement supérieure pour les jeunes feuilles (PI5) par rapport aux pour les feuilles matures (PI10 et 25), ce qui va, dans ce cas, dans le sens des travaux de Zufferey *et al.* 2000 (figure 11b, $P_{\text{value}} < 0.1\%$). Cependant, bien que présentant des valeurs différentes, les réponses de la respiration des feuilles d'âges différents à la température est similaire. En effet, celle-ci suit la même pente quels que soit le PI ($P_{\text{value}} > 5\%$).

III.2.3 Les mesures d'échanges de CO₂ sont-elles similaires à l'échelle plante entière et foliaire?

Les mesures ont été effectuées avec le système de chambre d'assimilation multiplexé aux mêmes paliers de température que pour les mesures à l'échelle foliaire. Comme pour les mesures réalisées avec la pince du LICOR, l'élévation de la température tend à diminuer la photosynthèse et à augmenter la respiration (figure 12).



Figure 10: LICOR© LI-6400XT pro (LiCor©, Lincoln, Neb. USA).

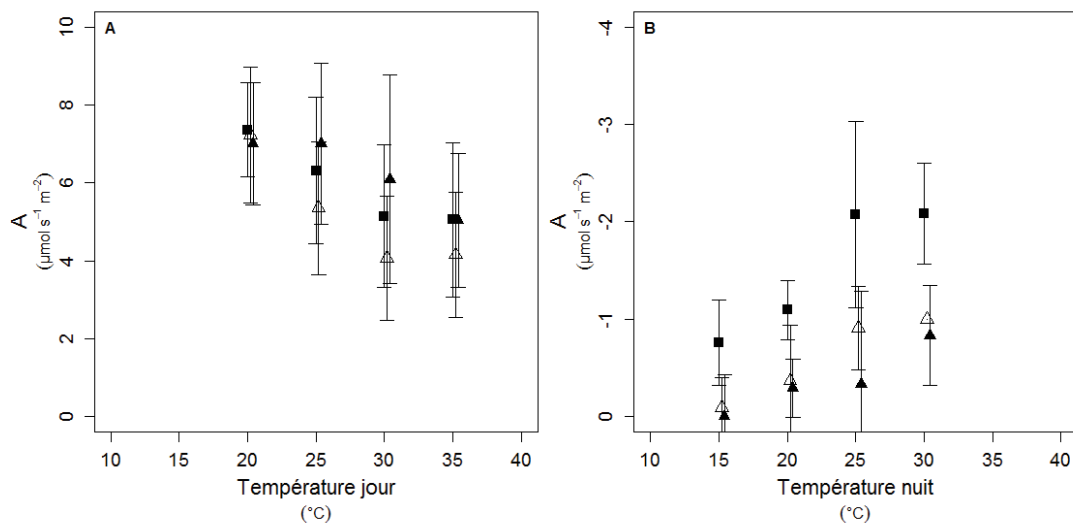


Figure 11 : Réponses de la photosynthèse (A) et de la respiration (B) de la Microvigne à la température mesurées à trois Indices Plastochronique via la pince du LICOR©. Les données sont exprimées en $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. PI 5, 10, 25 sont respectivement représentés par des carrés noirs, des triangles vides et des triangles pleins. Chaque point représente la moyenne de 6 plantes par PI. Les barres d'erreur représentent les écart-types.

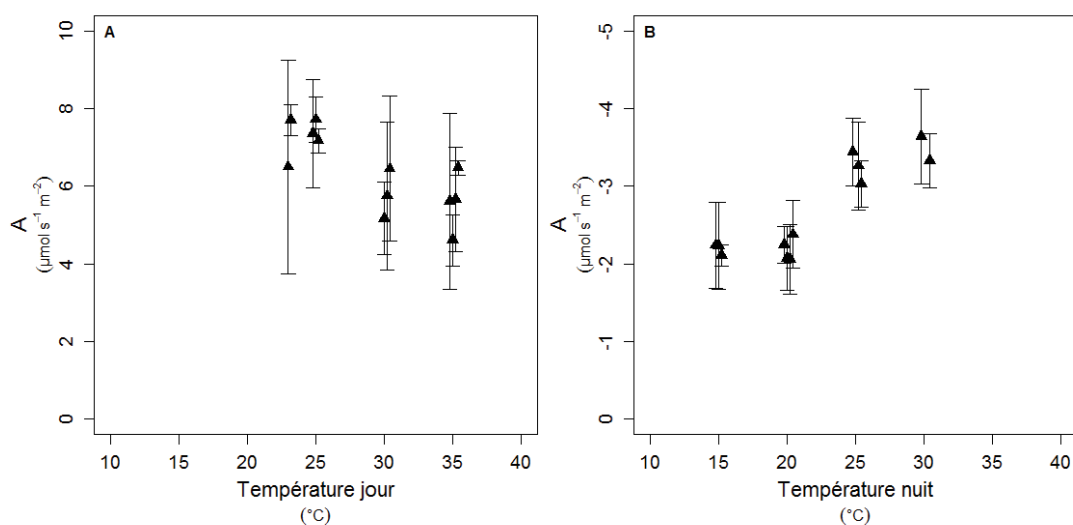


Figure 12 : Réponses de la photosynthèse (A) et de la respiration (B) de la Microvigne à la température mesurées à l'échelle plante entière. Les données sont exprimées en $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Chaque point représente la moyenne de trois plantes par jour de mesures. Les barres d'erreurs représentent les écart-types.

Les échanges gazeux à l'échelle plante entière et foliaire ont ensuite été comparés (figure 13). Les valeurs mesurées sur feuilles ont été intégrées à l'échelle plante entière en prenant en compte une valeur unique pour la photosynthèse quel que soit le rang de feuille mais une valeur dépendante du rang pour la respiration. Les valeurs de photosynthèse sont très proches d'une méthode à l'autre même si les valeurs à l'échelle plante entière sont légèrement plus grandes (16% en moyenne, figure 13A). Cela peut être expliqué par l'activité photosynthétique plus faible des feuilles les plus âgées. À l'inverse, les mesures avec la pince semblent fortement sous-estimer la respiration de la plante entière (figure 13B). Cette différence est sûrement due à la respiration d'autres organes que les feuilles comme la tige, les pétioles et les bois qui représentent 50% de la biomasse aérienne (Smart, 2004).

IV. Conclusion

Un système permettant de mesurer la photosynthèse nette et la respiration en dynamique et à l'échelle de la plante entière a été développé. Le système est adapté aux expérimentations sur plantes en pot en conditions contrôlées, semi-contrôlées et en extérieur. La photosynthèse nette et la respiration peuvent être mesurées sur quatre plantes simultanément. À la différence des prototypes existants, les chambres ont été conçues ici sur la base d'emboîtement de cylindres amovibles, afin de pouvoir s'adapter à la surface foliaire et au volume du matériel végétal expérimenté.

Les chambres ont été testées en conditions de culture contrôlées sur deux espèces végétales, la *Microvigne* et le colza. Ces premiers tests nous ont servi à définir un protocole permettant d'optimiser la fiabilité des mesures d'échanges gazeux (corrections par des mesures sur pot sans plante et dans une chambre vide) et de minimiser leurs fluctuations (adaptation du flux d'air entrant et des plages de mesures au moment de la récupération du signal analogique selon le matériel végétal). Des améliorations du système sont par ailleurs proposées pour augmenter la précision des mesures comme l'utilisation d'anémomètres à la place des capteurs de pression et la mise en place d'un dispositif de stabilisation du taux de CO₂ dans les chambres. D'autres améliorations sont proposées pour faciliter la gestion des données de sorties, par exemple le déclenchement de l'auto-calibration à intervalles connus et réguliers grâce à un Probe connector. Le système a répondu positivement aux attentes des expérimentateurs sur les deux espèces végétales présentées et des essais récents sont en cours d'analyse sur maïs. Le système développé est novateur pour la conduite d'expérimentations en conditions climatiques contrôlées. Il devrait permettre de tester de nouvelles hypothèses de recherche sur l'impact des changements climatiques (variations individuelles ou combinées de la température, du VPD et du CO₂) sur le bilan carboné et l'efficacité d'utilisation de l'eau des cultures à coût réduit (annexes, partie 7.4).

V. Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Jorge Pietro, Olivier Turc, Thierry Simonneau Éric Lebon pour le partage de leurs connaissances et de leur expérience. Merci aussi à Jean-Marc Bonnefond pour la formation sur CR1000 qu'il nous a délivré. Nous remercions également Julien Lopez et Anthony Rosello pour son appui technique ainsi que Christine Granier, Maryline Lièvre, Léa Tardieu et Alain Bédiée pour leur relecture et leurs précieuses modifications.

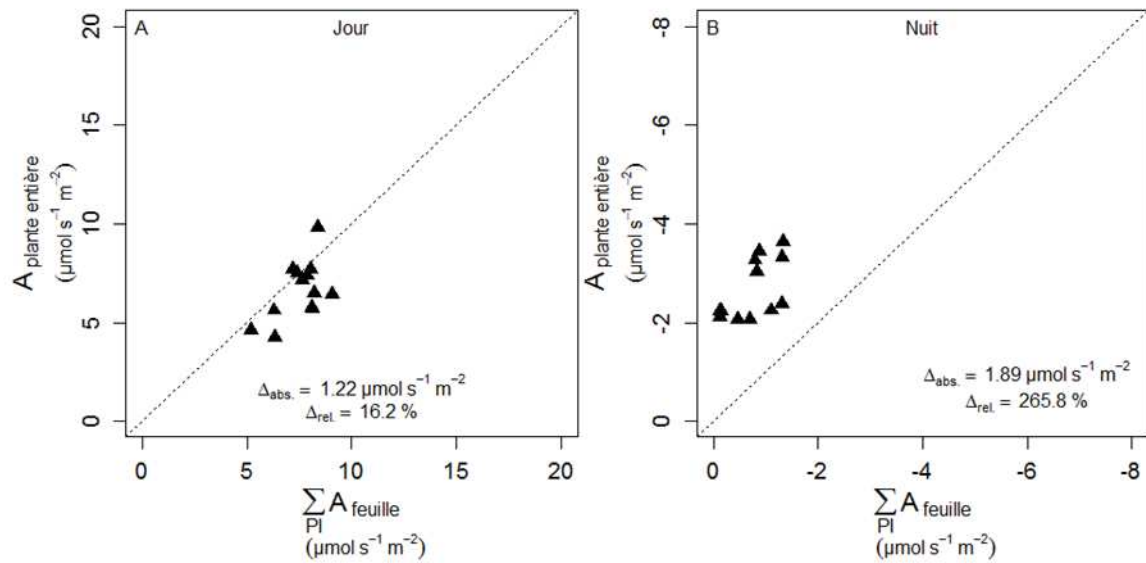


Figure 13 : Relation entre les échanges de CO₂ à l'échelle plante entière mesurée et estimée via les mesures sur feuilles. Chaque point représente la moyenne de trois plantes pour chaque palier thermique exprimé $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Les valeurs estimées sont obtenues à partir des mesures effectuées sur feuilles et calculées comme étant la somme des échanges de CO₂ de tous les PI normalisés par la surface foliaire totale. La pente 1 :1 est représentée par la ligne en pointillés. $\Delta_{\text{abs.}}$ et $\Delta_{\text{rel.}}$ correspondent respectivement à la moyenne absolue et relative de l'écart à la droite 1 :1.

VI. Bibliographie

- Centinari M., Poni S., Filippetti I., Magnanini E., Intrieri C.** (2009) Evaluation of an open portable chambre system for measuring cover crop water use in a vineyard and comparison with a mini lysimeter approach. *Agricultural and Forest Meteorology* 149, 1975-1982.
- Daudet A.** (1987) Un système simple pour la mesure *in situ* des échanges gazeux de couverts végétaux de quelques mètres carrés de surface foliaire. *Agronomie* 7(2), 133-139.
- Farquhar, G.D., von Caemmerer, S., Berry, J.A.** (1980). Abiochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C₃ species. *Planta* 149, 78-90.
- Flexas J., Galmés J., Gallé A., Gulias J., Pou A., Ribas-Carbo M., Tomàs M., Medrano H.** (2010) Improving water use efficiency in grapevines: potential physiological targets for biotechnological improvement. *Australian Journal Of Grape and Wine Research* 16 (s1), 106-121.
- Lambers H, Freijesen N, Poorter H, Hirose T, Van der Werf A** (1989) Analyses of growth based on net assimilation rate and nitrogen productivity. Their physiological background. In: H Lambers, ML Cambridge, H Konings, TL Pons, eds, *Causes and Consequences of variation in Growth Rate and Productivity of Higher Plants*, SPB Academic Publishing, The Hague, 1-17.
- Louarn G., Lecoœur J., Lebon E.** (2008) A 3D statistical reconstruction model of grapevine (*Vitis vinifera* L.) simulating canopy structure variability within and between cultivars/training system pairs. *Annals of Botany* 101, 1167-1184.
- Luchaire N., Rienth M., Nehe A., Torregrosa L., Romieu C., Muller B., Pellegrino A.** (2013) The *microvine*: an ecophysiological model for grapevine. In: Queiroz J, Carneiro A, editors. *Proceedings 18th International Symposium GiESCO, 2013, Porto. Ciencia e Tecnica Vitivinicola*, 788-794.
- Perez-Peña J, Tarara J** (2004) A portable whole canopy gas exchange system for several mature field-grown grapevines. *Vitis* 43 (1), 7-14.
- Poni S., Magnanini E. et Rebucci B.** (1997) An automated chamber system for measurements of whole-vine gas exchange. *HortScience* 32 (1), 64-67.
- Poni S., Bernizzoni F. et Civardi S.** (2008) The effect of early leaf removal on whole-canopy gas exchange and vine performance of *Vitis vinifera* L. 'Sangiovese'. *Vitis* 47 (1), 1-6.
- Prieto J.A.** (2011) Simulation of photosynthesis and transpiration within grapevine (*Vitis vinifera* L.) Canopies based on a 3D architectural model. Application to training system evaluation. Thèse de doctorat, Montpellier SupAgro, 161p.
- Prieto J.A., Louarn G, Perez Peña J, Ojeda H, Simonneau T, Lebon E.** (2012) A leaf gas exchange model that accounts for intra-canopy variability by considering leaf nitrogen content and local acclimation to radiation in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Plant Cell and Environment*, 35 (7), 1313-1328.
- Smart D.R.** (2004) Exposure to elevated carbon dioxide concentration in the dark lowers the respiration quotient of *Vitis* cane wood. *Tree Physiology* 24, 115-120.
- Zufferey V, Murisier F, Schultz HR, others:** A model analysis of the photosynthetic response of *Vitis vinifera* L. cvs Riesling and Chasselas leaves in the field: I. Interaction of age, light and temperature. *Vitis* 2000, 39:19-26.

VII. Annexes

VII.1 Récupération du signal analogique

Le paramétrage pour récupérer le signal analogique se fait en deux temps. La première étape s'effectue au niveau de l'analyseur. Aller dans File/préférence. Cliquer sur l'onglet « Edit Parameters ». La fenêtre « CIRAS-SC/DC Parameters » s'ouvre (figure 14). C'est ici qu'on renseignera l'analyseur sur la plage de mesure dans laquelle l'étude se déroulera. Dans le cas présent, le taux de CO₂ de l'air doit être compris entre 350 et 550 ppm, et le différentiel peut aller jusqu'à 40 (entre -20 et +20 ppm), la pression partielle d'H₂O doit être comprise entre 5 mbar et 25 mbar et le plus grand différentiel mesurable est de 10 (entre -5 et +5 mbar). En dehors de ces gammes de mesures la centrale d'acquisition ne pourra pas restituer les valeurs mesurées par l'analyseur.

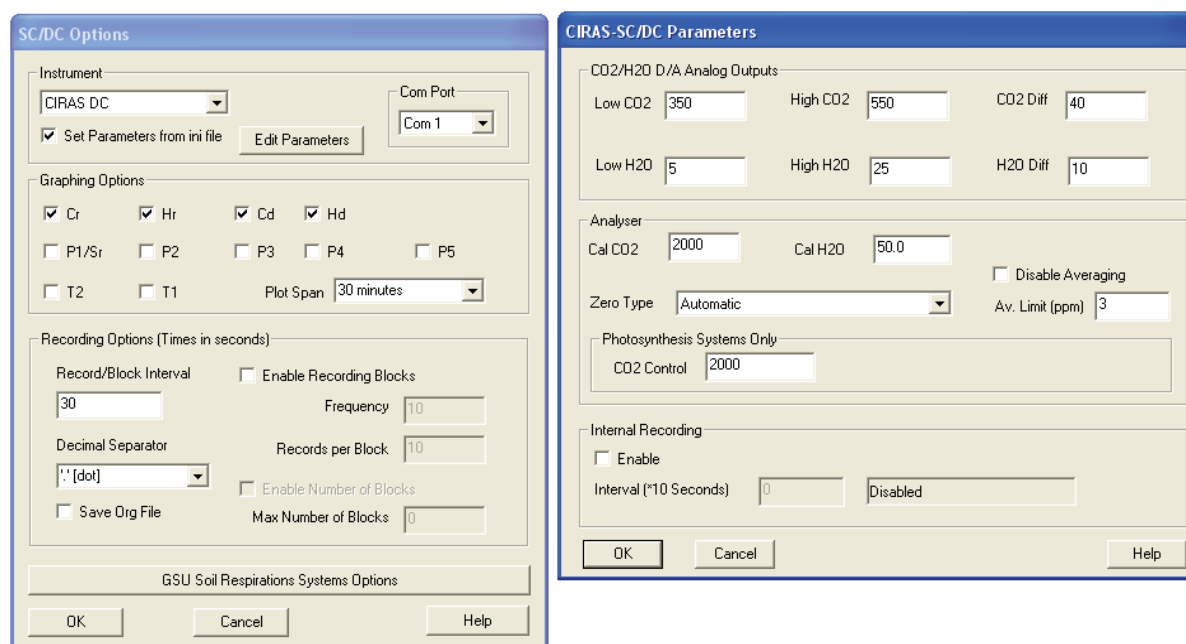


Figure 14 : Paramétrage pour récupérer le signal analogique émis par le CIRAS.

Le signal analogique émis par le CIRAS est compris entre 0 et 5000 millivolts. La seconde étape consiste à entrer dans la CR1000 les coefficients et offsets, concernant la plage de mesure CO₂ et H₂O ainsi que leurs plages de différentiel, qui permettront de reconverter les millivolts émis par l'analyseur en ppm pour le CO₂ et en mbar pour le H₂O.

Les plages de mesures se définissent ainsi :

$$V = \frac{(x-y)}{(z-y)} \times 5000 \quad (\text{eq.8})$$

où V représente le voltage (en millivolts) émis par le CIRAS, x le taux de CO₂ dans l'air qu'on cherche à mesurer, y le taux de CO₂ minimal mesurable et z le taux de CO₂ maximal mesurable.

x peut également représenter la pression partielle d'H₂O qu'on cherche à mesurer, y la pression partielle minimale mesurable et z la pression partielle maximale mesurable.

Ainsi:

$$x = V \times \frac{(z-y)}{5000} + y \quad (\text{eq.9})$$

Selon la figure 17 et pour le CO₂ :

$$x = V \times \frac{200}{5000} + 350 = 0,04V + 350 \quad (\text{eq.10})$$

Le coefficient à appliquer pour le CO₂ est donc 0,04 et l'offset est 350.

Le même calcul est réalisé pour la pression partielle de vapeur d'eau :

$$x = V \times \frac{20}{5000} + 5 = 0,004V + 5 \quad (\text{eq.11})$$

Le coefficient à appliquer pour l'H₂O est donc 0,004 et l'offset est 5.

Les différentiels se calculent ainsi :

$$V = \frac{x}{diffmax} \times 2500 + 2500 \quad (\text{eq.12})$$

Où *diffmax* est la valeur maximale du différentiel de CO₂ mesurable (en positif comme en négatif).

diffmax peut également représenter la valeur maximale du différentiel d'H₂O mesurable (en positif comme en négatif).

Ainsi :

$$x = \left(\frac{diffmax}{2500} \right) \times (V - 2500) \quad (\text{eq.13})$$

Dans notre cas pour le CO₂:

$$x = \left(\frac{20}{2500} \right) \times (V - 2500) = 0,008V - 20 \quad (\text{eq.14})$$

Le coefficient à appliquer pour le CO₂ différentiel est donc 0,008 et l'offset est -20.

Le même calcul est réalisé pour la pression partielle d'H₂O.

Soit :

$$x = \left(\frac{5}{2500} \right) \times (V - 2500) = 0,002V - 5 \quad (\text{eq.15})$$

Le coefficient à appliquer pour le différentiel de pression partielle de vapeur d'eau est donc 0,002 et l'offset est -5.

VII.2 Armoire comprenant la centrale d'acquisition de données et les variateurs

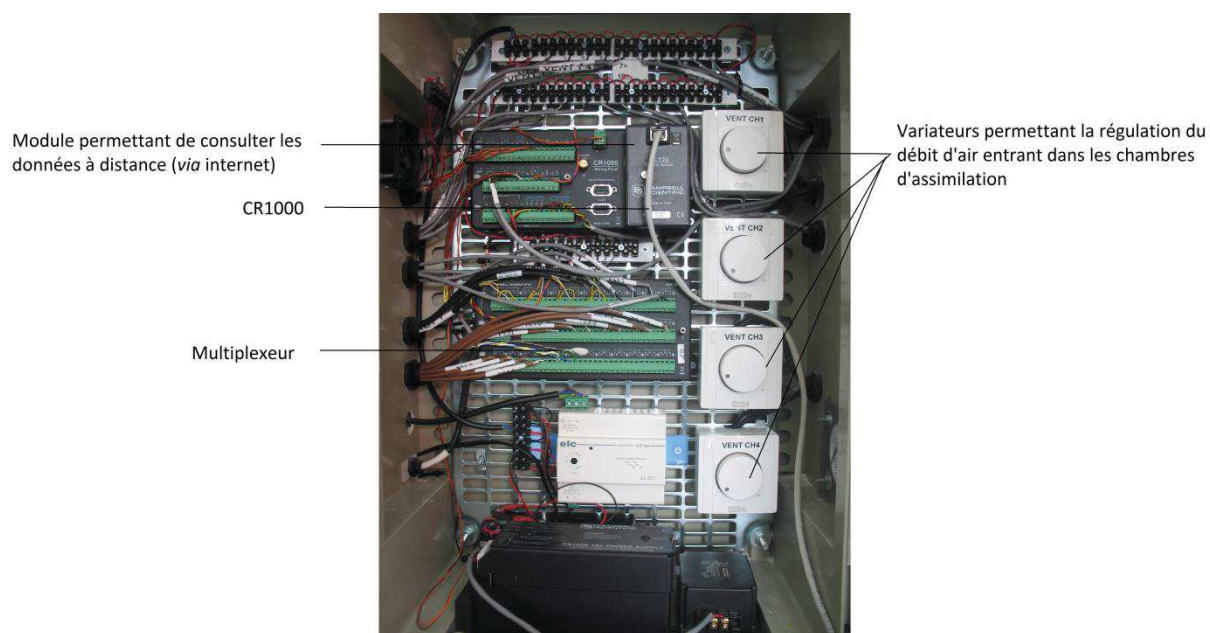


Figure 15 : CR1000 et variateurs permettant de régler le débit d'air entrant dans les chambres.

VII.3 Armoire contenant les électrovannes

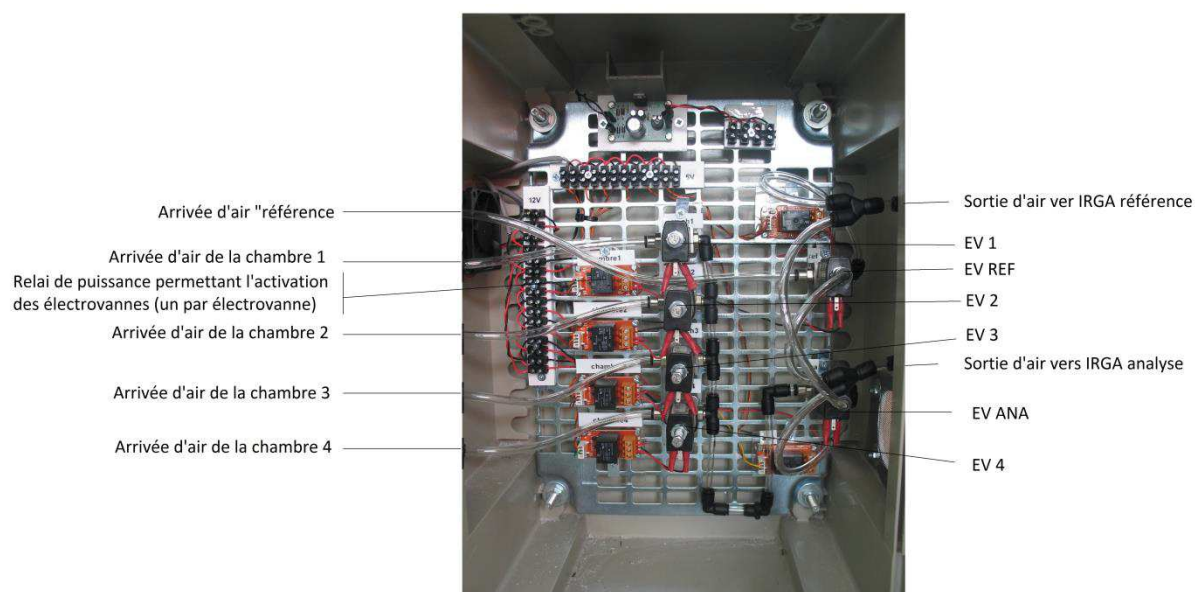


Figure 16 : Armoire contenant les électrovannes.

VII.4 Coût du système

Table 1 : Tableau récapitulatifs du coût du système en euros.

Matériel						Nbre de Chambres			
Par chambre	Qté	P.U	P.T	Fournisseur	ref	X1	X2	X3	X4
cylindre diam 500, H300 XT + demi sphere	1	1182	1182	Plasti-D					
Equerre ventilateur/capteur (X2)	10	4,96	49,6	RS	387-4034				
ventilateur pour capteurs	4	9,5	38	RS	191-503				
Capteur PAR	4	8	32	LEPSE					
Ventilateur chambre	16	11,27	180,32	RS	541-4971				
Rotronic HC2-S	5	220	1100	Rotronic	HC2-S				
Cable rotronic HC2-S	5	198	990	Rotronic	E2-05XX-ACT/01				
tube pvc 125mm flexible 6m	2	77	154	manutan	1824M412				
Ventilateur 330m3/h	4	119	476	econology	002-5974				
regulateur	4	100	400	econology	002-0238				
2 colliers vent/gaine	4	25	100	econology	002-5076				
Capteur de pression	4	120,78	483,12	rs	395-285				
Total			5185,04						
Commun									
Ciras DC	1	9000	9000	PP System					
CR1000	1	1295	1295	Campbell					
Multiplexeur	1	491	491	Campbell					
Tuyau air 0604	1	18,7	18,7	RS	721-4001				
Embouts trav clois (X5)	3	26,61	79,83	RS	327-2343				
Embouts Y	1	27,74	27,74	RS	812-229				
Embouts coude tube tube (X5)	2	16,89	33,78	RS	812-061				
Embouts droit	4	10,78	43,12	RS	812-049				
Embouts coude trav clois	1	37,87	37,87	RS	327-2400				
Tube air 0403	1	12,63	12,63	RS	2508753913				
Embouts 06->04	2	10,63	21,26	RS	326-9101				
Embouts coude tube tube (X5) (4mm)	2	16,09	32,18	RS	812-055				
electrovanne	6	49,4	296,4	Burkert					
ventilateur boitier	2	11,27	22,54	RS	541-4971				
boitier electrique	1	241,9	241,9	RS	251-5481				
grille	1	58,7	58,7	RS	228-8303				
armoire electrovanne	1	183,8	183,8	RS	251-5469				
grille pour armoire electrovanne	1	36,9	36,9	RS	228-8252				
Débimètre	2	481,1	962,2	Fisher instrument					
Total			12895,55			18080,59	23265,63	28450,67	33635,71

Résumé

Dans le contexte de réchauffement climatique, le maintien des rendements est un enjeu majeur pour la filière viticole. L'augmentation des températures impacte négativement certaines phases clés du développement reproducteur en induisant notamment des phénomènes de coulure ou de pertes précoces d'inflorescences. L'altération du bilan carboné pourrait être un facteur majeur des diminutions de rendement en réponse aux températures élevées et l'évaluation de cette hypothèse permettrait d'ajuster les pratiques pour limiter les effets du réchauffement climatique. Si l'implication du bilan de carbone chez les plantes annuelles semble être à la base des baisses de rendement observées ces dernières années, les choses sont beaucoup moins claires chez des pérennes comme la vigne du fait des très nombreux co-facteurs possibles ainsi que de la difficulté à expérimenter dans des conditions totalement contrôlées. Afin de s'affranchir de ces contraintes, notre étude a été réalisée en conditions contrôlées sur la *Microvine*, un mutant naturel insensible à l'acide gibbérellique et un nouveau modèle d'étude pour la génétique et la physiologie de la vigne. Ce mutant présente un phénotype nain et une floraison et fructification continues le long de l'axe proleptique. L'approche utilisée dans cette étude a consisté à (i) développer un cadre d'analyse adapté à la *Microvine*; (ii) décrire l'impact de l'élévation de la température, sur les développements végétatif et reproducteur de la vigne, et plus particulièrement l'avortement des stades précoces du développement reproducteur; (iii) caractériser les changements du bilan de carbone de la *Microvine* induits par la contrainte thermique, et enfin (iv) évaluer l'implication potentielle du bilan de carbone dans les phénomènes d'avortement précoces en réponse au stress thermique. Ce travail a permis de mettre en évidence des phénomènes d'avortement complet d'inflorescences en réponse à l'élévation des températures. Par ailleurs, nous avons pu montrer un rôle du statut carboné dans ce phénomène, soit via les teneurs totales en carbohydrates, soit via l'état global des réserves à l'échelle de la plante. Ce travail montre les potentialités du modèle *Microvine* et ouvre de nouvelles perspectives pour l'analyse des effets des contraintes abiotiques sur le développement végétatif et reproducteur de la vigne.

Mots clés Contrainte thermique, développements végétatif et reproducteur, photosynthèse, bilan de carbone, *Microvine*

Abstract

Global warming is likely to be a major issue for grapevine yield sustainability in the next years. A common hypothesis is that long-term elevated temperatures may cause the failure of key phases of reproductive development, through their negative impact on carbon balance. However, testing the specific role of plant carbon status on yield elaboration under elevated temperatures is difficult on perennial crops, such as grapevine, and when environment fluctuates. To overcome these difficulties, the present work was conducted under fully controlled environment using a natural, gibberellic acid insensitive mutant of grapevine called *Microvine*, as a new model for grapevine genetics and physiological studies. This mutant present a dwarf stature and lack of juvenile characteristics leading to the continuous flowering and fruiting even during the first year after sowing. The present study aimed at (i) developing a framework of analysis for *Microvine*; (ii) describing vegetative and reproductive developments responses to temperature elevation at whole plant level, and more precisely on abortions during early reproductive development ; (iii) characterizing grapevine carbon balance responses to temperature; and finally (iv) evaluating carbon balance implication in temperature-dependent early reproductive development abortion. This work shows that complete inflorescence abortions observed in response to temperature can be related to carbon status, either expressed through total carbohydrate, or through the level of reserves at the whole plant level. This study opens the way to use *Microvine* as model to address the impact of climate warming on grapevine vegetative and reproductive developments.

Keywords Thermal stress, vegetative and reproductive development, photosynthesis, carbon balance, *Microvine*