

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTE

UMR 1131 « Santé de la Vigne et qualité du vin »

INRA-Université de Strasbourg

THÈSE présentée par

Éric DUCHÊNE

soutenue le 12 octobre 2015

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'université de Strasbourg** Discipline/ Spécialité : Sciences
Agronomiques

Une exploration des possibilités génétiques pour l'adaptation de la vigne au changement climatique

Thèse dirigée par

M. RITZENTHALER Christophe

Directeur de recherche, CNRS, Institut de Biologie Moléculaire
des Plantes, Strasbourg

MEMBRES DU JURY

M. LAROCHE Edouard

Mme BONNARD Géraldine

Professeur, Université de Strasbourg, Président du jury

Directrice de recherche, CNRS, Institut de Biologie
Moléculaire des Plantes, Strasbourg, membre interne

M. de MONTIGNY Jacky

M. LEBOURGEOIS

François

Professeur, Université de Strasbourg, membre interne

Maître de conférence HDR, AgroParisTech, Nancy,
membre externe

M. TORREGROSA Laurent

M. VÉZIEN Jean-Louis

Professeur, Montpellier SupAgro, membre externe

Directeur, Comité Interprofessionnel des Vins d'Alsace,
professionnel

Mme HAUG Danielle

Directrice du Service de Validation des Acquis de
l'Expérience, Université de Strasbourg, membre

Le réchauffement global de la planète et ses conséquences sur les milieux naturels et les activités humaines sont une préoccupation majeure. Les effets du changement climatique ont déjà été observés sur la vigne : avancement des stades de développement, augmentation des teneurs en sucres des raisins, et donc des teneurs en alcool des vins, baisse excessive de leur acidité. Les projections du climat du futur pour la France prévoient que la hausse générale des températures devrait se poursuivre, que le nombre de jours très chauds en été devrait augmenter mais les prévisions pour la pluviométrie sont beaucoup plus incertaines. Le changement climatique devrait donc continuer à avoir des impacts sur la vigne et le vin, avec une accentuation vraisemblable du déséquilibre sucres/acides des raisins. L'utilisation de variétés de vigne différentes de celles utilisées actuellement est une des voies d'adaptation au changement climatique, et l'exploration des possibilités existantes constitue l'objet de ce travail.

J'ai pour cela caractérisé la variabilité génétique et phénotypique parmi 120 descendants de croisements entre Riesling (RI) et Gewurztraminer (GW) afin de déterminer si dans cette population il était possible de trouver des génotypes (1) qui soient assez tardifs pour mûrir dans des conditions proches de celles que nous connaissons actuellement afin de préserver leur potentiel d'acidité, voire leur potentiel aromatique (2) dont la capacité à accumuler des sucres dans les raisins soit réduite (3) dont l'acidité des raisins serait peu sensible aux températures élevées pendant la maturation des raisins. Nous avons pour cela obtenus des données sur les stades de développement pendant trois années au vignoble ainsi que sur les teneurs en sucres, les teneurs en acide malique, en acide tartrique et sur le pH des baies.

J'ai mis au point un modèle de prévision des stades de débourrement, floraison et véraison du RI et du GW utilisant uniquement les températures de l'air. L'utilisation de ce modèle avec des données simulant le climat du futur pour le poste de Colmar a permis de quantifier la hausse possible des températures pendant la maturation des raisins. La moyenne des températures maximales pendant les 35 jours qui suivent la véraison du GW pourrait ainsi atteindre 31 °C à l'horizon 2073-2099 au lieu de 24 °C actuellement.

Les paramètres du modèle de développement ont été déterminés pour des variétés des collections de l'INRA Colmar ainsi que pour les génotypes de la population RIxGW. Des données de génotypage de cette population pour 153 marqueurs microsatellites ont permis de calculer des cartes génétiques parentales et une carte consensus. Six QTLs (Quantitative Trait Loci) indépendants ont été détectés : deux pour la durée 15 février-débourrement, deux pour la durée débourrement-floraison, deux pour la durée floraison-véraison. Ce résultat autorise la construction d'un génotype virtuel combinant les caractéristiques des génotypes réels ayant les durées de phase les plus longues. Même

avec ce génotype virtuel, il n'est pas possible de retrouver dans le futur des conditions de températures pendant la maturation des raisins similaires à celles que nous connaissons actuellement.

Les intervalles de confiance pour la position des QTLs ont été positionnés sur la séquence complète du génome de la vigne (PN40024, 12x). Des gènes candidats susceptibles de participer à la variabilité génétique des durées de phase de développement ont ainsi été identifiés. On peut citer pour la floraison *FT* sur le chromosome 7, *FLC2* ainsi qu'un gène de type *CONSTANS* sur le chromosome 14. Pour la véraison, deux gènes impliqués dans les réponses à l'acide abscissique (ABA) ou aux sucres sont proposés: un récepteur d'ABA sur le chromosome 16 et *VvMSA*, gène la famille ASR (« ABA, stress, ripening-related ») sur le chromosome 18.

Pour l'évaluation de la variabilité génétique pour la capacité à accumuler des sucres et pour l'acidité des raisins, trois années de suivi bi-hebdomadaires de la maturation des raisins pour les parents RI et GW ont permis de justifier l'intérêt d'un prélèvement à une somme de température fixe après la véraison pour la population RIxGW. Cette méthodologie permet de différencier l'effet des stades de développement et du rapport fruit/feuille des plantes sur les teneurs en sucres finales des raisins. Un QTL pour la capacité à accumuler des sucres a ainsi pu être détecté.

Une forte variabilité génétique pour le pH, les teneurs en acide malique ([Malique]) et en acide tartrique ([Tartrique]) a été mise en évidence, aussi bien pour des baies vertes à la véraison, que des baies prélevées 230 °C.d plus tard. Il existe en particulier une ségrégation pour le ratio $\frac{[Tartrique]}{[Tartrique]+[Malique]}$, ce qui est potentiellement utile dans le cadre de l'adaptation au changement climatique. En effet j'ai montré grâce aux cinétiques sur les parents que les quantités d'acide tartrique par baie sont constantes pendant la maturation, alors que celles d'acide malique décroissent d'autant plus rapidement que les températures sont élevées. Un ratio $\frac{[Tartrique]}{[Tartrique]+[Malique]}$ élevé réduit par conséquent les variations d'acidité en fonction des températures, et peut donc être vu comme un critère d'adaptation au changement climatique. Des QTLs pour ce caractère ont été mis en évidence.

Il apparaît en conclusion que la variabilité génétique pour les paramètres de l'acidité des raisins est la principale voie à valoriser pour l'adaptation de la vigne au changement climatique.

Mots clés

Vigne, changement climatique, phénologie, teneurs en sucres, acidité, acide malique, acide tartrique, QTLs, déterminisme génétique

Je tiens en premier lieu à remercier Didier Merdinoglu, animateur de l'équipe « Génétique et amélioration de la Vigne » à l'INRA Colmar. C'est lui qui a initié les programmes de génétique quantitative sur la vigne à Colmar et qui a programmé la création de descendants de croisement entre Riesling et Gewurztraminer, avant mon intégration dans son équipe. C'est également lui qui m'a formé à la construction de cartes génétiques et à la recherche de QTLs. Sans sa volonté de créer des populations pour étudier des caractères en ségrégation et ses compétences en génétique, les résultats présentés ici n'existeraient pas.

L'appui technique de Vincent Dumas pour la gestion et le suivi du matériel végétal, de Gisèle Butterlin pour l'obtention des données de génotypage et de Nathalie Jaegli pour l'obtention des données analytiques a été essentiel. Sans eux, l'acquisition de données sur des centaines de génotypes sur plusieurs années n'aurait pas été possible. Leur fiabilité, leur motivation et leur implication dans le programme en ont fait et en font encore des collaborateurs irremplaçables.

Je remercie Frédérique Pelsy, directrice de mon unité de recherche et présidente du centre INRA de Colmar non seulement pour ses encouragements à préparer ce diplôme de doctorat, mais aussi pour son immense disponibilité.

Il va sans dire que mon environnement de travail a été un atout indéniable, que ce soit pour la bonne humeur au sein de l'équipe au jour le jour, pour l'appui du service d'expérimentation agronomique et viticole de l'INRA Colmar et plus largement pour la diversité des compétences que l'on peut rencontrer au sein de l'INRA.

Je remercie Christophe Ritzenthaler d'avoir été mon référent pour préparer ce travail ainsi que tous les membres du jury qui ont bien voulu s'investir dans son évaluation.

Enfin, j'aurais une attention particulière pour mon épouse Anne-Marie. Elle m'a motivé pour préparer ce diplôme et, sans elle, de nombreuses questions autour des mystères de la biologie moléculaire seraient restées sans réponse. C'est cependant avant tout son apport structurant à un équilibre personnel auquel je veux rendre hommage ici.

« Une exploration des possibilités génétiques pour l'adaptation de la vigne au
changement climatique »

Table des matières

I. Introduction.....	11
A. Contexte	11
B. La vigne: biologie et écophysiologie	12
1. <i>Un peu d'histoire</i>	12
2. <i>Organes et organisation de la plante</i>	13
3. <i>Le cycle de développement végétatif</i>	15
4. <i>Le développement reproducteur: de la fleur à la baie mûre</i>	15
5. <i>La composition et les caractéristiques des raisins</i>	16
6. <i>Les déterminants du cycle de développement</i>	19
C. Le changement climatique et la vigne	23
1. <i>Contexte</i>	23
2. <i>Une avancée des stades de développement</i>	31
3. <i>Des incertitudes sur la productivité</i>	32
4. <i>Effets sur la composition des raisins et des vins</i>	34
D. Quelles sont les voies d'adaptation possibles de la viticulture au changement climatique ?	36
E. Génétique de la vigne	38
1. <i>Structure du génome et sources de variabilité</i>	38
2. <i>Mise en évidence des relations entre génotypes et phénotypes</i>	39
F. La variabilité génétique et l'adaptation au changement climatique	44
1. <i>Phénologie</i>	44
2. <i>Utilisation de l'eau</i>	44
3. <i>Qualité de la baie</i>	45
G. Problématique	47
II. Matériel et méthodes	49
A. Matériel végétal	49
B. Dispositifs expérimentaux	50
1. <i>Dispositif 2003</i>	50
2. <i>Dispositif 2006</i>	50
C. Observations, mesures et notations.....	51
1. <i>Phénologie</i>	51
2. <i>Rapport fruit/feuille</i>	52

3. Teneurs en sucres et acidité des raisins	53
D. Génotypage	54
E. Établissement des cartes génétiques.....	54
F. Recherche de QTLs	55
III. Les stades de développement	56
A. « The challenge of adapting grapevine varieties to climate change »	58
1. Résumé de l'article	58
2. Article.....	63
3. Actualisation.....	75
B. « Towards the adaptation of grapevine varieties to climate change: QTLs and candidate genes for developmental stages ».....	81
1. Résumé de l'article	81
2. Article.....	85
3. Actualisation.....	98
IV. Les teneurs en sucres: « Deciphering the ability of different grapevine genotypes to accumulate sugar in berries »	110
1. Résumé de l'article	110
2. Article.....	113
3. Actualisation.....	123
V. L'acidité: « Genetic variability of descriptors for grapevine berry acidity in Riesling, Gewürztraminer and their progeny »	128
1. Résumé de l'article	128
2. Article.....	131
3. Actualisation.....	140
VI. Conclusion générale et perspectives	144
VII. Références	150
VIII. Annexes	167
A. Annexe 1: Plan du dispositif RixGW 2003.....	167
B. Annexe 2: Plan du dispositif RixGW 2006.....	169
C. Annexe 3: Liste des variables mesurées sur le dispositif 2003.....	171
D. Annexe 4: Cartes génétiques (données supplémentaires de Duchêne et al. 2012b)	173

cM:	centiMorgan (unité de distance génétique)
°Brix:	Degré Brix, unité donnée par un réfractomètre, mesurant les concentrations en composés solubles (Total Soluble Solids), on l'utilise pour estimer les teneurs en sucres des raisins.
°C.d:	degrés.jours
ha:	hectare
hl:	hectolitre
kb	kilobases
Mt:	millions de tonnes
Pb :	paire de bases (sur l'ADN)

Abréviations et acronymes

ABA:	Abscissic Acid (Acide abscissique)
ADN :	Acide désoxyribonucléique
Agreste :	Structure chargée des statistiques agricole dépendant du Ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt
AIC:	Akaike Information Criterion
BIC:	Bayesian Information Criterion
BLAST :	Basic Local Alignment Tool (outil d'alignement de séquences)
CNRM :	Centre National de Recherches Météorologiques
DOY:	Day of year
Faostat :	structure chargée des statistiques pour la FAO (Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture)
FEVS :	Fédération des Exportateurs de Vins et Spiritueux de France
FranceAgrimer :	Etablissement national des produits de l'agriculture et de la mer, établissement public administratif placé sous la tutelle du ministère en charge de l'agriculture.
GBS:	Genotyping by Sequencing
GCM:	General Circulation Model
GES:	Gaz à effet de serre
GIEC:	Groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat (IPCC en Anglais)
GW:	Gewurztraminer
GWA :	Genome wide association (genetics)
HS_Tmean:	Somme de températures journalières moyennes base 10 °C
HS_Tmax:	Somme de températures journalières maximales base 10 °C

INSEE : Institut National de la statistique et des études économiques

IPCC: Intergovernmental Panel on Climate Change

JC: Jésus-Christ

LG: Linkage group (groupe de liaison)

NCBI: National Center for Biology Information

OIV : Organisation Internationale de la Vigne et du Vin

ONERC : Observatoire National sur les Effets du Réchauffement Climatique

PCR: Polymerase Chain Reaction

PEPC : Phosphoénol Pyruvate Carboxylase

RCP: Representative Concentration Pathway

RI: Riesling

RIxGW: Population des descendants des croisements entre Riesling et Gewurztraminer

SFE: Surface foliaire exposée

SNP: Single Nucleotide Polymorphism

SRES: Special Report on Emission Scenarios

SSR: Simple Sequence Repeat

QTL: Quantitative Trait Locus

TDN : 1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaphtalene

TSS: Total Soluble Solids, mesure en °Brix d'un angle de réfraction de la lumière par un liquide permettant d'estimer des teneurs en sucres

WRF : Weather Research & Forecasting Model

Lexique

Apyrène: absence de pépins

Débourrement: apparition des jeunes feuilles au printemps

Efficacité : part de la variabilité totale d'une variable expliquée par un modèle

Entrecœur: pousse latérale sur un rameau de vigne

Fertilité: nombre d'inflorescence par rameau

Mérithalle : Partie de tige entre deux nœuds successifs sur le rameau

Phénologie: description des stades de développement, essentiellement débourrement, floraison et véraison pour la vigne

Véraison: début de maturation des raisins, caractérisé par un ramollissement et la coloration des baies pour les variétés colorées.

Tableau I.1 : Description des scénarios SRES (p. 26).

Tableau I.2 : Caractéristiques des scénarios RCP (p. 28).

Tableau I.3 : Ecart de température en été par rapport à la moyenne de référence 1976-2005 (p. 30).

Tableau I.4 : Ecart de précipitations (mm.jour⁻¹) en été par rapport à la période de référence 1976-2005 (p. 31).

Tableau I.5 : Comparaison du Riesling et du Gewurztraminer dans différents dispositifs (p. 48).

Tableau II.1: Nombre de génotypes de différents croisements selon les utilisations (p. 49).

Tableau II.2: Encodage des marqueurs moléculaires pour une population de type CP (cross pollination) (p. 55).

Tableau III.1: Récapitulatif des QTLs liés à la phénologie de la vigne publiés au 30 mars 2015 (p. 99).

Tableau III.2: Séquences génomiques candidates présentes dans les intervalles de confiance pour les QTLs de durée débourrement-floraison des groupes de liaison 7 et 14 (p. 105).

Tableau V.1: QTLs pour l'acidité des raisins détectés avec trois années de données sur la carte consensus RixGW construite à partir de données de génotypage microsatellites (p. 142).

Figure I.1 : Valeurs des paramètres du modèle BRIN (Garcia de Cortazar-Atauri et al. 2009) pour dix variétés de vigne cultivées en France (p. 21).

Figure I.2 : Evolution de la surface de la calotte glaciaire arctique (p. 23).

Figure I.3 : Extrait de la figure RID.6 du résumé à l'intention des décideurs. Changements climatiques 2013: Les éléments scientifiques. Contribution du Groupe de travail I au cinquième Rapport d'évaluation du Groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat (p. 24).

Figure I.4 : Extrait de la figure RID.5 du résumé à l'intention des décideurs. Bilan 2007 des changements climatiques: rapport de synthèse (p. 27).

Figure I.5 : Anomalie de température prévue en fonction de l'émission des gaz à effets de serre pour différents scénarios RCP (p. 29).

Figure II.1: Calcul de la surface foliaire exposée (p. 52).

Figure II.2: Exemple de traitement d'une image sous ImageJ pour l'estimation de la porosité du feuillage (p. 53).

Figure III.1: Températures maximales journalières simulées pour le poste de Colmar avec le scénario A1B pour trois périodes du futur et positionnement de la période de maturation du Gewurztraminer (p. 60).

Figure III.2: Températures maximales pendant les 35 jours qui suivent la véraison pour trois génotypes (p. 61).

Figure III.3: Trois courbes de réponses à la température utilisées dans la littérature (p. 77).

Figure III.4: Taux d'expression de trois gènes candidats dans les bourgeons au cours du temps (p. 102).

Figure IV.1: Courbes de LOD score pour les teneurs en sucres moyennes sur trois années selon trois méthodes d'évaluation (p. 125).

Figure IV.2: Coefficient k de métabolisme (non stockage) des sucres importés dans les baies évalué en 2012 pour neuf génotypes à Bergheim (68) (p. 126).

Note sur les choix typographiques

Pour faciliter la lecture, les nombres pour les dénombrements supérieurs à neuf sont écrits en chiffres, sauf en début de phrase.

I. Introduction

A. Contexte

La culture de la Vigne occupait dans le monde 7 528 000 ha en 2012 (OIV 2013). La production de raisins, avec 67,1 Mt est l'une des principales productions de fruits dans le monde, derrière celle de pastèques (105,4 Mt), de bananes (102,0 Mt), de pommes (76,4 Mt) et d'oranges (68,2 Mt) (Faostat 2012). Sur le plan de la valeur ajoutée en revanche, elle occupe la première place (38 337 millions \$) devant la production de pomme (31 884 millions \$) (Faostat 2012). Ces raisins sont consommés directement (environ 30 % de la production), utilisés en raisins secs (moins de 2 % de la production) ou pour la fabrication de jus mais l'essentiel est transformé en vins.

La production mondiale de vins était de 252 millions d'hl en 2012, en stagnation, voire en baisse sur les dix années précédentes. Cette baisse est nette dans les principaux pays producteurs Européens, la France, l'Italie et l'Espagne (-11 % entre 2002 et 2012).

La France occupe régulièrement la place de premier producteur mondial, en compétition avec l'Italie, et l'Espagne depuis 2013. Avec 786 758 ha (Agreste 2012), La vigne destinée à la production de vins occupe environ 3 % de la surface agricole utile des exploitations mais contribue pour 15,5 % à la valeur ajoutée de l'agriculture (INSEE 2013). La filière viti-vinicole fournirait plus de 250 000 emplois directs (FranceAgrimer 2013), elle est le premier secteur agroalimentaire exportateur Français, et le deuxième excédent de la balance commerciale de la France derrière l'industrie aéronautique (FEVS 2013).

La culture de la vigne ne saurait cependant se résumer à ce poids économique indéniable. La vigne et le vin font partie d'un patrimoine culturel que peuvent s'approprier tous les citoyens sur l'ensemble du territoire métropolitain. Bien que sa consommation recule régulièrement, le vin fait partie du patrimoine culinaire national et véhicule l'image d'un certain art de vivre de la France dans le monde. La vigne, quant à elle, a façonné des régions entières et des multitudes de paysages. Un recul significatif de la production vitivinicole, que ce soit pour des raisons économiques ou techniques, n'aurait pas seulement des conséquences financières mais poserait également des problèmes d'utilisation du territoire, réduirait l'attrait touristique de certaines régions et constituerait un accroc dans un patrimoine culturel collectif.

L'évolution de la production de vins en France dépend de la demande mondiale, de la compétitivité des entreprises sur les marchés, de la réglementation en place, mais aussi de contraintes techniques. Les conditions de sol et de climat, la pression parasitaire, déterminent la quantité et le type de raisins, et donc de vins, que peut produire un vignoble. Une modification des conditions de

production peut donc altérer la capacité d'un vignoble à répondre à une demande des marchés, ou, vu sous un autre angle, peut amener à produire des vins qui ne trouveraient pas d'acheteurs.

Les effets des changements climatiques se font sentir sur toute la planète et les activités agricoles, y compris la viticulture, y sont particulièrement sensibles. Si l'homme peut dans une certaine mesure agir sur les caractéristiques des sols, avec la fertilisation par exemple, et contrôler des parasites par des méthodes chimiques ou biologiques, il est beaucoup plus démuni en cas de modifications des conditions climatiques. L'adaptation de la culture de la vigne et de la production de vins aux conditions climatiques du futur est à l'heure une des préoccupations majeures du monde viti-vinicole. L'augmentation des teneurs en CO₂ de l'air, des températures, et/ou une modification du régime des pluies, peuvent significativement modifier le profil des vins produits, rendre la culture de la vigne impossible mais aussi offrir de nouvelles possibilités.

Après une présentation de la physiologie de la vigne, je ferai un bilan des effets possibles des changements climatiques sur le fonctionnement de la vigne et sur les caractéristiques des vins et j'envisagerai les voies d'adaptation possibles. J'analyserai ensuite comment la variabilité génétique existante peut être utilisée dans les processus d'adaptation, avec une attention particulière pour le vignoble alsacien.

B. La vigne: biologie et écophysiologie

1. Un peu d'histoire

La vigne cultivée (*Vitis vinifera* L. subsp *vinifera*) est une liane. Elle appartient au genre *Vitis* qui comprend environ 60 espèces, inter-fertiles entre elles, et qui serait originaire d'Asie (Peros et al. 2011). Ce genre fait lui-même partie de la famille des Vitaceae (Galet 1998). La vigne cultivée a été domestiquée à partir de l'espèce sauvage *Vitis vinifera* L. subsp *sylvestris*. Par rapport à son ancêtre, la vigne cultivée est hermaphrodite et produit des baies plus grosses et moins acides. L'histoire de la domestication n'est pas connue avec précision mais les plus anciennes traces de vins, trouvées dans le Nord de l'Iran, datent du néolithique, soit 5400-5000 ans avant JC (McGovern et al. 1996). Des graines de vignes domestiquées datant de 8000 ans avant JC auraient été découvertes en Turquie et en Géorgie (cité par This et al. 2006). En France, des traces de fabrication de vin datant d'environ 452-400 années avant JC ont été découvertes dans le Sud de la France (McGovern et al. 2013), tandis que des importations d'origine Etrusque sur le même site ont pu être datées des années 500-475 avant JC.

2. Organes et organisation de la plante

La vigne est une plante pérenne qui produit chaque année des rameaux herbacés dont les feuilles sont alternes et la croissance indéterminée. Ces feuilles sont insérées au niveau de renflements du rameau, les nœuds. L'intervalle entre deux nœuds, ou entrenœud, est appelé mérithalle. À la fin de la saison végétative, une assise subérorophellodermique (une écorce) se forme, les rameaux brunissent, leur teneur en eau diminue et les bourgeons entrent en dormance: c'est le phénomène d'aoûtement des rameaux, que l'on nomme à partir de ce moment sarments (Huglin et Schneider 1998).

Le long d'un rameau de *Vitis vinifera*, les nœuds portent en face des feuilles des vrilles ou des inflorescences selon un rythme régulier: un nœud portant uniquement une feuille est suivi de deux nœuds consécutifs portant une inflorescence ou une vrille. En général, ce rythme ternaire se met en place uniquement à partir du 3^e ou 4^e nœud. Le nombre d'inflorescences sur un rameau dépend de la variété et de facteurs environnementaux. Il varie entre 1 et 3 inflorescences, valeur rarement dépassée dans les vignobles.

Il existe en réalité une continuité entre les vrilles, en général bifurquées, et les inflorescences. Certaines vrilles peuvent porter quelques boutons floraux, tandis que certaines inflorescences ont un axe secondaire, ou aile, qui n'en porte aucun. L'identité entre vrille et inflorescence d'un point de vue de l'organogénèse est très bien établie (Pratt 1971). Ces organes sont issus des mêmes primordia dans les bourgeons, plus ou moins différenciés au moment de l'entrée en dormance des bourgeons (Huglin et Schneider 1998). Des traitements hormonaux permettent d'orienter le devenir de ces primordia (Boss et Thomas 2000). Ainsi, les gibbérellines ont un effet négatif sur la formation des inflorescences (Boss et Thomas 2002; Mullins 1968). Les mécanismes moléculaires et les gènes impliqués dans la formation et différenciation de ces organes sont de mieux en mieux connus (Boss et Thomas 2000; Diaz-Riquelme et al. 2014).

Les inflorescences/vrilles sont initiées dans les bourgeons à l'aisselle des feuilles pendant la croissance du rameau, et leur différenciation s'arrête au moment où celui-ci entre en dormance à l'automne. La majorité des auteurs s'accorde pour dire qu'aucune ébauche florale n'est visible à l'entrée en dormance des bourgeons (Cheema et al. 1996; Huglin et Schneider 1998). Les fleurs ne commencent à se différencier qu'au moment du débourrement^{*1}, c'est-à-dire à la reprise de la végétation, au printemps suivant.

Les fleurs hermaphrodites comportent un ovaire à deux loges de deux ovules et cinq étamines. Sauf dans le cas particulier des raisins apyrènes*, la fécondation conduit à la formation de un à quatre pépins. L'ovaire va ensuite se développer pour devenir une baie. D'abord verte et dure, son

¹ Terme expliqué dans le lexique page 124

métabolisme va profondément changer au moment de la véraison*, stade qui marque le début du processus de maturation.

On trouve plusieurs types de bourgeons sur un pied de vigne. Le bourgeon terminal du rameau fonctionne tout au long de la saison végétative en produisant feuilles et vrilles selon le rythme décrit précédemment. La croissance du rameau - la vigne est une liane - est indéterminée. L'arrêt de fonctionnement du méristème apical de ce bourgeon a lieu à la fin de l'été, d'autant plus précocement que la plante aura subi un stress hydrique intense (Hardie et Martin 2000). En l'absence de stress et de destruction mécanique de ce bourgeon, des observations personnelles sur Cabernet-Sauvignon sous serre-tunnel en 2014 montrent qu'un rameau de vigne peut produire plus de cinquante feuilles. Dans la pratique, les rameaux sont rognés mécaniquement pour contrôler le volume de la végétation.

A l'aisselle des feuilles, deux types de bourgeons se différencient au cours de la saison.

Le prompt-bourgeon peut se développer l'année même de sa formation, et produire ce qui est appelé un entrecoeur*. Les entrecoeurs ont un développement en général limité, très dépendant des conditions d'alimentation en eau (Lebon et al. 2006) et des compétitions trophiques au sein des organes du rameau (Lebon et al. 2004). Ils peuvent cependant contribuer pour près de 50 % de la surface foliaire totale d'une plante (Duchêne et al. 2003). Ils portent parfois de petites grappes appelées grapillons.

À côté du prompt-bourgeon, on trouve à l'aisselle des feuilles le bourgeon latent. Sauf accident, il ne débourre pas au cours de la saison où il est initié, mais seulement au printemps de l'année suivante, d'où son nom de latent. Il comprend un méristème principal au sein duquel se différencient feuilles, inflorescences et vrilles. À la fin de la saison, à l'entrée en dormance, ce processus de différenciation s'arrête. Il y a alors entre 6 et 9 mérithalles* préformés (Huglin et Schneider 1998). Au débourrement, ces mérithalles s'allongeront, les inflorescences poursuivront leur développement et le méristème principal reprendra son activité. Un œil latent comprend également un ou deux bourgeons secondaires, qui se développeront au printemps en cas de gel du bourgeon principal par exemple. Les bourgeons secondaires peuvent cependant se développer et produire des rameaux fertiles sans qu'il y ait eu d'accident sur le bourgeon principal.

D'autres bourgeons peuvent être situés à la base des rameaux (les yeux de la couronne) ou directement sur le vieux bois. Leur développement ainsi que le nombre d'inflorescences qu'ils portent sont aléatoires. Les pousses qu'ils produisent sont appelées gourmands.

Les feuilles de vigne comportent cinq nervures principales. La variabilité des formes de feuilles est un des principaux outils permettant de caractériser et de reconnaître les variétés (OIV 2001).

Le système racinaire d'un pied de vigne a ceci de remarquable qu'il est de nature génétique différente de la partie aérienne. En effet, la solution pour lutter contre le phylloxera (*Viteus vitifoliae*), un insecte dont les larves se nourrissent sur les racines, a été d'utiliser du porte-greffe d'origine

américaine. Les espèces de *Vitis* américaines sont en effet résistantes au phylloxera sur racines, bien qu'elles soient sensibles sur feuilles. Des accessions de *Vitis rupestris* (Rupestris du lot) ou *Vitis riparia* (Gloire de Montpellier) ont été utilisées directement comme porte-greffe mais les sélectionneurs ont cherché à améliorer la tolérance au calcaire, faible dans ces espèces, en introduisant dans les croisements *Vitis berlandieri* ou *Vitis vinifera*. Outre la résistance au phylloxera, les porte-greffe se distinguent entre autres par leur tolérance au calcaire et par leur adaptation aux situations où l'alimentation en eau peut être restreinte (Cordeau 1998).

3. Le cycle de développement végétatif

La vigne est une plante pérenne pour laquelle on peut distinguer plusieurs phases dans le cycle de développement. En hiver, les rameaux, devenus sarments sont au repos, et les bourgeons qu'ils portent sont inactifs. Après la levée de dormance et l'accumulation d'une certaine quantité de chaleur, les divisions cellulaires vont reprendre. Les bourgeons vont gonfler, passer par un stade bourgeon dans le coton, avant qu'une petite pointe de feuille ne devienne visible. C'est le débourrement (littéralement la sortie de la bourre), qui marque le début de la croissance printanière. Des feuilles vont ensuite apparaître régulièrement sur le rameau, selon un rythme suivant des sommes de températures (Duchêne 1998; Lebon et al. 2004). À partir du deuxième ou troisième nœud, des inflorescences vont être visibles en face des feuilles. Dans ces inflorescences se différencient les pièces florales. Une fois ce processus achevé, la floraison peut avoir lieu. La croissance végétative de la plante va se poursuivre en parallèle avec le développement des raisins. Les mécanismes précis de l'arrêt de croissance végétative au cours de l'été sont mal connus. Il est certain que l'alimentation en eau joue un rôle déterminant. Le suivi du développement des apex, en particulier le moment où ils arrêtent de fonctionner, a ainsi été proposé comme méthode d'évaluation des conditions d'alimentation en eau (Hardie et Martin 2000). Par ailleurs, la présence de raisins, puits importants de carbone pendant la maturation, réduit significativement le développement végétatif (Lebon et al. 2004; Pallas et al. 2008). Cependant, même en absence de stress hydrique ou de fruits, comme c'est souvent le cas en serre, un arrêt de croissance est observé, sans doute consécutif à une baisse des températures et/ou de la photopériode (Garris et al. 2009). En même temps se produit l'aoûtement des rameaux puis la sénescence et enfin la chute des feuilles. Le cycle végétatif est terminé, il reprendra au printemps suivant avec le débourrement.

4. Le développement reproducteur: de la fleur à la baie mûre

Les inflorescences, initiées au cours de la saison précédente, reprennent leur développement au moment du débourrement: les organes reproducteurs (ovaires, anthères) et les pièces florales vont progressivement se différencier à l'intérieur des boutons floraux. À la floraison, les pétales formant le capuchon se détachent par la base. Au moment où ce phénomène se produit, les anthères ont

quasiment toujours déversé leur contenu pollinique sur le stigmate (Staudt 1999). Bien que la vigne soit considérée comme une espèce allogame, la plupart des pépins présents dans une baie seront issus d'une autofécondation (Staudt 1999). Après la fécondation et le développement d'au moins un endosperme la baie peut se développer (Kassemeyer et Staudt 1983). En l'absence de développement d'au moins un endosperme dans le gynécée, une zone d'abscission se forme à la base du pédicelle et la fleur/ovaire tombe. Le ratio entre le nombre de baies à la récolte sur une grappe et le nombre de fleurs initialement présentes sur l'inflorescence est le taux de nouaison. L'ovaire va ensuite grandir essentiellement à partir de divisions cellulaires (Ojeda et al. 1999), en même temps que les pépins se développent. L'achèvement du développement des pépins, qui se matérialise par leur lignification, est sans doute un stade pivot dans le développement de la baie. Il est cependant très rarement observé car il nécessite des observations destructives. On observe à partir de ce stade un ralentissement voire un arrêt de la croissance de la baie (Ojeda et al. 1999). Cette phase de transition va prendre fin à la véraison, stade qui marque le début de la maturation des raisins: on observe un ramollissement par dégradation des parois cellulaires, il y a à partir de ce stade accumulation de sucres, dégradation de l'acide malique, synthèse d'anthocyanes pour les cépages colorés, et accumulation de précurseurs d'arômes. La présence à la fois d'acide abscissique et de sucres est nécessaire pour que ce processus se déclenche (Gambetta et al. 2010). Le métabolisme de la baie change alors totalement. De nombreuses études de transcriptomique ont mis en évidence des hausses ou des baisses des niveaux d'expression pour des centaines de gènes (Pilati et al. 2007; Sweetman et al. 2012; Terrier et al. 2005; Zenoni et al. 2010). Le métabolisme de la baie change profondément pendant la maturation par rapport à la période de croissance herbacée. D'un point de vue biologique le cycle de développement prend fin au moment où les pépins sont aptes à germer. D'un point de vue anthropique, il prend fin quand les niveaux de teneurs en sucres, d'acidité, de couleur, d'arômes souhaités par le viticulteur ou l'œnologue sont atteints, et que le raisin peut être récolté.

5. La composition et les caractéristiques des raisins

a) Sucrosité et acidité

Les raisins peuvent avoir plusieurs utilisations: ils peuvent être consommés en l'état (raisins de table), utilisés pour la production de jus de fruits, transformés en raisins secs ou vinifiés (raisins de cuve). Je ne considérerai ici que cette dernière catégorie.

On peut distinguer quatre grands types de vins produits directement à partir des raisins: les vins effervescents, les vins blancs secs, les vins blancs liquoreux et les vins rouges. D'autres types de boissons, comme le Cognac ou les vins doux naturels résultent de transformations ultérieures à partir de vins de base.

La teneur en alcool et l'acidité sont des paramètres essentiels communs à tous les vins de base. L'alcool des vins est issu de la transformation des sucres présents dans les raisins par les levures, essentiellement représentées par *Saccharomyces cerevisiae*. Le rendement de transformation des levures est variable mais il y a une norme qui fixe le chiffre de 16,83 g.l⁻¹ de sucres dans un moût pour obtenir 1 % v/v d'alcool dans un vin (Ribéreau-Gayon et al. 2006).

Les sucres des raisins sont, pour la variété *Vitis vinifera*, pour moitié du fructose et pour moitié du glucose. Glucose et fructose sont produits par l'hydrolyse par des invertases de saccharose importé du phloème (Davies et al. 2014). Ces hexoses, stockés dans les vacuoles, s'accumulent rapidement à partir de la véraison. Les concentrations en sucres mesurées à la récolte dépendent des variétés, des conditions climatiques de l'année et du rapport fruit/feuille des plants de vigne: pour une surface foliaire donnée, les concentrations seront d'autant plus faibles que la quantité de raisins sera élevée (Dai et al. 2010; Jackson et Lombard 1993). Pour donner des ordres de grandeur, la teneur en sucres recherchée à la récolte pour des raisins destinés à l'élaboration de vins effervescents sera de l'ordre de 170 g.l⁻¹. Pour un vin liquoreux, cette teneur pourra atteindre 400 g.l⁻¹.

L'acidité est un paramètre sensoriel essentiel: trop élevée les vins vont être jugés verts et agressifs, trop faible, les vins vont apparaître plats et mous. L'acidité participe également à la stabilité microbiologique des vins et à leur potentiel de vieillissement.

L'acidité des vins peut être caractérisée par une mesure de pH ou de l'acidité de titration. pH et acidité de titration dépendent des concentrations en acides organiques et des teneurs en cations des vins. La gamme de pH observés va de pH 3,1 pour un vin blanc sec de type Riesling à pH 3,9 pour un vin liquoreux de Gewurztraminer. L'acidité sera d'autant plus élevée (pH bas) que les teneurs en acides organiques seront fortes et que les teneurs en cations seront basses. Les principaux acides organiques des raisins sont l'acide malique et l'acide tartrique, qui représentent à eux seuls plus de 90 % des acides des raisins (Ruffner 1982). En fonction du type de vin recherché, l'acide malique sera ou non transformé en acide lactique au cours d'une fermentation malolactique réalisée par la bactérie *Oenococcus oeni*.

Les quantités d'acide tartrique par baie sont considérées comme constantes à partir de la véraison (DeBolt et al. 2008; Hale 1977; Iland et Coombe 1988) alors que l'acide malique est dégradé au cours de la maturation, d'autant plus rapidement que les températures sont élevées (Buttrose et al. 1971; Kliewer 1971; Salazar-Parra et al. 2010; Sweetman et al. 2014).

Pour les deux acides les concentrations baissent au cours de la maturation par un phénomène de dilution consécutif à l'augmentation du volume des baies.

Le potassium est le principal cation modulant le pH des raisins (Ribéreau-Gayon et al. 2006). En augmentant la force ionique du milieu, il réduit l'activité des ions et donc conduit à une augmentation du pH (Lobit et al. 2002). Les concentrations mesurées dans vins ou les raisins à la récolte sont de l'ordre de 1 g.l⁻¹ (Ribéreau-Gayon et al. 2006), mais peuvent dépasser 2 g.l⁻¹ (Kodur et al. 2013).

b) Métabolisme secondaire

Les métabolites secondaires des raisins jouent un rôle central dans les qualités organoleptiques des vins car ils sont à la base de la coloration, des arômes et de la structure des vins.

Les anthocyanes sont des composés phénoliques synthétisés, sauf pour quelques variétés, seulement dans les pellicules des raisins. Ces molécules très diverses sont à l'origine de la coloration rouge des raisins (Castellarin et al. 2014).

Les polymères de flavan-3-ols, ou tannins condensés, sont également des composés phénoliques surtout présents dans les pépins, ils contribuent beaucoup aux sensations en bouche procurées par les vins (Castellarin et al. 2014). En excès ils donnent une sensation d'astringence.

Les arômes des vins sont dus soit à des molécules déjà présentes en l'état dans les raisins, soit à des molécules issues de la transformation de précurseurs lors des processus de fermentation ou de vieillissement. Des composés terpéniques (monoterpénols en C₁₀) sont à l'origine d'arômes floraux de rose, muguet ou tilleul. Ils sont présents dans les raisins en l'état sous forme libre ou liés à des glucosides. Les formes liées ne sont pas volatiles mais sont hydrolysées au cours du vieillissement du vin, ce qui libère des molécules volatiles. Les C₁₃-norisoprénoïdes sont dérivés de la dégradation des caroténoïdes qui sont des tétraterpènes (C₄₀). On trouve dans cette famille, parmi d'autres, une molécule aux arômes de violette (la beta-ionone), mais aussi une molécule comme le 1,1,6-triméthyl-1,2-dihydronaphtalène (TDN) dont l'odeur ressemble à celle du kérosène.

Les méthoxypyrazines sont des molécules hétérocycliques azotées également présentes dans les raisins. Elles ont en général un impact négatif sur la perception aromatique des vins, avec des arômes herbacés de poivron ou de petit pois, mais peuvent participer à la typicité des vins de Sauvignon Blanc par exemple.

Les thiols volatils sont des composés caractérisés par la présence d'un groupement -SH. Ces molécules ont des seuils de perception très bas et sont présentes dans de nombreux fruits. Les descripteurs leur correspondant vont être « pamplemousse », « zeste de citron », « fruit de la passion », « bourgeon de cassis ». Ces molécules apparaissent seulement au cours de la fermentation alcoolique. En effet, elles sont présentes dans les raisins sous la forme de précurseurs S-conjugués.

Ce bref panorama vise simplement à illustrer l'extrême diversité des métabolites secondaires de la vigne, qui est à l'origine de la richesse des sensations organoleptiques qu'ils procurent. Il serait cependant réducteur d'assimiler le vin à du jus de raisin. Les qualités organoleptiques des vins sont en effet également largement dépendantes des processus de fermentation alcoolique et malolactique, de l'élevage, en barrique entre autres, et du vieillissement.

6. Les déterminants du cycle de développement

Les principaux stades de développement, à savoir ceux qui sont déterminants dans le fonctionnement de la plante et les caractéristiques des raisins, sont le débourrement, la floraison et la véraison.

a) Le débourrement

Le débourrement marque la reprise de l'activité végétative au printemps après une période où les bourgeons étaient en dormance. On considère généralement qu'un bourgeon est débourré lorsqu'il atteint le stade C « pointe verte » (Baggiolini 1952) ou le stade BBCH07 (Lorenz et al. 1995). Pour une plante, la date de débourrement est celle où 50 % des bourgeons ont atteint le stade BBCH07. On peut distinguer trois phases dans l'état des bourgeons (Pouget 1963): (1) une phase de pré-dormance, en été, au cours de laquelle les bourgeons vont progressivement entrer en dormance, (2) la phase de dormance proprement dite, en hiver, pendant laquelle les bourgeons ne peuvent pas se développer même si les conditions sont favorables. Cette phase de dormance sera levée quand une certaine quantité de froid aura agi sur le bourgeon, (3) une période de pré-débourrement pendant laquelle le bourgeon sera sensible à l'action de la chaleur. Une fois une certaine quantité de chaleur accumulée, le débourrement sera observé. Cette approche est également valable pour les arbres forestiers ou les arbres fruitiers des régions tempérées (Cesaraccio et al. 2004; Chuine 2000). Dans certains modèles, un effet de la photopériode a été introduit (Caffarra et al. 2011; Molitor et al. 2014a), pour modéliser à la fois l'entrée en dormance et moduler l'effet des températures chaudes pendant la phase de post-dormance.

Une des principales difficultés dans l'étude du débourrement chez les plantes pérennes est que la date de levée de dormance n'est pas directement observable et nécessite des expérimentations contraignantes et destructrices. Pouget (1963) a suggéré qu'il fallait une période de 7 jours consécutifs avec une température moyenne inférieure à 10 °C pour que la dormance soit levée pour la variété Merlot. D'autres auteurs ont depuis proposé des approches utilisant différentes fonctions mathématiques (Fila et al. 2014; Garcia de Cortazar-Atauri et al. 2009; Molitor et al. 2014a), toujours avec l'idée qu'il faut cumuler des actions froides (« chilling units ») pour obtenir une levée de la dormance des bourgeons. La mise au point d'un modèle de prévision de la date de débourrement est difficile d'une part car il requiert l'estimation de nombreux paramètres (quatre dans BRIN (Garcia de Cortazar-Atauri et al. 2009), onze dans DORMPHOT (Molitor et al. 2014a)) d'autre part car la date de levée de dormance n'est jamais observée directement dans les jeux de données pluriannuels sur plusieurs lieux. Malgré cela, la qualité des prévisions peut être satisfaisante, avec une erreur moyenne de trois jours pour le Müller-Thurgau avec le modèle DORMPHOT (Molitor et al. 2014a). Les effets des températures de l'air, voire de la photopériode, sont à présent assez bien décrits mais ne sont pas les seuls facteurs à agir sur

les dates de débourrement. Des températures chaudes dans le sol peuvent accélérer le débourrement (Kliewer 1975; Zelleke et Kliewer 1979) mais des dates de taille tardives peuvent le retarder (Friend et al. 2011; Martin et Dunn 2000). Dans les pays chauds, le froid peut être insuffisant pour provoquer la levée de dormance. L'application de substances chimiques (Friend et al. 2011; Martin et Dunn 2000; Perez et al. 2009; Pouget 1963) ou de fortes températures (Halaly et al. 2011; Zion et al. 2012) a fait l'objet de nombreux essais pour résoudre cette difficulté.

Les dates de débourrement sont très variables entre variétés de *Vitis vinifera*. Dans les collections de l'INRA Montpellier, Galet (1990) rapporte des dates s'étalant du 1^{er} au 18 avril et dans les collections de l'INRA Colmar, Huglin et Schneider (1998) notent 12 jours de différences entre la variété la plus précoce et la variété la plus tardive au débourrement. Les données permettant de comparer pour différentes variétés les besoins en froid pour la levée de dormance et les besoins en chaleur une fois la dormance levée sont très rares. Contrairement à ce que l'intuition pourrait suggérer, il semble que les besoins en froid sont d'autant plus élevés que l'origine géographique de l'espèce de *Vitis*, ou d'un cultivar au sein d'une espèce, soit méridionale (Londo et Johnson 2014). Il s'agirait d'un mécanisme d'adaptation permettant d'éviter des débournements trop précoces dans les régions relativement chaudes en hiver. On ne retrouve pas un tel résultat dans les paramètres du modèle BRIN (Garcia de Cortazar-Atauri et al. 2009), dans lesquels l'estimation par ajustements mathématiques, et non par observations, des besoins en froid suggère que le Riesling, variété cultivée dans le Nord de la France a les besoins en froid les plus forts (Figure 1). Dans cette étude, l'introduction d'une date théorique de levée de dormance n'améliore pas significativement les performances du modèle par rapport à un cumul de températures au dessus de 5 °C commençant arbitrairement au 1^{er} janvier, en particulier pour le Riesling.

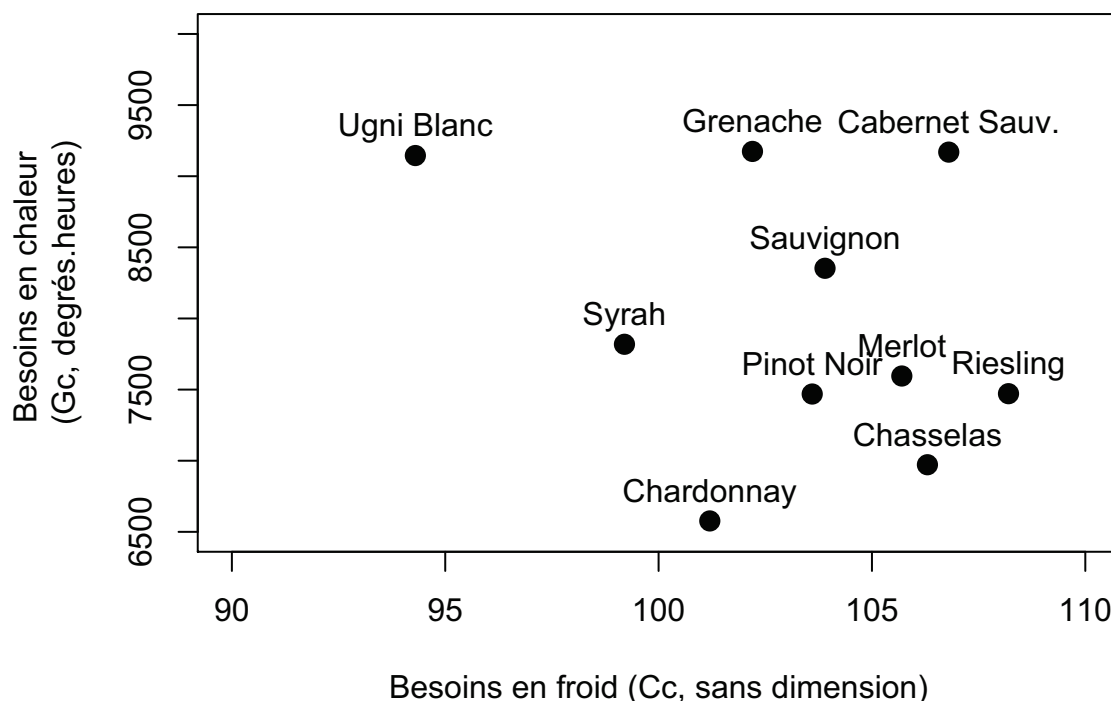


Figure 1.1 : Valeurs des paramètres du modèle BRIN (Garcia de Cortazar-Atauri et al. 2009) pour dix variétés de Vigne cultivées en France. Cc = seuil de cumul d'actions froides, sans unité, pour atteindre la levée de dormance. Gc = cumul de températures horaires entre 5 °C et 25 °C pour observer le débourrement une fois la dormance levée.

b) La floraison

La floraison est le moment où le capuchon floral se détache par la base, découvrant les étamines et le pistil. Le nombre de fleurs par inflorescence est très variable selon les variétés et selon la position de l'inflorescence sur le rameau. Les variations peuvent aller de 100 fleurs par inflorescence pour le Gewurztraminer (Huglin et Balthazard 1975) à près de 900 fleurs par inflorescence pour le Grenache (Duchêne et al. 2001b). Ce nombre de fleurs diminue également quand le rang d'insertion de l'inflorescence sur le rameau augmente (Duchêne et al. 2001a). La floraison au sein d'une inflorescence, et par conséquent au niveau d'un rameau et d'une plante entière est un processus qui s'étale dans le temps. Le temps écoulé entre l'ouverture de la première fleur et la fin de la floraison (100 % de fleurs ouvertes) est d'autant plus court que les températures sont élevées. La date de floraison retenue pour caractériser un peuplement est généralement celle de mi-floraison, lorsque 50 % des fleurs sont ouvertes. Un lien entre sommes de températures et phénologie de la vigne a été établi depuis longtemps (Winkler et Williams 1939) et de nombreux auteurs ont proposé des modèles de prévision des dates de floraison basés sur des cumuls de températures au dessus d'un seuil (Besselat et al. 1995; Oliveira 1998; Williams et al. 1985). Il n'y a toutefois pas consensus parfait ni sur le type de températures journalières à utiliser (moyenne? maximale?), ni sur la température de base la plus appropriée.

La précision de ces modèles basés sur la température de l'air est bonne, avec des erreurs moyennes de l'ordre de 3 jours (Besselat et al. 1995; Parker et al. 2013; Williams et al. 1985). Si la relation entre températures de l'air et dates de floraison est assez bien établie, les données concernant la date de véraison sont plus rares.

c) La véraison

La première difficulté quand on aborde la véraison est de définir ce stade. Biologiquement, il s'agit pour une baie individuelle d'un profond changement dans son métabolisme: d'un organe herbacé, dur, acide, dont les sucres sont indétectables en bouche, elle va progressivement se transformer en fruit juteux, sucré, relativement peu acide, aromatique et coloré le cas échéant. Comment définir précisément le moment où s'opère ce basculement? L'outil le plus précis est sans doute le suivi du niveau d'expression de gènes (Pilati et al. 2007; Zenoni et al. 2010). Il n'est cependant pas utilisable pour des suivis de routine. Un peu moins contraignantes, et réalisables quand le nombre de parcelles à suivre est limité, sont des mesures régulières des teneurs en acide malique et en sucres. La véraison correspond au moment où les teneurs en sucres commencent à augmenter et où celles d'acide malique commencent à décroître. Déjà à ce niveau, le parfait synchronisme des deux phénomènes n'est pas clairement établi (Sweetman et al. 2012). En pratique, une baie est considérée comme vérée si elle est molle au toucher ou si elle commence à être colorée. Des travaux ont montré qu'il y avait une bonne concordance entre ramollissement et début de l'accumulation des sucres (Barbeau et al. 2004). Le changement de couleur intervient généralement plus tard et s'il permet des comparaisons de différentes conditions pour une même variété, il n'est pas utilisable pour comparer des variétés entre elles. La définition de la date de véraison que je retiendrai ici est la date à laquelle 50 % des baies étaient molles au toucher.

Les données montrant que ce stade est sous l'influence des températures de l'air sont rares (Chuine et al. 2004; Parker et al. 2011). Les modèles proposés pour ce stade sont moins performants que ceux de prévision de la date de floraison mais leur efficacité* est néanmoins bonne (0,74 pour Parker et al. (2011), 0,91 pour Chuine et al. (2004)). L'amélioration de ces modèles est difficile car l'on sait que la date de véraison dépend non seulement de la température de l'air mais aussi du rapport fruit/feuille des plantes: la date de véraison est plus tardive quand la surface foliaire est réduite (Ollat et Gaudillere 1998; Parker et al. 2014; Petrie et al. 2000). Les traitements imposés dans ces expérimentations pour obtenir des effets visibles sont extrêmes par rapport à un contexte viticole, mais ils montrent que le déclenchement de la véraison n'obéit pas seulement à des facteurs climatiques mais aussi à des facteurs trophiques.

Nous avons vu que les principaux stades de développement de la vigne sont largement sous la dépendance de la température. Nous allons envisager quelles peuvent être les effets du changement

climatique sur les stades de développement et plus généralement sur le fonctionnement de la plante et la composition des raisins.

C. Le changement climatique et la vigne

1. Contexte

a) Des constats

De nombreux indicateurs sur la planète indiquent qu'un réchauffement s'est déjà produit depuis le début du XX^e siècle. Le GIEC (IPCC en Anglais) en fournit une synthèse dans son rapport de 2013 (IPCC 2013): la température moyenne à la surface du globe augmente, de même que le niveau moyen des mers, alors que la couverture neigeuse et la surface de glace arctique diminuent (Figure I.2). L'effet des gaz à effets de serre (GES) sur l'augmentation des températures est bien établi. Les modèles climatologiques reproduisent très bien les évolutions constatées quand ils intègrent ces gaz, alors que, sans en tenir compte, les températures n'auraient pas évolué de manière significative que ce soit à l'échelle de la planète (Figure I.3) ou en France (Terray et Boé 2013).

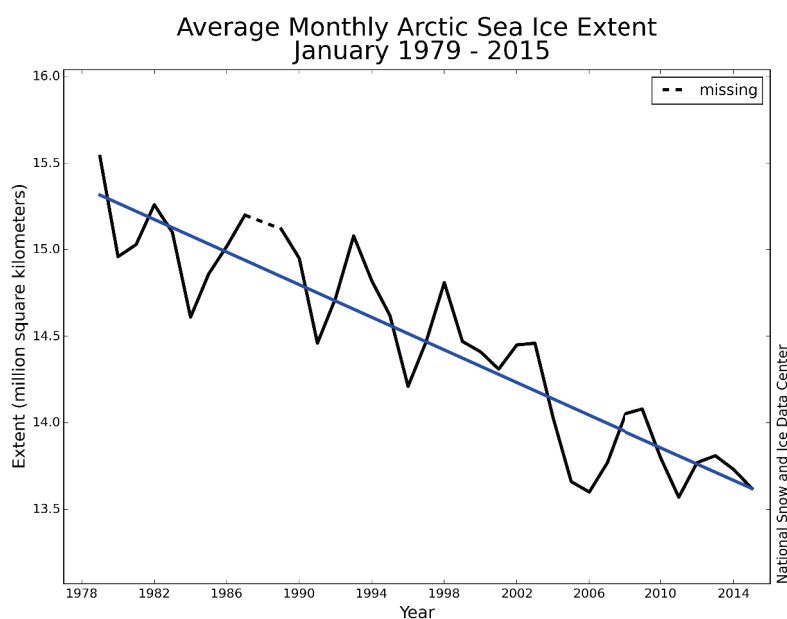


Figure I.2 : Evolution de la surface de la calotte glaciaire arctique (source: National Snow and Ice Data Center <http://nsidc.org>, février 2015).

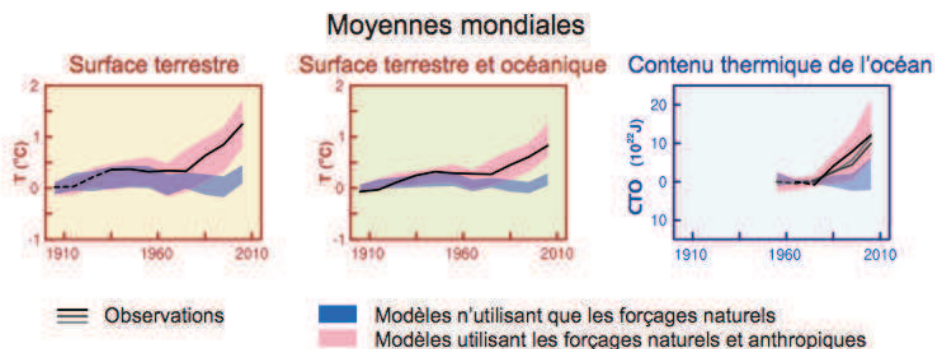


Figure 1.3 : Extrait de la figure RID.6 du résumé à l'intention des décideurs. Changements climatiques 2013: Les éléments scientifiques. Contribution du Groupe de travail I au cinquième Rapport d'évaluation du Groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat GIEC 2013.

Extrait de la légende de la figure:

Comparaison des changements climatiques observés et simulés fondée sur des séries chronologiques. Les anomalies sont données relativement à 1880-1919 pour les températures de surface, 1960-1980 pour les contenus thermiques des océans. Toutes les séries chronologiques sont des moyennes décennales, placées au centre des décennies. Les résultats des modèles présentés correspondent à des moyennes d'ensemble et plages de dispersion provenant du projet CMIP5 (cinquième phase de l'exercice de comparaison de modèles couplés), les zones ombrées indiquant les intervalles de confiance de 5 à 95 %.

En France, l'Observatoire National sur les Effets du Réchauffement Climatique (ONERC) est une structure dépendant du Ministère de l'écologie, du développement durable et de l'énergie qui centralise l'information sur les impacts du changement climatique et formule des recommandations sur les procédures d'adaptation. On retrouve dans les indicateurs recensés (ONERC 2015) les mêmes constatations qu'au niveau mondial: augmentation de la température moyenne, ainsi que du nombre de journées estivales (plus de 25 °C), diminution du nombre de jours de gel, recul des glaciers. Les indicateurs biologiques vont dans le même sens: progression de la chenille processionnaire du pin vers le Nord, avancement des stades de développement de la vigne et des dates de vendanges.

Moisselin et al. (2002) ont calculé que l'augmentation des températures moyennes en France au XX^e siècle a été de +0,9 °C, avec une progression plus rapide des températures minimales (+1,2 °C) que des températures maximales (+0,6 °C). Il n'y a pas de message simple pour la pluviométrie car les tendances observées sont variables d'une région à l'autre. Des baisses significatives ne sont cependant jamais observées, alors que des hausses significatives ont pu être détectées dans certaines régions, principalement en hiver.

b) Des simulations pour le futur

La communauté scientifique internationale a développé de nombreux modèles de circulation générale (GCM: « General Circulation Model ») depuis les années 1970 pour modéliser la circulation atmosphérique, en intégrant toujours davantage d'éléments dans la description des systèmes. À l'heure actuelle ces modèles simulent de manière quantitative des interactions entre l'atmosphère, les océans, l'occupation des sols et la couverture glaciaire. Leur résolution dépend des modèles utilisés. Pour le

modèle ARPEGE-Climat développé par le Centre National de Recherches Météorologiques (CNRM), la résolution est élevée sur l'Europe (50-60 km), mais de plus en plus large en fonction de l'éloignement à l'Europe. Le pôle du modèle où la résolution est maximale peut-être modifié.

Ces modèles peuvent être utilisés dans différents scénarios d'évolution des concentrations de gaz à effets de serre dans l'atmosphère. Dans l'« Assessment Report 4 » de 2007 du GIEC (AR4), ces scénarios étaient basés sur des hypothèses d'évolution de l'activité humaine (Tableau I.1). Appelés SRES pour « Special Report on Emissions Scenarios » (GIEC 2000), ils variaient pour les quantités de gaz à effet de serre émises et pour leur évolution au cours du XX^e siècle (Figure I.4). L'augmentation des températures moyennes à l'échelle de la planète à l'horizon 2100 prévue à partir de ces scénarios (Figure I.4) allait de 2,3 à 4,5 °C par rapport à la période 1850-1900 (IPCC 2007).

Tableau I.1 : Description des scénarios SRES (GIEC 2000)

Famille de scénarios	Description
A1	Le canevas et la famille de scénarios A1 décrivent un monde futur dans lequel la croissance économique sera très rapide, la population mondiale atteindra un maximum au milieu du siècle pour décliner ensuite et de nouvelles technologies plus efficaces seront introduites rapidement. Les principaux thèmes sous-jacents sont la convergence entre régions, le renforcement des capacités et des interactions culturelles et sociales accrues, avec une réduction substantielle des différences régionales dans le revenu par habitant. La famille de scénarios A1 se scinde en trois groupes qui décrivent des directions possibles de l'évolution technologique dans le système énergétique. Les trois groupes A1 se distinguent par leur accent technologique : forte intensité de combustibles fossiles (A1FI), sources d'énergie autres que fossiles (A1T) et équilibre entre les sources (A1B).
A2	Le canevas et la famille de scénarios A2 décrivent un monde très hétérogène. Le thème sous-jacent est l'autosuffisance et la préservation des identités locales. Les schémas de fécondité entre régions convergent très lentement, avec pour résultat un accroissement continu de la population mondiale. Le développement économique a une orientation principalement régionale, et la croissance économique par habitant et l'évolution technologique sont plus fragmentées et plus lentes que dans les autres canevas.
B1	Le canevas et la famille de scénarios B1 décrivent un monde convergent avec la même population mondiale culminant au milieu du siècle et déclinant ensuite, comme dans le canevas A1, mais avec des changements rapides dans les structures économiques vers une économie de services et d'information, avec des réductions dans l'intensité des matériaux et l'introduction de technologies propres et utilisant les ressources de manière efficiente. L'accent est sur des solutions mondiales orientées vers une viabilité économique, sociale et environnementale, y compris une meilleure équité, mais sans initiatives supplémentaires pour gérer le climat.
B2	Le canevas et la famille de scénarios B2 décrivent un monde où l'accent est mis sur des solutions locales dans le sens de la viabilité économique, sociale et environnementale. La population mondiale s'accroît de manière continue mais à un rythme plus faible que dans A2, il y a des niveaux intermédiaires de développement économique et l'évolution technologique est moins rapide et plus diverse que dans les canevas et les familles de scénarios B1 et A1. Les scénarios sont également orientés vers la protection de l'environnement et l'équité sociale, mais ils sont axés sur des niveaux locaux et régionaux.

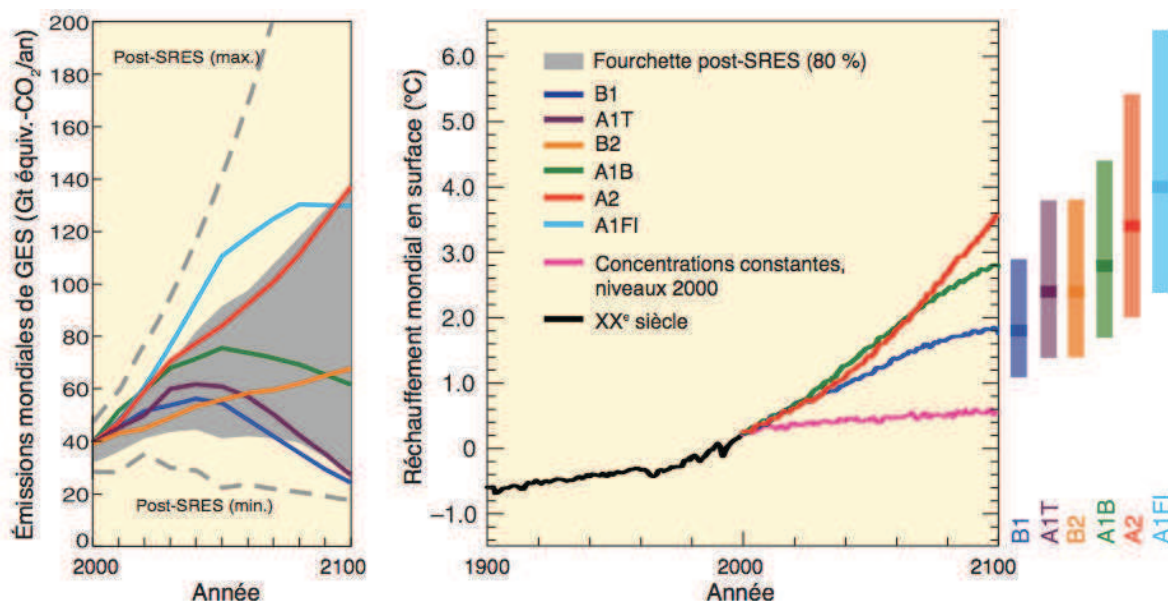


Figure I.4 : Extrait de la figure RID.5 du résumé à l'intention des décideurs. Bilan 2007 des changements climatiques: rapport de synthèse GIEC 2007.

Extrait de la légende:

À gauche : Émissions mondiales de GES (en Gt équiv.-CO₂) en l'absence de politiques climatiques : six scénarios illustratifs de référence (SRES, lignes colorées) et intervalle au 80^{ème} percentile des scénarios publiés depuis le SRES (post-SRES, partie ombrée). Les lignes en pointillé délimitent la plage complète des scénarios post-SRES. Les GES sont le CO₂, le CH₄, le N₂O et les gaz fluorés.

À droite : Les courbes en trait plein correspondent aux moyennes multimodèles du réchauffement en surface pour les scénarios A2, A1B et B1, en prolongement des simulations relatives au XX^e siècle. Ces projections intègrent les émissions de GES et d'aérosols de courte durée de vie. La courbe en rose ne correspond pas à un scénario mais aux simulations effectuées à l'aide de modèles de la circulation générale couplés atmosphère-océan (MCGAO) en maintenant les concentrations atmosphériques aux niveaux de 2000. Les barres sur la droite précisent la valeur la plus probable (zone foncée) et la fourchette probable correspondant aux six scénarios de référence du SRES pour la période 2090-2099. Tous les écarts de température sont calculés par rapport à 1980-1999.

Les scénarios SRES ont largement été utilisés mais pour l'AR5 (Assessment Report 5), publié en 2013, de nouveaux scénarios dits RCP pour « Representative Concentration Pathway » ont été introduits pour les projections. Leur principe est de décrire directement des niveaux de forçage radiatif: 2,6, 4,5, 6, 8,5 W.m⁻² d'énergie supplémentaire liée à l'augmentation des gaz à effet de serre (Tableau I.2). Par comparaison avec les scénarios SRES, le scénario RCP8.5 est un peu plus pessimiste que le SRES A2, le scénario RCP6.0 est proche du SRES A1B, le RCP4.5 du SRES B1 (Ouzeau et al. 2014).

Tableau I.2 : Caractéristiques des scénarios RCP (Ouzeau et al. 2014)

Scénario	Forçage radiatif vers 2100 (W.m ⁻²)	Concentration en CO ₂ (équ-CO ₂ vers 2100 en ppm)	Profil d'évolution
RCP2.6	2,6	475	Pic puis déclin
RCP4.5	4,5	630	Stabilisation avant 2100
RCP6.0	6,0	800	Stabilisation après 2100
RCP8.5	8,5	1313	Croissant (sans politique climatique)

Les groupes de scientifiques participant au GIEC font des calculs avec de nombreux GCM avec différents scénarios. Les principales idées que l'on peut retenir au niveau mondial du rapport 2013 du GIEC sont que :

- le climat va continuer à se réchauffer. Dans le scénario le plus pessimiste RCP8.5, les températures à la fin du XXI^e siècle pourraient être plus de 4 °C supérieures à celles de la période de référence 1850-1900 (Figure I.5). Ce réchauffement ne sera pas uniforme sur la planète: il sera plus fort dans l'hémisphère nord, très marqué dans l'arctique. Les vagues de chaleur seront plus fréquentes. Des épisodes froids en hiver ne sont toutefois pas exclus.
- Le contraste actuel entre régions humides et régions sèches ainsi qu'entre saisons humides et saisons sèches devrait augmenter. Les précipitations pourraient être plus abondantes aux latitudes élevées et dans les zones tropicales de l'océan Pacifique. Elles diminueront probablement aux latitudes moyennes et dans les zones subtropicales arides. Les épisodes de précipitations extrêmes pourraient devenir plus violents.
- L'océan continuera de se réchauffer, y compris en profondeur, ce qui pourra perturber la circulation océanique. Le niveau des mers devrait s'élever entre 52 cm et 98 cm pour le scénario RCP8.5 en 2100 par rapport à la période 1986-2005. La dilatation de l'océan contribue pour 30 à 55 % à cette augmentation.

Une lecture détaillée des rapports du GIEC montre qu'il existe beaucoup d'incertitudes dans toutes ces projections, surtout pour les précipitations. Malgré cela, Frame et al. (2013) ont montré que les projections du GIEC publiées en 1990 pour les températures de la période 1990-2030 étaient en accord avec les données effectivement observées depuis. Ils montrent en particulier que l'introduction

de l'effet des gaz à effet de serre était bien nécessaire dans les simulations publiées en 1990 pour expliquer les évolutions observées.

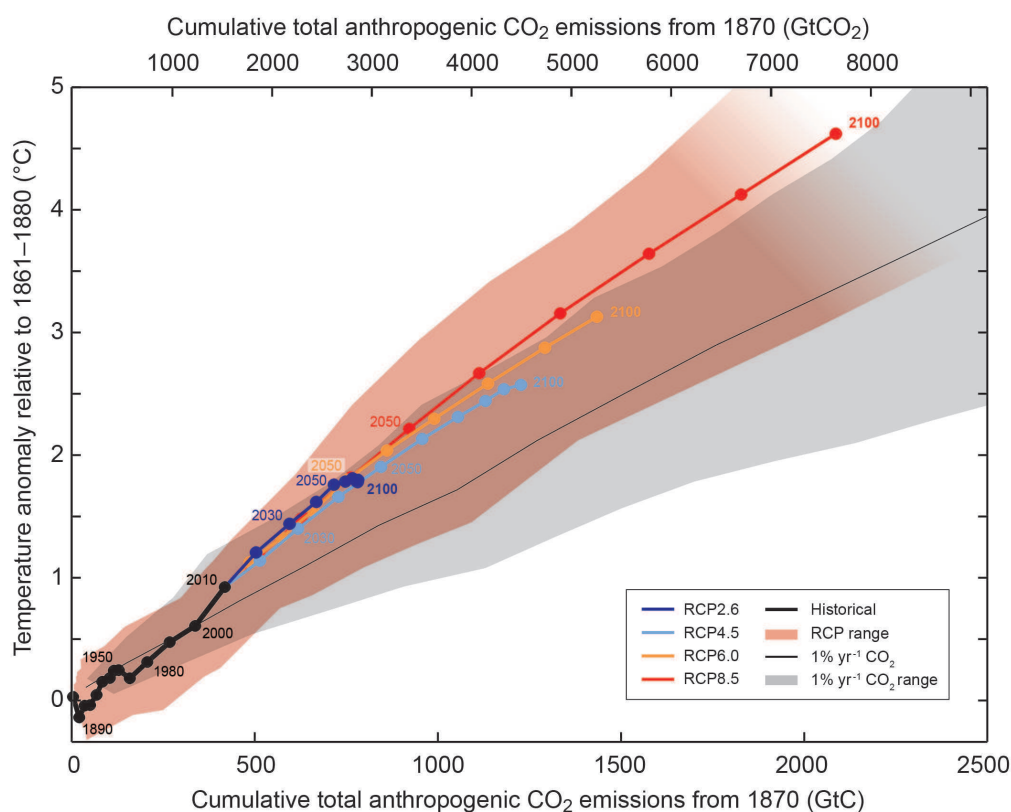


Figure 1.5 : Anomalie de température prévue en fonction de l'émission des gaz à effets de serre pour différents scénarios RCP (IPCC 2013).

L'étape suivante consiste à appliquer ce type d'approche à l'échelle d'un pays, voire d'une région. Cet exercice a été réalisé pour la France à l'échelle du territoire national (Briche et al. 2014; Ouzeau et al. 2014; Terray et Boé 2013), mais aussi pour des régions particulières (Briche et al. 2014; Bonnefoy et al. 2013). On peut retenir des simulations utilisant les scénarios RCP avec les modèles Aladin-Climat du Centre National de Recherches Météorologiques de Météo-France (CNRM) et WRF de l'Institut Pierre Simon Laplace (IPSL) les éléments suivants (Ouzeau et al. 2014) :

- Une augmentation des températures moyennes, en particulier dans le Sud-Est en été. Cette évolution d'accompagnera d'une augmentation du nombre de jours de vagues de chaleur en été.
- Une diminution des jours anormalement froids en hiver.
- Beaucoup d'incertitudes sur les précipitations. À l'horizon 2021-2050, la tendance est plutôt à une faible augmentation, aussi bien en été qu'en hiver, mais avec une grande incertitude sur la distribution géographique de ce changement. À l'horizon 2071-2100, les résultats entre modèles et/ou scénarios ne sont pas cohérents.
- Une augmentation à l'horizon 2071-2100 des risques de sécheresse, surtout dans le Sud du pays.

Toutes ces simulations sont disponibles sur un portail Internet (<http://www.drias-climat.fr>, mai 2015). Il est ainsi possible de disposer de données journalières de température et de précipitations pour un maillage de 8x8 km² sur l'ensemble du territoire métropolitain. La lecture de rapport de Ouzeau et al. (2014) ou des travaux de Terray et Boé (2013) font prendre conscience de degré d'incertitude qui est attaché à ces simulations. Le tableau I.3 en donne un aperçu pour les températures: à l'horizon 2071-2100, l'augmentation possible des températures moyennes couvre une gamme de 1,4 à 5,3 °C. Ce constat est encore plus dramatique pour la pluviométrie puisque le sens même des variations peut varier d'une simulation à l'autre. À l'horizon 2071-2100, la gamme de variation va de -0,70 à +0,32 mm.jour⁻¹, soit -64 à +29 mm sur les trois mois d'été (Tableau I.4).

Tableau I.3 : Ecart de température en été par rapport à la moyenne de référence 1976-2005. C25 et C75 sont respectivement les 25^e et 75^e centiles de l'ensemble de modèles régionaux Euro-Cordex. Extrait de Ouzeau et al. (2014).

	Scénario	C25	Modèle WRF	Modèle Aladin- Climat	C75
Horizon 2021-2050	RCP4.5	+0,6 °C	+1 °C	+1,3 °C	+1,9 °C
	RCP8.5	+0,9 °C	+0,6 °C	+1,2 °C	+2,0 °C
Horizon 2071-2100	RCP4.5	+1,4 °C	+1,2 °C	+2,9 °C	+2,9 °C
	RCP8.5	+3,2 °C	+2,6 °C	+5,3 °C	+5,1 °C

Tableau I.4 : Ecart de précipitations (mm.jour⁻¹) en été par rapport à la période de référence 1976-2005. C25 et C75 sont respectivement les 25^e et 75^e centiles de l'ensemble de modèles régionaux Euro-Cordex. Extrait de Ouzeau et al. (2014).

	Scénario	C25	Modèle WRF	Modèle Aladin- Climat	C75
Horizon 2021-2050	RCP4.5	-0,40	+0,42	+0,36	0
	RCP8.5	-0,49	+0,08	+0,15	0
Horizon 2071-2100	RCP4.5	-0,48	+0,15	-0,16	0
	RCP8.5	-0,70	+0,32	-0,38	-0,17

Il est donc illusoire d'espérer des simulations chiffrées et fiables du comportement de la vigne dans le futur. La seule attitude possible est d'essayer de préciser des sens de variations, et, en termes d'adaptation, d'envisager les scénarios les plus défavorables. Il faut adopter une position de prises de décision sans regrets et ne pas hésiter à travailler sur les adaptations possibles: si les conditions climatiques évoluent finalement moins que les modèles ne le prévoyait, les solutions envisagées seront d'autant plus facilement applicables. Par contre, si les conditions climatiques deviennent difficiles, les mesures d'adaptation possibles seront opérationnelles.

En l'occurrence, pour la vigne, il faut anticiper des températures plus élevées sur l'ensemble du cycle de développement, mais surtout en été, ainsi que des restrictions de l'alimentation en eau.

Nous allons envisager les conséquences potentielles du changement climatique sur le cycle de développement, la productivité et la qualité des raisins.

2. Une avancée des stades de développement

L'effet le plus visible des changements climatiques, observé dans tous les vignobles du monde, est une avancée des stades de développement (Duchêne et Schneider 2005; Jones et Davis 2000; Petrie et Sadras 2008; Ramos et al. 2008). Le lien entre la température de l'air est si étroit qu'il a été utilisé dans des modèles de prévisions des stades, comme nous l'avons vu précédemment, mais aussi pour reconstruire des températures du passé (Chuine et al. 2004). Les modèles de prévisions de stades prévoient une avancée des dates de véraison de deux à trois semaines d'ici 2050 par rapport aux 30 dernières années (Moriondo et al. 2011; Webb et al. 2007). À partir de modèles empiriques, Barnaud et al. (2014b) montrent que l'avancée des dates auxquelles les teneurs en sucres des raisins atteignent 22 °Brix* sera plus marquée dans les régions fraîches que dans les régions chaudes en Australie.

Comme les dates de véraison seront plus précoces, la période de maturation des raisins se décalera vers les périodes les plus chaudes de l'été, ce qui pourra avoir des répercussions significatives sur la composition des raisins.

3. Des incertitudes sur la productivité

On attend de concentrations de l'air en CO₂ élevées et de davantage de rayonnement une production de biomasse accrue (Bindi et al. 2001; Garcia de Cortazar Atauri 2006; Moutinho-Pereira et al. 2009). Cette augmentation potentielle sera cependant potentiellement limitée par la disponibilité en eau, en particulier en fin de saison (Garcia de Cortazar Atauri 2006). Certains modèles ne prévoient cependant pas une réduction significative du confort hydrique de la vigne en France avant récolte (Brisson et Levrault 2010; Pieri et Lebon 2014). Ce résultat est cohérent avec un cycle de développement plus court. Ces auteurs anticipent cependant des stress hydriques plus marqués après les vendanges ainsi qu'une restitution d'eau au milieu plus faible qui peut soulever des inquiétudes sur le rechargement des nappes phréatiques à moyen-long terme. Indépendamment des résultats de simulations, il y a dans la communauté scientifique internationale travaillant sur la vigne une inquiétude sur la satisfaction des besoins en eau de la vigne dans le futur, qui se traduit par un nombre de publications en augmentation régulière sur ce thème, multiplié par un facteur supérieur à deux entre 2009 et 2014 (Web of Science, 1^{er} février 2015). Les conséquences du changement climatique sont d'autant plus complexes à anticiper que l'on sait qu'il y a de fortes interactions entre teneurs en CO₂ de l'air et alimentation en eau. En effet, une augmentation des concentrations en CO₂ de l'air améliore l'efficacité d'utilisation de l'eau car la quantité de CO₂ pouvant pénétrer dans la plante pourra rester constante même si l'ouverture des stomates, et donc la transpiration, est réduite (Schultz 2000).

S'il y a des incertitudes sur la production totale de biomasse, les effets des changements climatiques sur le rendement sont encore plus difficiles à anticiper. En se basant sur des modèles statistiques, Santos et al. (2011) concluent que le changement climatique pourrait avoir un effet positif sur la productivité de la vigne dans la région du Douro au Portugal. À l'opposé, Lobell et al. (2006) anticipent en Californie des baisses de rendement, plus prononcées pour les raisins de table que pour les raisins de cuve. Avec des modèles mécanistiques, les conclusions sont très dépendantes des régions étudiées (Garcia de Cortazar Atauri 2006) et des jeux de données climatiques utilisés (Bindi et al. 1996). La tendance générale qui se dessine pour le Sud de la France et l'Italie est toutefois une baisse du potentiel de rendement dans le futur (Bindi et al. 1996; Garcia de Cortazar Atauri 2006; Moriondo et al. 2011).

Le nombre de rameaux primaires par plante est fixé par le viticulteur au moment de la taille. Il peut également être ajusté après le débourrement. Le viticulteur peut alors décider d'enlever ou non les

rameaux secondaires. Sauf accident climatique tel qu'un gel printanier, de violents orages ou de la grêle, le nombre de rameaux fertiles par plante dépend très peu des conditions climatiques.

Le nombre de fleurs fixe un plafond au nombre de baies par plante ou par unité de surface (Duchêne et al. 2001a). Cette variable dépend d'une part du nombre de fleurs par inflorescence et d'autre part du nombre d'inflorescences par rameau. Le changement climatique peut affecter les deux variables. En effet, des résultats montrent que le nombre d'inflorescences augmente avec la température et l'éclairement pendant l'initiation florale (Buttrose 1970), et plus généralement avec la vigueur des plantes (Huglin 1958; Huglin et Schneider 1998). Cependant, plus les températures sont élevées à l'époque du débourrement, plus le nombre de fleurs par inflorescence est bas (Keller et al. 2010; Petrie et Clingeleffer 2005; Pouget 1981). Si l'on poursuit le raisonnement plus loin, si le débourrement avance avec le réchauffement global, il aura sans doute lieu dans des conditions de températures telles que nous les connaissons actuellement. Une diminution du nombre de fleurs par inflorescence dans le futur à cause de températures chaudes autour du débourrement n'est pas acquise, sauf si les débournements sont retardés de manière significative par non satisfaction des besoins en froid pour la levée de dormance. Il est difficile de conclure. Des gels printaniers après le débourrement peuvent également être dommageables mais les simulations de Molitor et al. (2014a) ont montré qu'au Luxembourg, avec la variété Müller-Thurgau, ce risque devrait s'atténuer dans le futur.

Les lacunes des connaissances que l'on a sur les déterminants des dates de débourrement et de la variabilité génétique des besoins en froid pour la levée de dormance doivent inciter à la prudence par rapport à toutes les conclusions que l'on pourrait tirer sur les effets des changements climatiques sur le potentiel de nombre de fleurs par l'intermédiaire des dates de débourrement.

Il est par contre certain que des restrictions dans l'alimentation en eau réduisent le nombre d'inflorescences initiées (Buttrose 1974; Guilpart et al. 2014; Matthews et Anderson 1989). J'ai ainsi montré sur des plantes en serre qu'un stress hydrique au cours d'une année pouvait fortement modifier la croissance des plantes sans affecter le nombre de baies. L'année suivante par contre le nombre de fleurs par rameau avait été fortement diminué dans les traitements à fort stress hydrique de l'année précédente (Duchêne et al. 2014).

Un stress hydrique affecte également la croissance des baies, surtout s'il a lieu avant véraison (Intrigliolo et al. 2012; Niculcea et al. 2014).

Le rôle des concentrations atmosphériques en CO₂ sur le nombre d'inflorescences et le sur nombre de fleurs n'a, à ma connaissance, pas été étudié. Il est vraisemblable qu'il soit positif car la fertilité des bourgeons augmente avec la vigueur des plantes (Huglin et Schneider 1998), elle même plus élevée quand les concentrations atmosphériques en CO₂ sont élevées (Bindi et al. 2001). Dans le même ordre d'idée, Guilpart et al. (2014) ont montré que la nutrition azotée d'une année avait des

conséquences sur la fertilité des bourgeons et donc sur le nombre de fleurs et de baies par rameau l'année suivante.

Il est difficile de se faire une idée générale des conséquences des changements climatiques sur le potentiel de rendement de la vigne car d'une part plusieurs composantes du rendement peuvent être affectées et d'autre part les facteurs impliqués sont multiples. Cependant, la principale crainte, plus issue d'un ressenti des experts que des résultats de modélisation (Pieri et Lebon 2014), est que les rendements dans le futur seront limités par la disponibilité en eau en été, qui conditionne non seulement le grossissement des baies au cours de la même saison mais également le potentiel de production de la saison qui suit.

La productivité peut également être affectée par une augmentation de la fréquence d'évènements extrêmes (vagues de chaleur, fortes précipitations) suite au réchauffement global (IPCC 2013). Cette information qualitative est difficile à intégrer dans une démarche d'adaptation mais doit rester présente à l'esprit. Elle dépend également de la pression des parasites de la vigne et de leur contrôle. Plusieurs études ont cherché à évaluer l'évolution de la pression parasitaire, ravageurs ou champignons, dans le futur (Bregaglio et al. 2013; Caffarra et al. 2012; Caubel et al. 2014; Pugliese et al. 2010; Salinari et al. 2006). Les conclusions dépendent beaucoup des modèles et des scénarios utilisés. Cet aspect des conséquences des changements climatiques sur la vigne ne sera pas développé ici, pas plus que la variabilité génétique qui peut être utilisée pour y faire face.

4. Effets sur la composition des raisins et des vins

Les températures élevées accélèrent la baisse de l'acidité des raisins, suite à une dégradation plus rapide de l'acide malique (Buttrose et al. 1971; Kliwer 1971; Sweetman et al. 2014). Des conclusions allant dans ce sens peuvent être tirées de la comparaisons de régions viticoles (Barnuud et al. 2014b) ou de millésimes (Neethling et al. 2012). Comme les quantités d'acide tartrique par baie n'évoluent quasiment pas au cours de la maturation, des variétés devraient être d'autant moins sensibles aux changements climatiques que leur ratio acide tartrique/acide malique des raisins est élevé (Shiraishi 1995).

Une augmentation des teneurs en sucres des raisins ou des teneurs en alcool des vins au cours des dernières décennies a souvent été observée (Alston et al. 2011; Duchêne et Schneider 2005; Neethling et al. 2012). Même s'il faut avoir à l'esprit le rôle des techniques viticoles, des dates de véraison plus précoces et des conditions de maturation plus favorables ont indéniablement joué un rôle clé dans cette évolution. Récolter plus tôt pour éviter des teneurs en alcool trop élevées n'est souvent pas la solution adéquate car les raisins n'auraient pas forcément une maturité phénolique satisfaisante (Palliotti et al. 2013; Sadras et Moran 2012).

Les fortes températures sont dommageables à l'accumulation des anthocyanes dans les baies (Kliewer 1970; Mori et al. 2007; Teixeira et al. 2013), mais davantage de rayonnement solaire a un effet opposé (Teixeira et al. 2013). Des résultats empiriques montrent que des températures élevées sont en général défavorables à la qualité des vins (Jones et al. 2005; Moriondo et al. 2011; Tonietto et Carbonneau 2004), mais il y a jusqu'à présent très peu de résultats expérimentaux convaincants sur l'effet des températures sur la composition en arôme des raisins. Bureau et al. (2000) ont étudié l'effet de l'environnement lumineux sur les composés aromatiques en comparant des grappes de Muscat à petits grains blanc au soleil, à l'ombre, et protégées du soleil par des sacs noirs. Ils ont quantifié, entre autres, des molécules de la famille des terpénols, qui participent aux arômes de Muscat. Les teneurs en terpénols les plus élevées ont été mesurées dans les grappes à l'ombre et les plus faibles dans les grappes emballées dans les sacs noirs. Les auteurs proposent que ces différences pourraient être dues à une modification du ratio rouge/rouge lointain dans la lumière atteignant les grappes, mais aussi, et peut-être surtout, aux températures plus élevées en moyenne de 2 °C dans les sacs. Cela serait cohérent avec les résultats de Reynolds et Wardle (1993) montrant que les sites frais sont plus favorables à l'accumulation de terpénols que les sites chauds. Le climat du futur risque également de se caractériser par des vagues de chaleur plus fréquentes et plus intenses (Schar et al. 2004). Ce phénomène pose déjà des problèmes en Australie (Hayman et al. 2012). Les baies de raisins colorés en cours de murissement y sont particulièrement sensibles car d'une part les baies, n'ayant pratiquement pas de stomates, n'ont qu'une capacité réduite de refroidissement par évaporation d'eau, d'autre part car les pellicules sombres réfléchissent moins les rayonnements que des pellicules vertes ou claires. La température d'une baie rouge peut être jusqu'à 10 °C plus élevée que celle de l'air ambiant (Pieri et Fermaud 2005). Ces excès de température peuvent provoquer des retards de maturation (Greer et Weedon 2013), mais aussi des flétrissements de baies ou des brûlures conduisant à des pertes de rendement. Une variété comme la Syrah est beaucoup plus sensible à ces phénomènes de flétrissement que le Chardonnay (Bonada et al. 2013).

Des restrictions de l'alimentation en eau entraînent une régulation de la transpiration par l'intermédiaire de l'ouverture des stomates. Une conséquence directe d'un manque d'eau peut être une réduction de la production de biomasse. La réduction de la transpiration va également s'accompagner d'une élévation de la température de la plante par rapport à la température de l'air (Garcia de Cortazar Atauri et al. 2009). L'alimentation en eau joue un rôle central dans la physiologie de la plante. Même si les mécanismes ne sont pas encore décrits avec précision, des restrictions modérées de l'alimentation en eau sont en général favorables à l'accumulation des anthocyanes (Santesteban et al. 2011; Van Leeuwen et al. 2009), des terpénols (Schüttler 2013) et des sucres dans les raisins (Van Leeuwen et al. 2009). À l'inverse, des expérimentations montrent que les teneurs en thiols volatils des vins sont plus

élevées en situation de bonne alimentation en eau (Schüttler 2013) mais des résultats opposés ont également été rapportés (Kobayashi et al. 2011).

Le changement climatique est en premier lieu une conséquence de l'augmentation des teneurs en CO₂ de l'air. Dans des expérimentations d'apport de CO₂ sur des plantes au vignoble (« FACE experiments »), l'impact de teneurs en CO₂ élevées sur le métabolisme primaire, à savoir les sucres et les acides, est faible (Bindi et al. 2001; Gonçalves et al. 2009).

Au contraire, Gonçalves et al. (2009) montrent des résultats dans lesquels des teneurs en CO₂ élevées modifient la composition en métabolites secondaires des vins. Tout un champ de recherches reste à explorer dans ce domaine.

D. Quelles sont les voies d'adaptation possibles de la viticulture au changement climatique ?

L'adaptation des activités viticoles au changement climatique peut s'envisager selon plusieurs points de vue. On pourrait considérer qu'une adaptation réussie, lorsque nous serons en 2050, est que la création de richesse apportée par la viticulture à l'économie nationale est identique, voire supérieure à celle d'aujourd'hui. On pourrait donc envisager un processus d'adaptation national, qui pourrait inclure la création de vignobles dans des zones où la vigne est actuellement absente. Il est clair, aussi bien en Europe (Malheiro et al. 2010) que sur le continent Américain (White et al. 2006), que le réchauffement global conduit à une extension de l'aire potentielle de culture de la vigne. Il y a donc des opportunités à saisir en France dans des zones soient plus septentrionales soit à des altitudes plus élevées. Implanter des vignobles, acquérir des savoir-faire pour la production de vins, trouver des débouchés commerciaux est un effort important mais d'autres pays s'y sont risqués dans le passé. L'augmentation des surfaces cultivées en vigne au Royaume-Uni, passées de 773 ha en 2003 à 1884 ha en 2013 (English Wine Producers Association 2014) montre qu'une telle démarche n'est pas simplement une vue de l'esprit.

Un autre point de vue pourrait être celui d'un producteur: si la culture de la vigne devient moins rentable, l'adaptation consiste peut-être pour lui, pour conserver ses revenus, à modifier son système de production, quitte à ne plus produire de raisins. Une alternative est de changer complètement le type de vin produit: passer d'une production de vins blancs à une production de vins rouges par exemple. Un tel saut est presque équivalent à celui de l'implantation de nouveaux vignobles en termes de savoir-faire à acquérir et de débouchés à trouver. L'échelle de temps pour y parvenir est la décennie.

La communauté scientifique et les interprofessions, envisagent cependant à ce jour l'adaptation comme un maintien dans le futur d'une part des volumes produits et d'autre part de la typicité des vins dans les zones viticoles actuelles. Il y a pour cela plusieurs leviers. En conservant les variétés actuelles, la

première idée est de rechercher des situations où les raisins continueraient de mûrir dans des conditions relativement fraîches. Cet objectif peut-être atteint avec des parcelles plus en altitude (Caffarra et Eccel 2011) ou en explorant la variabilité climatique au sein d'une zone actuelle de production (Bonnefoy et al. 2013).

Le second levier est de revisiter les modes de conduite de la vigne. Jusqu'il y a peu, le principal objet des recherches en viticulture était d'obtenir les teneurs en sucres les plus élevées possibles, et les acidités les plus basses. De nombreux travaux ont donc cherché à maximiser la surface foliaire exposée et à exposer le plus possible les grappes au soleil (Carbonneau 1989). Cette tendance est en train de complètement s'inverser puisqu'une des préoccupations majeures est actuellement de maîtriser les teneurs en alcool des vins et par conséquent les teneurs en sucres des raisins. Un congrès a été totalement dédié à ce thème en 2013 (Teisseidre 2013). On voit donc apparaître des travaux proposant de nouvelles techniques viticoles, y compris l'application de produits chimiques pour maintenir une composition des raisins optimale (Correia et al. 2014; Hayman et al. 2012; Martinez de Toda et al. 2014; Palliotti et al. 2013; Palliotti et al. 2014; Stoll et al. 2010). Nous disposons aujourd'hui de méthodes faisant appel à la modélisation en trois dimensions des couverts de vigne (Louarn et al. 2008) pour imaginer, puis tester, des modes de conduite minimisant la consommation en eau et exposant le moins possible les grappes au soleil. Ce type d'approche permet une meilleure efficacité dans la conception des systèmes à expérimenter.

Le dernier levier est le choix du matériel végétal. La vigne est cultivée dans de nombreuses régions du monde, sous des climats très contrastés, et il existe une large variété de génotypes de greffons et de porte-greffe qui peut être exploitée soit directement, soit dans des programmes de création variétale pour trouver des combinaisons permettant *a priori* de répondre au défi du changement climatique. Le présent travail vise justement à évaluer les possibilités offertes par la génétique dans cette perspective. Je vais donc dans un premier temps décrire les sources de variabilité génétique. Dans un deuxième temps j'aborderai les méthodes permettant d'identifier des régions du génome gouvernant des caractères d'intérêt agronomique puis je décrirai l'état actuel des connaissances sur la variabilité génétique qui pourrait être exploitée pour l'adaptation au changement climatique.

E. Génétique de la vigne

1. Structure du génome et sources de variabilité

La vigne est une plante diploïde dont la taille du génome est estimée à 487 millions de bases (Mb) (Jaillon et al. 2007). Ce génome est fortement hétérozygote, avec un taux d'hétérozygotie proche de 70 % d'après la variabilité de marqueurs microsatellites (Adam-Blondon et al. 2004).

La vigne sauvage *Vitis vinifera* subsp. *sylvestris* est une espèce dioïque produisant de petites baies colorées, peu sucrées, acides et quasiment sans pulpe. Les êtres humains ont cherché dans le processus de domestication avant tout des plantes hermaphrodites produisant de nombreuses grosses baies sucrées (This et al. 2006).

Grâce à l'utilisation de marqueurs moléculaires, l'histoire de l'évolution de la vigne est bien décrite (Bacilieri et al. 2013; Lacombe et al. 2013). Les analyses de la variabilité génétique dans les collections de l'INRA à Vassal ont permis de structurer les collections en trois groupes: les variétés de vigne pour raisins de cuve de l'Europe de l'Ouest, les variétés pour raisins de cuve de l'Europe de l'Est et des Balkans, les variétés de table du Moyen Orient, du Caucase et de l'Orient lointain. Cette structuration est cohérente avec des voies de migration et de diffusion à partir du centre historique de domestication de la vigne (Sud du Caucase, croissant fertile): l'une vers l'est, l'autre par le sud de la Méditerranée, la troisième par le nord (Bacilieri et al. 2013). Dans cette étude, les péninsules italienne et ibérique apparaissent comme des lieux de forts échanges de variétés et de croisements.

Aujourd'hui 2490 accessions de *Vitis vinifera* sont référencées dans le « Vitis International Variety Catalogue » (<http://www.vivc.de>, janvier 2015). Cette grande diversité est le fruit de deux sources de variations: les mutations spontanées et la reproduction sexuée.

Hormis dans les instituts de recherche ou de création variétale, les plants de vigne sont issus d'un processus de reproduction végétative. De nouvelles caractéristiques peuvent apparaître spontanément dans les méristèmes des bourgeons après des modifications accidentelles de l'ADN. Celles-ci peuvent être des changements de nucléotide à une position donnée (Single Nucleotide Polymorphism, SNP), des insertions ou des délétions de petits fragments d'ADN, des insertions d'éléments transposables qui peuvent être de plusieurs kilobases (Pelsy 2010), voire des remaniements chromosomiques de grande ampleur (Pelsy et al. 2015). Ces mutations n'ont pas toujours de conséquences visibles sur le phénotype des plantes. Quand elles en ont, la nouvelle plante peut avoir des caractéristiques intéressantes pour l'utilisateur: absence de couleur (Kobayashi et al. 2004), arômes muscatés (Hugueney et al. 2012), port érigé,... Cette génération spontanée de variabilité génétique se poursuit sous nos yeux, et conduit à ce que l'on nomme variation clonale: au sein d'une variété, des plantes légèrement différentes peuvent être identifiées et leurs caractéristiques transmises par

multiplication végétative. Ces mutations n'affectent parfois qu'une seule couche cellulaire, conduisant à la formation des plantes chimériques (Pelsy 2010). Le Pinot gris (Hocquigny et al. 2004) et le Pinot meunier (Franks et al. 2002) sont des exemples de génotypes de vigne chimériques. Les collections de clones existant dans tous les vignobles français peuvent être explorées pour trouver des variations phénotypiques qui pourraient être utiles dans l'adaptation au changement climatique.

L'autre source majeure de diversité génétique et phénotypique est la reproduction sexuée. Le génome de la vigne est fortement hétérozygote (Adam-Blondon et al. 2004) et comprend dix-neuf chromosomes, ce qui signifie qu'un croisement entre deux variétés va générer une infinité de descendants différents. De nombreuses variétés de premier plan telles le Cabernet-Sauvignon (Bowers et Meredith 1997), le Chardonnay (Bowers et al. 1999a) ou le Merlot (Boursiquot et al. 2009) sont les descendants de variétés connues. L'étendue des liens de parenté entre génotypes de vigne est étonnamment large. En étudiant grâce à des marqueurs moléculaires ces relations dans un panel de 2344 génotypes uniques dans les collections de l'INRA de Vassal, Lacombe et al. (2013) ont identifiés seulement 276 génotypes sans aucune relation de parenté avec d'autres génotypes. Ces auteurs ont par contre révélé le pedigree complet de 828 variétés. Ce chiffre montre que la reproduction sexuée, contrôlée ou non par l'homme, est un moteur important de création de diversité.

2. Mise en évidence des relations entre génotypes et phénotypes

a) Marqueurs moléculaires et cartes génétiques

Les chercheurs ont à leur disposition plusieurs méthodes pour mettre en relation des variations génétiques et des variations phénotypiques. La première, d'un point de vue historique, a été utilisée pour de nombreux organismes vivants, qu'ils s'agissent de levures (Steyer et al. 2012), de plantes (Paterson et al. 1991) ou d'animaux (Haley 1991). Son principe est de générer de la variabilité génétique grâce à la reproduction sexuée: des centaines de descendants sont obtenus en croisant deux génotypes parents choisis pour certains caractères d'intérêt. On fait l'hypothèse que le caractère étudié sera en ségrégation dans la descendance et chacun des génotypes sera caractérisé pour ce trait. En parallèle, l'information génétique de chacun des descendants sera révélée en utilisant des marqueurs moléculaires sur l'ADN.

On recense plusieurs types de marqueurs moléculaires, mais dans tous les cas, on leur demande un certain nombre de caractéristiques:

- être polymorphes,
- être spécifiques d'un locus et avoir un comportement Mendélien
- si possible être co-dominants c'est-à-dire que l'on pourra distinguer les combinaisons AA, Aa et aa dans une F2. Avec un marqueur dominant, les combinaisons AA et Aa ne seront pas différenciables.

Sur la vigne, plusieurs types de marqueurs moléculaires ont été utilisés pour décrire des génomes entiers:

- Random Amplified Polymorphic DNA, RAPD (Lodhi et al. 1997; Loureiro et al. 1998),
- Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP (Lodhi et al. 1995),
- Cleaved Amplified Polymorphic Sequence, CAPS (Dalbo et al. 2000),
- Amplified Fragment Length Polymorphism, AFLP (Dalbo et al. 2000; Grando et al. 2003),
- Variabilité liée aux insertions de rétrotransposons (D'Onofrio et al. 2010; Pelsy 2007).

Ce sont néanmoins les marqueurs microsatellites qui ont été les plus utilisés. Ils sont en effet abondants, bien répartis dans le génome, polymorphes, Mendéliens, locus spécifiques et co-dominants (Merdinoglu et al. 2005). Ils sont de plus relativement faciles à mettre en œuvre et permettent des comparaisons fiables des résultats entre laboratoires. Ces marqueurs caractérisent un nombre de motifs répétés sur l'ADN qui leur a donné leur nom en Anglais: Simple Sequence Repeat (SSR). Les régions flanquant ces motifs sont très spécifiques, ce qui permet de dessiner des amorces pour des amplifications PCR (Polymerase Chain Reaction) permettant une amplification sélective de la région d'intérêt, et de révéler un polymorphisme de nombre de répétitions du motif à ce locus. Plusieurs équipes à travers le monde ont proposé des couples d'amorces PCR pour la vigne (Bowers et al. 1999b; Bowers et al. 1996; Di Gaspero et al. 2005; Di Gaspero et al. 2000; Merdinoglu et al. 2005; Sefc et al. 1999; Thomas et Scott 1993). Une recherche sur NCBI des SSRs utilisables sur la vigne fournit 1066 propositions (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/probe>, 3/2/2015). Le laboratoire INRA de Colmar dispose à ce jour de plus de 600 couples d'amorces PCR pour microsatellites.

L'inconvénient des marqueurs microsatellites est que d'une part ce sont des marqueurs neutres, *a priori* sans effets sur le phénotype, et d'autre part que l'on peut les mettre en œuvre au mieux par groupes de 12, en les multiplexant (Merdinoglu et al. 2005).

Les chercheurs ont donc travaillé sur des méthodes permettant de révéler à plus ou moins haut-débit des variations de nucléotides (SNP) (Lijavetzky et al. 2007; Troggio et al. 2007; Vezzulli et al. 2008). Avec ces outils, les cartes génétiques peuvent intégrer plus de 1000 marqueurs, tous types confondus (Vezzulli et al. 2008).

Un saut technologique, développé dans le paragraphe suivant, a eu lieu avec l'utilisation de puces à ADN et les techniques de séquençages haut-débit.

Après la détection de 70 000 SNPs par séquençage, Myles et al. (2011) ont développé une puce à ADN permettant de révéler les SNPs sur 9 000 points du génome. Cet outil leur a permis de caractériser plus de 1 000 accessions de *Vitis vinifera* (subsp. *vinifera* et *sylvestris*) et de proposer une structuration génétique de la vigne domestique. Un outil similaire a été développé dans le cadre du projet GrapeReseq (Le Paslier 2013). Après le reséquençage de 65 accessions provenant de différentes espèces du genre *Vitis* (dont 43 *V. vinifera*) et de l'espèce *Muscadinia rotundifolia*, $4,3 \times 10^6$ SNPs ont été détectés

dans *V. vinifera* et $3,4 \times 10^6$ dans les espèces apparentées. Après un important travail de filtrage, 18 071 SNPs ont été retenus pour être révélés sur une puce Illumina® Infinium. Près de 2 280 génotypes ont déjà été caractérisés avec cet outil (Le Paslier 2013).

Le « Genotyping by sequencing » ou GBS est un deuxième type de technologie à haut débit opérationnelle à ce jour (Elshire et al. 2011). Le principe consiste à

- digérer l'ADN par une enzyme de restriction (ApeKI pour la vigne par exemple) pour réduire la complexité à analyser,
- lier aux fragments d'ADN des adaptateurs correspondant au site de restriction mais aussi des motifs qui permettent d'identifier les échantillons (« barcoding »),
- lier des adaptateurs supplémentaires pour des amplifications PCR,
- séquencer tous les fragments avec un séquenceur haut-débit, type Illumina HiSeq, après avoir rassemblé jusqu'à 96 échantillons,
- séparer bioinformatiquement les séquences selon les « codes barres »,
- détecter les SNPs après alignement sur une séquence de référence.

Cette technique permet de détecter jusqu'à 200 000 SNPs dans un échantillon (Elshire et al. 2011). Cette procédure a permis à Wang et al. (2012) de cartographier 1 814 SNPs dans une descendance de 100 individus d'un croisement de plusieurs espèces de *Vitis*. De même, Barba et al. (2014) ont identifiés 16 833 SNPs pour caractériser les descendants d'un croisement *V. rupestris* B38 par *V. vinifera* Chardonnay. Le nombre de SNPs utilisés pour la cartographie est cependant beaucoup plus réduit (1 146 pour la carte *V. rupestris* B38, 1 215 pour la carte *V. vinifera* Chardonnay). En effet dans cette configuration, c'est le nombre d'individus analysés qui gouverne les fréquences de recombinaison et le nombre de marqueurs redondants sera d'autant plus élevé que la population sera petite.

La technologie GBS trouve tout son sens pour les études de diversité et de génétique d'association car l'on sait que le déséquilibre de liaison décroît rapidement chez la vigne (Myles et al. 2011).

La construction de cartes génétiques à partir de marqueurs moléculaires est basée sur le calcul de fréquences de recombinaison entre marqueurs. Différents algorithmes mathématiques permettent dans un premier temps de constituer des groupes de liaison: des marqueurs sur des groupes différents auront des ségrégations indépendantes dans les descendance. Dans un deuxième temps, les marqueurs sont ordonnés au sein des groupes de liaison selon des méthodes maximisant la vraisemblance des observations.

Une carte génétique est donc une représentation des liaisons mathématiques entre marqueurs, calculées en centiMorgan (cM). La distance entre deux marqueurs est de 1 cM si on observe entre les deux un crossing-over pour 100 événements de méiose. Des logiciels spécialisés sont dédiés à ces calculs (JoinMap, Carthagene, R/QTL,...). Les distances génétiques sont additives alors que les taux de

recombinaison ne le sont pas. La distance de Kosambi est en général préférée à celle de Haldane car elle fait l'hypothèse qu'il y a des interférences entre les crossing over: la probabilité d'observer des recombinaisons dans deux régions sur un même chromosome décroît lorsque ces deux régions sont proches.

Si r est une fréquence de recombinaison, la distance de Haldane est : $D_h = -0.5 \ln(1-2r)$. La distance de Kosambi est $D_k = -0.25 \ln((1+2r)/(1-2r))$ (Lynch et Walsh 1998). La relation entre distance physique et distance génétique est variable selon les espèces. Elle varie de 6 kb.cM⁻¹ pour la levure à 2140 kb.cM⁻¹ pour le maïs (Lynch et Walsh 1998). Chez la vigne, Troggio et al. (2007) estiment le taux global à 385 kb.cM⁻¹ mais identifient des régions de plus 400 kb sans recombinaisons, et à l'autre extrême une région avec 24 kb.cM⁻¹.

b) Détection de loci à effets quantitatifs

En parallèle à l'acquisition d'information sur le patrimoine des individus, des données phénotypiques sont mesurées. Ces données peuvent être descriptives (couleur, sexe, présence de pépins...) ou quantitatives. Tous les caractères mesurables peuvent être analysés que ce soient des niveaux de résistance aux maladies, de productivité, ou des paramètres de composition de la baie.

Les caractères qualitatifs peuvent être encodés comme des marqueurs moléculaires, avec un codage du type présence/absence. Ils peuvent ainsi être inclus directement dans les fichiers de génotypage et être cartographiés de la même façon que des marqueurs moléculaires. Les régions gouvernant la couleur des raisins (Doligez et al. 2002) ou le sexe des fleurs (Dalbo et al. 2000) ont pu être identifiées avec cette méthode.

Avec les caractères quantitatifs, dont les variations sont continues, l'idée initiale est que ces caractères sont gouvernés par plusieurs loci dont les effets alléliques se cumulent et que ces effets peuvent dépendre d'autres facteurs, en particulier liés à l'environnement (Kearsey et Pooni 1996). De tels loci sont appelés Quantitative Trait Loci en Anglais, et l'acronyme correspondant est QTL. Plusieurs méthodes ont été proposées pour les détecter. Les analyses peuvent être effectuées locus par locus avec des test non paramétriques tels que celui de Kruskal-Wallis (Van Ooijen et Voorrips 2001) ou par des analyses de variance (Broman et Saunak 2009).

La puissance de la détection de QTLs prend tout son sens par l'exploration des espaces à proximité des marqueurs sur les cartes génétiques. Cette approche proposée d'abord par Weller (1987) a été complétée par Lander et Botstein (1989): entre deux marqueurs, on peut calculer selon un pas donné en cM, des probabilités d'observer un génotype. À chacune de ses positions, on peut calculer une vraisemblance (likelihood) à l'aide du jeu de données phénotypiques sous l'hypothèse que les variations alléliques ont des effets, c'est-à-dire qu'il y a un QTL à cette position. Ces effets alléliques seront estimés, de même qu'une variance, de manière à maximiser cette vraisemblance. On calcule à la

même position la vraisemblance sans effets alléliques, c'est-à-dire à partir de la moyenne et de la variance des valeurs observées. Le logarithme du ratio de ces deux vraisemblances est nommé « Logarithm of the Odds » (LOD). Le LOD score traduit donc la vraisemblance de la présence d'un QTL à un locus donné. L'exploration systématique des cartes génétiques, y compris entre marqueurs, produit donc des courbes de LOD score. L'estimation d'un maximum de vraisemblance n'est cependant pas la seule méthode utilisable pour explorer des régions entre marqueurs. Haley et Knott (1992) ont ainsi proposé une méthode basée sur une méthode de régression. Des tests de permutation (Doerge et Churchill 1996) permettent de simuler des jeux de données et de déterminer à quelle fréquence un LOD score donnée apparaît du fait du hasard. Cette fréquence peut être calculée par chromosome (« chromosome wide type I error ») ou pour le génome entier (« genome wide type I error »). Ces méthodes de cartographie d'intervalles ont été perfectionnées pour tenir compte des QTLs déjà détectés à d'autres positions du génome. On peut citer à ce titre les méthodes « Composite Interval Mapping » (Jansen et Stam 1994; Zeng 1994) et « Multiple Interval Mapping » (Kao et al. 1999).

Ces calculs de détection de QTLs sont effectués avec des logiciels dédiés (MapQTL, QTL Cartographer, R/QTL) dans lesquels plusieurs méthodes de détection sont disponibles.

De nombreux QTLs ont été détectés chez la vigne (revue par Martinez-Zapater et al. 2010) pour des caractères tels que la résistance aux maladies fongiques (Bellin et al. 2009; Blasi et al. 2011), les arômes des baies (Battilana et al. 2009; Duchêne et al. 2009) ou les stades de développement (Costantini et al. 2008; Grzeskowiak et al. 2013). La séquence complète du génome de la vigne (Jaillon et al. 2007) est devenue un outil incontournable pour identifier, dans les régions où des QTLs sont détectés, des gènes susceptibles d'expliquer des variations dans les caractères d'intérêt.

L'autre méthode pour établir des relations entre génotype et phénotype est d'étudier de grandes populations de génotypes sans lien de parenté entre eux. Cette méthode, la génétique d'association, a été utilisée pour identifier des allèles gouvernant les variations de teneurs en terpénols (Emanuelli et al. 2010) ou en anthocyanes des raisins (Fournier-Level et al. 2009). Les outils informatiques utilisés en génétique d'association sont différents de ceux utilisés pour la détection de QTLs dans des descendants de croisement.

En regard des nombreux travaux montrant des relations statistiques entre des variations alléliques et des variations phénotypiques, il y a très peu de cas où un lien fonctionnel entre des variations de séquences d'ADN et des variations de caractéristiques agronomiques ou technologiques a pu être établi (Battilana et al. 2011; Feechan et al. 2013; Hugueney et al. 2012; Kobayashi et al. 2004; Mejia et al. 2011).

Cela n'empêche pas les marqueurs moléculaires d'être utilisés en routine dans les programmes d'amélioration variétale (Eibach et al. 2007; Riaz et al. 2009). Ces programmes sont actuellement

centrés sur la sélection de variétés résistantes aux maladies fongiques. Les connaissances utiles dans le cadre de l'adaptation au changement climatique sont cependant de plus en plus nombreuses.

F. La variabilité génétique et l'adaptation au changement climatique

En complément de l'exploration de nouvelles aires de culture ou de la mise en œuvre de nouveaux modes de conduite, utiliser de nouveaux génotypes, aussi bien pour le porte-greffe que pour le greffon, est un moyen d'adaptation très puissant. Trouver de nouvelles combinaisons porte-greffe x greffon x modes de conduite capables de produire des vins marchands est un objectif réaliste pour la plupart des vignobles. Garantir un niveau de productivité équivalent à celui d'aujourd'hui n'est cependant pas acquis.

1. Phénologie

Une des premières idées qui vient à l'esprit quand on évoque l'adaptation à des conditions plus chaudes est de préconiser l'usage de clones ou de variétés plus tardives. La variabilité existant pour la floraison ou pour la véraison est bien décrite. Dans un travail de compilation de données pour 95 cultivars de *Vitis vinifera*, Parker et al. (2013) montrent une variation entre 1120 °C.d (Meunier) à 1411 °C.d (Semebat) pour le cumul des températures moyennes (base 0 °C) depuis le 1^{er} mars pour atteindre la floraison. Avec les températures moyennes du poste de Colmar de 1982 à 2011, cela correspond à des floraisons calculées entre le 8 et le 25 juin, soit une plage de 17 jours. Cette étendue est identique (1/6-18/6) dans les données rapportées par Galet sur les collections de Montpellier (Galet 1990). Dans ces mêmes collections, la variabilité génétique est de plus d'un mois pour la précocité à la véraison: du 30 juillet pour le Knipperlé au 7 septembre pour le Servant (Galet 1990). On peut caractériser cette variabilité par des cumuls des températures moyennes (base 0 °C) depuis le 1^{er} mars (Parker et al. 2013). Avec cette approche, l'écart de 655 °C.d entre Garanoir (2286 °C.d) et Semebat (2941 °C.d) est de 35 jours en prenant les températures moyennes du poste de Colmar de 1982 à 2011.

Plusieurs QTLs expliquant les variations de phénologie ont été publiés (Costantini et al. 2008; Fechter et al. 2014; Grzeskowiak et al. 2013). Un des objets du travail que je présente ici est d'évaluer comment cette information peut être utilisée pour tester le comportement de génotypes virtuels dans les conditions climatiques du futur.

2. Utilisation de l'eau

L'efficience de l'utilisation de l'eau par une culture (WUE: water use efficiency) est un paramètre clé de l'adaptation aux étés plus secs qui sont prévus dans le futur. Il y a de nombreuses manières de définir ce paramètre (voir Flexas et al. (2010) pour une synthèse). Il peut être étudié à différentes

échelles de la plante ou du peuplement et au travers de plusieurs processus physiologiques (Flexas et al. 2010; Tomás et al. 2014).

D'un point de vue pratique, qui peut être celui d'un viticulteur, c'est la quantité d'eau nécessaire à la production d'un kilogramme de raisins mûrs. Les recherches sur les modes de conduite ou les techniques culturales les plus efficaces pour maximiser l'efficacité de l'eau sont nombreuses (Flexas et al. 2010). L'architecture du feuillage, le calendrier et la localisation des apports d'eau, vont avoir des effets déterminants mais l'efficacité de l'eau va dépendre également du greffon et du porte-greffe.

Plusieurs classifications des variétés en réponse à une contrainte hydrique ont été proposées (Bota et al. 2001; Gaudillère et al. 2002; Tomás et al. 2014). La compréhension des caractères génétiques qui sont déterminants dans la tolérance aux déficiences d'alimentation en eau est encore balbutiante. Des caractères tels que le contrôle de la transpiration ou la conductance hydraulique sont incontournables. Leurs bases génétiques ont été étudiées dans les descendants d'un croisement Syrah x Grenache (Coupel-Ledru et al. 2014). Les QTLs détectés dans cette étude expliquent cependant relativement peu les variations totales. L'intégration d'informations sur les effets de QTLs pour imaginer des combinaisons idéales d'allèles de différents loci pour la tolérance au manque d'eau demandera de progresser dans la modélisation. En effet, les caractéristiques idéales des génotypes ne sont pas à ce jour définies. D'une part elles dépendent des scénarios de sécheresse à intégrer (Tardieu 2003), d'autre part la hiérarchie des paramètres physiologiques prioritaires (contrôle de la transpiration diurne? conductivité hydraulique? transpiration nocturne?) n'est pas clairement établie. La définition d'un idéotype pour le greffon est d'autant plus complexe qu'il faut tenir compte du porte-greffe.

Il est recommandé de choisir un porte-greffe en fonction des conditions d'alimentation en eau: la gamme va de 110R (assez adapté à la sécheresse) à Riparia Gloire de Montpellier (peu adapté) (Serra et al. 2014). Marguerit et al. (2012) ont détecté des QTLs liés au contrôle de la transpiration ou à la capacité à extraire l'eau du sol en étudiant la réponse de plantes de Cabernet-Sauvignon greffées sur 138 génotypes issus d'un croisement Cabernet Sauvignon x *Vitis riparia* cv. Gloire de Montpellier. Cette étude montre que la transpiration du greffon et son acclimatation au manque d'eau sont contrôlées par le porte-greffe. Il est donc possible d'envisager des programmes de création de nouveau porte-greffe pour leur aptitude à supporter des conditions de contrainte hydrique.

3. Qualité de la baie

Une forte variabilité génétique peut être observée quand on compare la date à laquelle des génotypes atteignent une teneur en sucres donnée (Costantini et al. 2008). Cependant, ces valeurs dépendent d'une part des conditions climatiques après la véraison, et d'autre part du rapport fruit/feuille des plantes. Des variétés ayant toujours des teneurs en sucres faibles existent déjà (le

Chasselas par exemple) ou ont été créées (Escudier 2009). La variabilité génétique exploitable pour la capacité des variétés à accumuler des sucres et le déterminisme génétique associé reste à explorer.

Des températures élevées pendant la maturation conduisent à une dégradation accélérée de l'acide malique (Sweetman et al. 2014) tandis que l'acide tartrique, dont les quantités par baie sont stables à partir de la véraison (DeBolt et al. 2008), est très peu sensible aux conditions climatiques. Les variétés dont le rapport acide tartrique/acide malique est élevé devraient être mieux adaptées au climat du futur (Shiraishi 1995). Il existe une variabilité génétique pour ce rapport (Shiraishi 1995) et des QTLs pour le pH et les concentrations en acides des baies ont été publiés (Chen et al. 2015; Viana et al. 2013). Ces résultats suggèrent qu'il est possible d'envisager la création de variétés dont l'acidité resterait à des niveaux adéquats dans le futur.

En ce qui concerne le métabolisme secondaire, la diminution des teneurs en anthocyanes sous fortes températures n'est certainement pas identique entre variétés (Barnuud et al. 2014a; Kliewer et Torres 1972). La compréhension des déterminants génétiques pour le profil de composition en polyphénols (Fournier-Level et al. 2009; Huang et al. 2012) peut appuyer les recherches pour obtenir de nouvelles variétés dont la coloration serait peu sensible à la température. À ce jour, il n'existe pas de données sur d'éventuelles différences de réaction de variétés aromatiques aux fortes températures.

G. Problématique

Il n'y a à l'heure actuelle pas d'éléments convaincants dans la littérature scientifique internationale en faveur d'un arrêt du processus de réchauffement global de la planète. Il y a beaucoup d'incertitudes autour de ce que sera le climat du futur, mais il faut se préparer aux prévisions les plus pessimistes pour la vigne en France, à savoir à une augmentation des températures, surtout en été, à des vagues de chaleur plus fréquentes et plus longues, et à des restrictions dans l'alimentation en eau des plantes. Si l'on postule que l'adaptation de la viticulture au changement climatique consiste à produire dans le futur les mêmes types de vins et avec les mêmes volumes qu'aujourd'hui, il existe des possibilités d'adaptation par l'utilisation de parcelles inexploitées actuellement, par la mise en œuvre de nouveaux modes de conduite de la vigne, par l'utilisation de nouvelles techniques culturales et par le changement de matériel végétal. Le matériel végétal du futur devrait être plus tolérant aux restrictions d'eau, ce qui inclut implicitement un aspect maintien de la productivité, et capable de produire des raisins à la composition équilibrée, c'est-à-dire d'une acidité suffisante, sans excès de sucres, et dont le profil en métabolites secondaires sera compatible avec l'élaboration de vins colorés, structurés et aromatiques. Dans le cadre de ce travail, je vais restreindre le champ d'investigation au métabolisme primaire, à savoir la composition en acides et en sucres des raisins.

Ma problématique est (1) d'explorer comment la variabilité génétique que l'on peut créer dans la descendance d'un croisement peut répondre au défi de l'adaptation au changement climatique, considéré au travers de l'acidité et des teneurs en sucres, (2) d'identifier des régions du génome, voire des gènes, qui gouvernent des caractères agronomiques d'intérêt pour l'adaptation.

Le matériel végétal étudié est issu d'un croisement Riesling x Gewurztraminer. Ces parents ont été choisis d'une part pour leur adaptation au vignoble local, le vignoble alsacien, et d'autre part car ils présentent des caractéristiques contrastées sur de nombreux paramètres, ce qui ouvre *a priori* des possibilités d'observer des ségrégations dans la descendance.

Le tableau I.5 récapitule des données obtenues sur les deux parents dans différents dispositifs avant le début de cette étude. Le Riesling est productif, relativement tardif à la véraison, et produit des raisins plus acides et moins sucrés que ceux du Gewurztraminer. Ces trois caractéristiques nous intéressent en premier lieu car je vais tester successivement trois hypothèses:

- des génotypes issus de la descendance seront-ils suffisamment tardifs pour que dans le futur ils mûrissent dans des conditions de température similaires à celles que nous connaissons aujourd'hui pour les parents?

- peut-on trouver dans cette descendance une variabilité génétique pour les teneurs en sucres suffisante pour éviter des teneurs en alcool des vins excessives dans le futur?
- peut-on trouver dans cette descendance une variabilité génétique pour l'acidité des raisins exploitable pour le maintien d'un bon niveau d'acidité même en cas de mûrissement à température élevée ?

Tableau 1.5 : Comparaison du Riesling et du Gewurztraminer dans différents dispositifs. La valeur la plus élevée est grisée.

Catégorie	Variable	Source	Nombre d'années	Riesling	Gewurz.
Phénologie	Date de débourrement (jours julien)	Ecologie ⁽¹⁾	12	120,8*** ⁽⁵⁾	116,6
	Date de floraison (jours julien)	Ecologie	12	178,9	180,3***
	Date de véraison (jours julien)	Ecologie	12	250***	245,3
	Durée débourrement-floraison (jours)	Ecologie	12	58,4	64,1***
	Durée floraison-véraison (jours)	Ecologie	12	71,4***	64,9
Productivité	Nombre moyen d'inflorescences par rameau primaire	Suivi Alsace ⁽²⁾	11	2,0***	1,44
	Nombre de fleurs de l'inflorescence de rang 1	Suivi Alsace	7	254***	170,6
	Nombre de fleurs de l'inflorescence de rang 2	Suivi Alsace	7	228,4***	126,8
	Nombre de fleurs par rameau	Suivi Alsace	7	507,4***	271,8
	Nombre de baies par rameau	Suivi Alsace	7	229,5**	129,4
	Poids de récolte (kg.souche ⁻¹)	Suivi Alsace	11	3,53***	2,58
Composition	Acidité de titration (g.l ⁻¹ éq. H ₂ SO ₄)	Ecologie	8	8,1***	5,0
	pH	Ecologie	3	2,92	3,33***
	teneur en sucres (g.l ⁻¹)	Ecologie	9	167,5	200,4***
	production de sucres dans les raisins (g.m ⁻²)	Ecologie	9	157,7**	139,0
	acide tartrique (meq.l ⁻¹)	Suivi Terroirs ⁽³⁾	2	87,2***	49,3
	acide malique (meq.l ⁻¹)	Suivi Terroirs	2	84,6***	48,9
	teneur en linalol des moûts (microg.l ⁻¹)	Ribéreau-Gayon ⁽⁴⁾	?	40	6
	teneur en alpha-terpinéol des moûts (microg.l ⁻¹)	Ribéreau-Gayon	?	25	3
	teneur en citronellol des moûts (microg.l ⁻¹)	Ribéreau-Gayon	?	4	12
	teneur en nérol des moûts (microg.l ⁻¹)	Ribéreau-Gayon	?	23	43
	teneur en géraniol des moûts (microg.l ⁻¹)	Ribéreau-Gayon	?	35	218

⁽¹⁾ : Essai Ecologie viticole, Bergheim, INRA Colmar

⁽²⁾ : Suivi de parcelles du vignoble alsacien, environ 50 par cépage

⁽³⁾ : Suivi de parcelles du vignoble alsacien, environ 10 par cépage

⁽⁴⁾ : Ribéreau-Gayon et al, 1998. Traité d'œnologie, 2. Chimie du vin, stabilisation et traitements.

⁽⁵⁾ : **, ***, différences significatives respectivement au seuil $p = 0,01$ et $p = 0,001$.

II. Matériel et méthodes

A. Matériel végétal

Des croisements entre Riesling clone 49 (RI) et Gewurztraminer clone 643 (GW) ont été réalisés à partir de 1998. Des contrôles à l'aide de marqueurs microsatellites ont montré que beaucoup de descendants des premiers croisements était en réalité issus d'autofécondations: la castration des fleurs avait sans doute été effectuée trop tardivement. De nouveaux croisements ont donc de nouveau été réalisés jusqu'en 2002. Plusieurs populations ont été obtenues (Tableau II.1).

Tableau II.1 : Nombre de génotypes de différents croisements selon les utilisations

Numéro de population	Sens de croisement	Année	Lieu-dit	Effectifs de départ	Nombre d'ADNs extraits	Génotypes pour la carte génétique SSR	Génotypes dans le dispositif 2003	Génotypes dans le dispositif 2006
40523	RIxGW	1998	Fuchsloch	3	3	2	2	2
41207	RIxGW	1999	Fuchsloch	87	86	81	79	81
41220	RIxGW	2000	Fuchsloch	45	39	29	29	29
41221	GWxRI	2000	Fuchsloch	23	19	3	3	0
41521	RIxGW	2002	Burlenberg	314	289	70	7	264
41520	RIxGW	2002	Fuchsloch	40	10	5	0	7
Totaux				512	446	190	120	383

Après mise en germination des pépins, 512 plantules issues de ces croisements ont été identifiées en serre et 446 extractions d'ADN ont été réalisées. Deux marqueurs microsatellites avec 4 formes alléliques, VVif52 (RI: 259:287 , GW:257:281) et VVMD5 (RI:222:231 , GW:228:235) ont été utilisés pour vérifier avant les travaux de cartographie la parenté de 279 génotypes : aucun n'est apparu suspect (Maurin 2004).

Cent quatre vingt dix génotypes de la population ont été choisis pour réaliser une carte génétique. Parmi eux, 120 ont été multipliés pour une implantation au vignoble en 2003. Dans un deuxième temps, en 2006, tous les génotypes disponibles (383) ont été implantés au vignoble.

Afin de faciliter la lecture, je parlerai par la suite uniquement de population RIxGW, sachant que plusieurs descendance sont concernées.

B. Dispositifs expérimentaux

1. Dispositif 2003

Il a été décidé d'implanter dans un premier temps 120 génotypes de la population RIxGW au vignoble (Tableau II.1). À partir de plants des descendance et de plants de porte-greffe 161-49C disponibles à Colmar, une équipe de l'INRA Dijon a été chargée de préparer des assemblages porte-greffe:greffon par une technique de greffe bouture herbacée (Walter et al. 1990). Au printemps 2003, dix pots de chaque génotype, ainsi que des pots des parents, étaient prêts à être plantés.

Un relevé des caractéristiques pédologiques d'une parcelle du domaine INRA du Burlenberg à Bergheim (68) a été effectué ainsi que des analyses de sols sur plusieurs horizons. Il a été décidé de diviser cette parcelle en cinq blocs, selon la topographie du terrain et les relevés pédologiques. Les 120 génotypes sont présents dans chacun des blocs à raison de deux plants groupés par bloc (microparcelle de deux souches). Afin d'optimiser l'exploitation des résultats, les parents ont été implantés de manière régulière au sein de chacun des blocs, à raison de trois microparcelles de deux plantes par parent et par bloc.

De plus, le dispositif a été conçu comme un alpha-plan (Mead 1997) de 60 blocs incomplets. Les 120 génotypes RIxGW ont été répartis dans chacun de ces sous-blocs de manière à maximiser les confrontations. J'ai pour cela mis au point un système de permutation à base de macros dans Excel.

En résumé, le dispositif 2003 est un dispositif de 120 génotypes en cinq blocs complets. Le plan de cet essai figure en annexe 1. Des rangs de bordures comprenant les variétés parents par séries de six souches isolent le dispositif principal des parcelles voisines. De même, des plantes hors essai sont présentes aux extrémités des rangs (voir plan en annexe 1). Les rangs de bordure ont été particulièrement utiles pour effectuer régulièrement des prélèvements destructifs qui auraient conduit à des résultats biaisés s'ils avaient dû être réalisés uniquement sur les 30 souches par parent du dispositif principal.

La plantation de cet essai a été réalisée les 14 et 15 avril 2003. L'azimut des rangs est 43°. L'écartement entre rangs est de 1,65 m, l'écartement entre souches est de 1,25 m et la surface totale occupée de 31 a. Le système de conduite est traditionnel pour l'Alsace: taille en Guyot simple ou double avec palissage vertical.

2. Dispositif 2006

Le dispositif 2003 était statistiquement puissant, mais ne comprenait que 120 génotypes. Il a été décidé d'implanter au vignoble les génotypes encore disponibles en serre. Un processus de greffe classique, sur bois aoûté, a été utilisé. Par rapport à la greffe bouture herbacée, la préparation de plants

par greffe classique est plus longue car elle nécessite un passage d'une année en pépinière, mais les plants sont plus vigoureux et l'ensemble des opérations peut être réalisé à l'INRA Colmar. Trois cent quatre vingt trois génotypes ont donc été préparés sur le porte-greffe 161-49C et plantés dans un dispositif sans répétition, à raison de trois plants groupés par génotype. Comme dans le dispositif 2003, 12 parcelles de RI de trois souches et 13 parcelles de GW de trois souches (Plan en annexe 2) ont été implantées de manière régulière dans la parcelle. Comme dans le dispositif 2003, il y a des rangs de bordures et des souches hors essai en bouts de rangs. La plantation a eu lieu le 7 juin 2006. Le mode de conduite est identique au dispositif 2003: même orientation des rangs, 1,60 m entre rangs, 1,30 m entre souches.

C. Observations, mesures et notations

Des observations, mesures et notations ont été réalisées de 2006 à 2009 sur les 120 génotypes de la descendance RIxGW et sur les parents dans le dispositif 2003. Elles ont concerné les stades de développement, la croissance des plantes, les composantes du rendement, les caractéristiques des raisins, les attaques parasitaires. Près de 70 variables ont été enregistrées chaque année (Annexe 3). Je ne détaillerai ici que les protocoles concernant les stades de développement, le rapport fruit/feuille et les teneurs en sucres et en acides des raisins. Les évaluations des teneurs en terpénols des raisins par exemple n'entrent pas dans le cadre du présent travail et ont été valorisées par ailleurs (Duchêne et al. 2012a).

1. Phénologie

a) *Débourrement*

Le suivi a été réalisé souche par souche par des comptages successifs du nombre de bourgeons débourrés sur les blocs 1, 2, et 3. Un bourgeon a été considéré comme débourré à partir du stade BBCH 07 (pointe verte). La date de débourrement correspond au moment, calculé par interpolation, où 50 % des bourgeons étaient débourrés.

b) *Floraison*

Le suivi de la floraison a consisté à estimer régulièrement le pourcentage de fleurs ouvertes par microparcelle de deux souches sur les blocs 1, 2, et 3. La date de floraison retenue correspond au moment, calculé par interpolation, où 50 % des fleurs étaient ouvertes (BBCH 65).

c) Véraison

Le suivi de la véraison a consisté à estimer régulièrement le pourcentage de baies verrées, c'est-à-dire molles au toucher, par microparcelle de 2 souches. La date de véraison retenue correspond au moment, calculé par interpolation, où 50 % des baies étaient verrées (BBCH 81).

2. Rapport fruit/feuille

Le rendement a été mesuré le jour de la récolte par pesée par groupe de deux souches, sur les blocs 1, 2, et 3.

La surface foliaire exposée (SFE) a été estimée à partir des méthodes proposées par Carbonneau (1989). À partir de la géométrie du couvert (Figure II.1) et d'une estimation de la porosité du feuillage, on peut estimer une surface foliaire exposée en m² par m² de sol, et donc une capacité d'interception du rayonnement et de photosynthèse du couvert.

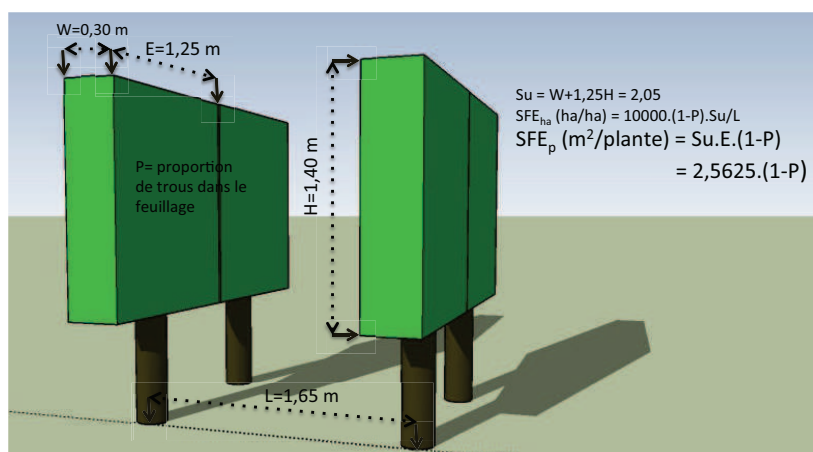


Figure II.1: Calcul de la surface foliaire exposée (d'après Carbonneau 1989).

Afin d'estimer la porosité du feuillage, j'ai développé une méthode basée sur la prise d'images numériques et l'analyse d'image. Des photographies sur fond bleu permettent de bien extraire les surfaces vertes avec le logiciel ImageJ (Rasband 1997-2014, <http://imagej.nih.gov/ij>). Une macro permet ensuite de calculer directement dans ImageJ le taux de remplissage d'une zone de l'image par des surfaces vertes (Figure II.2).



Figure II.2: Exemple de traitement d'une image sous ImageJ pour l'estimation de la porosité du feuillage (taux de couverture de 68 %).

3. Teneurs en sucres et acidité des raisins

Dans la population RlxGW et dans les parcelles des parents du dispositif principal des prélèvements de baies ont été réalisés à trois stades:

- **S1:** au moment de la véraison, des baies vertes et dures ont été prélevées sur grappes en cours de véraison. L'objectif de ce prélèvement était d'obtenir des échantillons au moment où la teneur en acide malique est maximale (Sweetman et al. 2012).
- **S2:** 230 degrés jours (températures moyennes, base 10) après véraison. Ce prélèvement était basé sur l'hypothèse, vérifiée par la suite, que l'accumulation des sucres était linéaire en fonction des sommes de températures. Ce prélèvement avait pour objectif de comparer tous les génotypes à un stade équivalent après le début de la maturation des raisins. La date de prélèvement a été déterminée en temps réel pour chaque microparcelle en fonction de la date de véraison effectivement observée sur chacune d'entre elles et des températures enregistrées sur une station météorologique jouxtant l'essai.
- **S3:** À la récolte. Une date unique de récolte a été choisie pour l'ensemble de l'essai en fonction du degré de maturité et de l'état sanitaire des parents. Un prélèvement de baies a été réalisé la veille de la récolte.

Les prélèvements S1 et S2 ont faits sur les blocs 1 et 3. Sur chacun a été évalué:

- Le poids moyen d'une baie,
- Le volume moyen d'une baie (mesure par immersion dans l'eau et mesure du volume d'eau déplacé par pesée),
- L'indice de réfraction pour évaluer les teneurs en sucres,
- Le pH,
- L'acidité de titration,
- Les teneurs en acide malique et en acide tartrique.

Le prélèvement S3 a été fait sur les blocs 1, 2 et 3, mais seuls l'indice de réfraction et le pH ont été mesurés.

Des détails sur les méthodes utilisées sont fournis dans les publications.

En parallèle, une cinétique de maturation complète a été obtenue sur les parents. Des prélèvements ont été faits deux fois par semaine entre la véraison et la récolte dans les rangs de bordure des blocs 1 et 3. Les protocoles utilisés sont identiques à ceux du dispositif principal.

D. Génotypage

Un premier génotypage de la population RlxGW a été réalisé en utilisant des marqueurs microsatellites (SSR). Le protocole d'extractions des ADNs, de conditions PCR et de migration est détaillé dans Duchêne et al. (2012b). Pour résumer, les PCRs sont effectuées selon un protocole identique pour tous les couples d'amorces. Une des amorces de chaque couple est marqué avec un fluorophore HEXTM (vert), FAMTM (bleu) ou NEDTM (jaune). La détection des fragments PCR est effectuée sur un séquenceur ABI PRISM 310 (Applied Biosystems) en présence d'un marqueur de taille. L'analyse des électrophorégrammes et l'attribution des allèles ont été réalisées respectivement sur le logiciel GenescanTM 3.1 (Applied Biosystems) et sur le logiciel GenotyperTM 2.5.2 (Applied Biosystems). Avant d'utiliser ces marqueurs sur la population, j'ai effectué une sélection des marqueurs informatifs, c'est-à-dire hétérozygotes chez au moins un des deux parents, à partir des marqueurs disponibles au laboratoire. Lors d'une première phase, 253 marqueurs SSR ont été testés sur les parents. Après élimination des marqueurs donnant des réponses faibles ou des profils douteux, 99 ont été sélectionnés. En jouant sur les différentes longueurs de fragments amplifiés et la couleur des fluorophores, il a été possible de mettre au point 33 multiplex (Blin 2005). D'autres marqueurs ont ensuite été ajoutés pour améliorer la couverture des cartes génétiques.

E. Établissement des cartes génétiques

Les données de variations alléliques pour chaque descendant ont été stockées dans une base de données sous 4D[®] que j'ai conçue pour cet usage. L'encodage des marqueurs a été effectué initialement directement dans la base de données selon la nomenclature utilisée par JoinMap[®] 3.0 (Van Ooijen et Voorrips 2001) (Tableau II.2).

Tableau II.2: Encodage des marqueurs moléculaires pour une population de type CP (cross pollination)

Caractéristiques des loci	Type d'encodage	Génotypes possibles dans la descendance
Hétérozygote chez les deux parents	<ab x cd>	ac, ad, bc, bd
	<ef x eg>	ee, ef, eg, fg
	<hk x hk>	hh, hk, kk
Hétérozygote chez un des parents	<lm x ll>	ll, lm
	<nn x np>	nn, np

Trois types de fichiers pour la cartographie ont été préparés: un pour une population de type CP, pour construire une carte consensus, et deux (un par parent) en considérant seulement la ségrégation chez un des deux parents (type back cross) pour établir les cartes parentales selon une stratégie pseudo test cross (Grattapaglia et Sederoff 1994).

Le logiciel JoinMap® 3.0 a été utilisé pour déterminer les phases. Les données ont ensuite été recodées pour être introduites dans R/qtl (Broman et al. 2003). Les cartes génétiques parentales et consensus ont été calculées dans ce logiciel. Quand des critères de vraisemblance statistique ne permettaient pas de choisir un ordre des marqueurs plutôt qu'un autre, c'est l'ordre du génome de référence (Jaillon et al. 2007) qui a été conservé.

F. Recherche de QTLs

La recherche de QTLs a été effectuée dans R/qtl (Broman et al. 2003) en utilisant une méthode d'imputation (Broman et Saunak 2009). Les effets des loci identifiés ont été vérifiés et quantifiés par des analyses de variance. Ces méthodes sont détaillées dans Duchêne et al. (2012b).

III. Les stades de développement

Le premier objectif de cette partie est d'évaluer si la variabilité génétique que l'on peut générer dans un croisement entre Riesling et Gewurztraminer est suffisante pour trouver parmi les descendants un génotype adapté aux conditions climatiques du futur. Cette formulation est trop large et je me restreindrais donc à l'idée de tardiveté: avec un génotype tardif, est-il possible de retrouver dans le futur des températures moyennes pendant la maturation des raisins telles que nous les connaissons aujourd'hui ? Peut-on trouver un tel génotype dans une descendance de croisement Riesling par Gewurztraminer ?

Le deuxième objectif est d'identifier des régions du génome, voire des gènes, impliquées dans la variabilité génétique des stades de développement. De telles connaissances doivent non seulement permettre de mieux comprendre les mécanismes moléculaires gouvernant les stades de développement, mais aussi contribuer à la création efficace de nouveaux génotypes.

Les deux articles qui suivent sont indissociables, l'un s'appuyant sur les résultats de l'autre. Le raisonnement qui couvre ces articles est le suivant:

- Pour évaluer l'adaptation d'un génotype aux conditions climatiques du futur, il faut disposer d'un modèle de prévision des stades de développement à partir des données climatiques, les températures en premier lieu. J'ai mis au point et testé un tel modèle à partir de 33 années de données pour le Riesling et le Gewurztraminer. J'ai également calculé les paramètres de ce modèle pour une collection de génotypes présents dans les collections de l'INRA. Ce modèle, utilisant uniquement les températures journalières maximales, permet de prévoir les dates de véraison du Riesling et du Gewurztraminer avec une erreur de l'ordre de 3 à 4 jours (premier article, Duchêne et al. (2010)).
- Considérant ce modèle comme validé, j'ai calculé les paramètres de ce modèle pour 120 génotypes de la population RIxGW dans le dispositif 2003 à partir de quatre années de données de dates de débourrement, floraison et véraison. J'ai identifié des QTLs gouvernant ces stades, et je propose des gènes candidats susceptibles de participer à la variabilité génétique. Un résultat majeur est que les QTLs identifiés pour le débourrement, la floraison et la véraison ne sont pas situés sur les mêmes chromosomes. Il est donc possible de combiner des formes alléliques de ces QTLs provenant de ces différents chromosomes et d'en cumuler les effets sur les paramètres du modèle (deuxième article, Duchêne et al. 2012b).
- J'ai imaginé la construction d'un génotype virtuel, le plus tardif possible, cumulant les caractéristiques des trois génotypes les plus tardifs de la population respectivement pour le

débourrement, la floraison et la véraison. J'ai ensuite calculé les dates de véraison de ce génotype virtuel avec des données climatiques simulées pour le futur. J'ai fait de même avec le Muscat d'Alexandrie, un des cépages les plus tardifs que j'ai caractérisé. Les simulations montrent que les dates de véraison vont continuer à avancer et la période de maturation va donc se décaler vers les périodes chaudes du milieu de l'été. Dans le même temps, les périodes de températures fraîches vont reculer vers l'automne. Dans mes simulations, il est impossible d'imaginer un génotype issu de la population RlxGW qui serait assez tardif pour mûrir dans des conditions de températures similaires à celles que nous connaissons pendant la maturation du Riesling et du Gewurztraminer actuellement (premier article, Duchêne et al. (2010)).

A. « The challenge of adapting grapevine varieties to climate change »

1. Résumé de l'article

L'article qui suit comprend plusieurs parties. La première concerne la mise au point d'un modèle de prévision des stades.

a) *Un modèle de prévision des stades de développement*

À partir des enregistrements obtenus à Bergheim (68) de 1976 à 2008 sur Riesling et Gewurztraminer, j'ai cherché la façon de calculer les sommes de températures qui permettaient de prévoir la date de débourrement, la durée en jours entre le débourrement et la floraison ainsi que la durée en jours entre la floraison et la véraison. Pour le débourrement, la date à laquelle commence le cumul des températures est théoriquement celle où la dormance des bourgeons est levée. Comme il n'y a pas de méthode simple pour déterminer cette date, les auteurs utilisent une date en sortie d'hiver pour démarrer les cumuls. Dans le cas présent, j'ai empiriquement déterminé que c'était un début des cumuls à partir du 15 février qui permettait d'obtenir les meilleurs ajustements. Cette date est la même, à un jour près, que celle obtenue par Nendel (2010) pour le Müller-Thurgau à Lahr, en Allemagne, à 70 km de Colmar. La seconde étape a consisté à trouver les températures de base optimales. J'ai pour cela utilisé un calcul basé sur la régression linéaire entre la température moyenne de la phase considérée et l'inverse de la durée ($1/D$). J'ai également testé l'utilisation de températures journalières moyennes ou maximales. Après une phase de validation croisée sur le jeu de données, je propose finalement un modèle basé sur les températures maximales avec des températures de base respectivement de 2, 10, 6 °C pour les durées 15 février-débourrement, débourrement-floraison et floraison-véraison. Ce modèle permet de prévoir les dates de véraison uniquement à partir des températures avec une précision de l'ordre de 4-5 jours.

b) *Une évaluation de la variabilité génétique*

À partir du résultat précédent, j'ai calculé les paramètres du modèle d'une part pour une collection de variétés étudiées à Bergheim (68) pendant douze ans (Essai « Ecologie viticole »), mais aussi sur 120 descendants RIxGW sur trois ans. Les paramètres du modèle sont en ségrégation au sein de la population RIxGW. La gamme des sommes de températures floraison-véraison calculées dans la population RIxGW couvre par exemple 83 % de la gamme de la collection de cépages de l'essai « Ecologie viticole ». Il n'y a apparemment pas de relations entre les sommes de températures pour les trois phases étudiées, ce qui est cohérent avec l'indépendance des QTLs détectés pour les trois stades

dans la population RlxGW (Duchêne et al. 2012b). Ce constat permet d'imaginer des génotypes virtuels, des génotypes que l'on pourrait *a priori* trouver dans une population RlxGW infinie. Le plus précoce combinerait ainsi les caractéristiques des génotypes 9E, 26E et 4E, le plus tardif les caractéristiques des génotypes 47E, 13D et 237E. Ce génotype virtuellement le plus tardif aurait théoriquement une date de véraison proche de celle du Muscat d'Alexandrie, variété cultivée actuellement dans le Sud de l'Espagne.

c) Températures pendant la maturation

Les climatologues sont en mesure de simuler des jeux de données climatiques sur la base des scénarios produits par le GIEC. J'ai ici utilisé les scénarios A2, B2 et A1B. A1B est considéré comme intermédiaire dans la famille des scénarios SRES alors que A2 (pessimiste) et B2 (optimiste) sont plus extrêmes (voir page 142). À partir des simulations issues du modèle ARPEGE-Climat de Météo-France, Frédéric Huard, de l'unité INRA Agroclim d'Avignon a généré des jeux de données journalières pour le poste de Colmar en utilisant la méthode des anomalies. Ces jeux de données ont permis de simuler des dates de débourrement, floraison et véraison pour le Riesling et le Gewurztraminer dans le futur. Une avance des dates de véraison de 16 à 24 jours est ainsi prévue pour la fin du XXI^e siècle selon les scénarios par rapport à la période de référence 1976-2008. Ce sont surtout une avancée des dates de débourrement et un raccourcissement de la durée floraison-véraison qui sont à l'origine de ce résultat. La durée débourrement-floraison évolue relativement peu car le débourrement plus précoce décale cette période vers le début d'année et donc vers des journées plus fraîches.

Le décalage des dates de véraison vers le milieu de l'été modifie les températures moyennes pendant la maturation des raisins pour deux raisons: d'une part à date égale les températures seront plus élevées dans le futur, d'autre part, la maturation est décalée vers les périodes chaudes de l'été (Figure III.1).

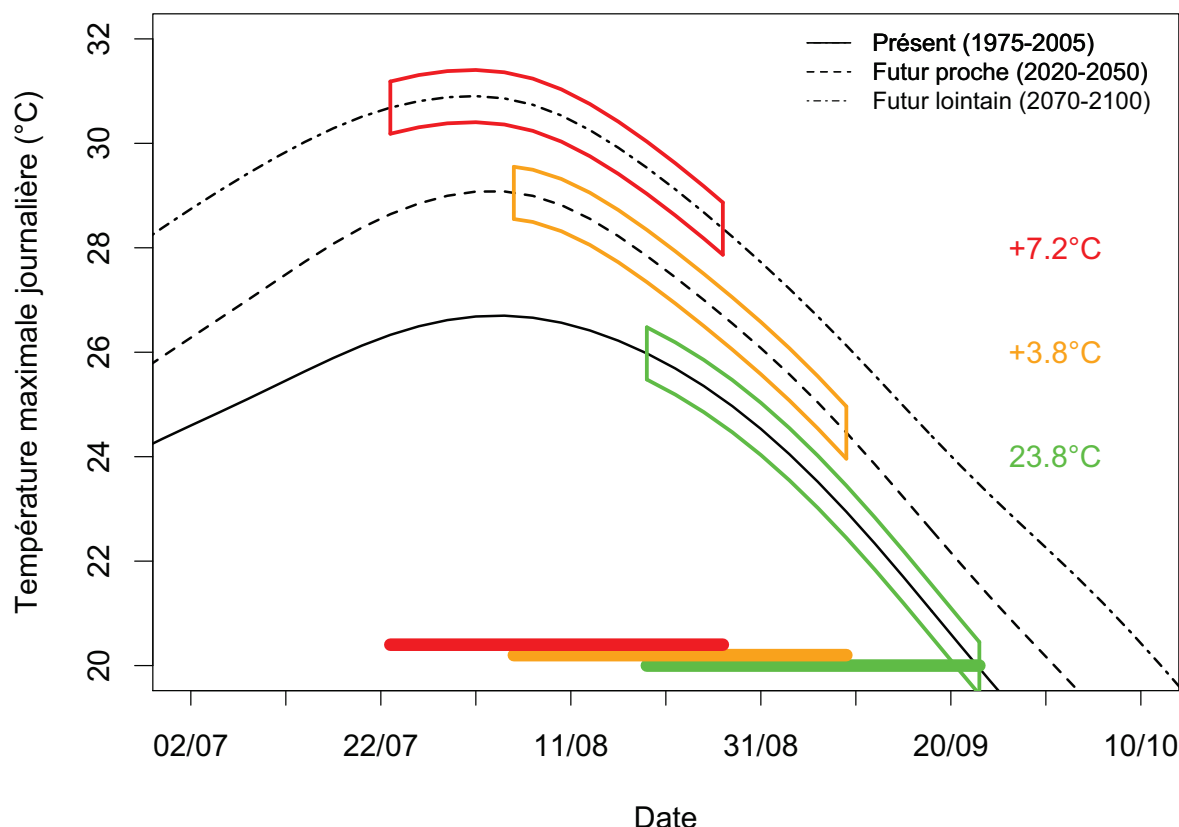


Figure III.1: Températures maximales journalières simulées pour le poste de Colmar avec le scénario A1B pour trois périodes du futur. Les barres horizontales représentent le positionnement de la période de maturation du Gewurztraminer (35 jours qui suivent la véraison).

Ces simulations prévoient des augmentations des températures moyennes pendant les 35 jours qui suivent la véraison de l'ordre de 5-6 °C pour la période 2041-2072, de l'ordre de 6-7 °C pour la période 2073-2099. Nous ne sommes pas capable de prévoir quelles seront les caractéristiques des raisins dans de telles conditions. L'idée est donc de tester s'il serait possible de limiter cette augmentation en utilisant un génotype (virtuel) le plus tardif possible.

d) Comportement d'un génotype virtuel dans le climat du futur

Sur la base du scénario A1B, j'ai calculé des dates de véraison dans le futur pour mon génotype virtuel tardif et pour le Muscat d'Alexandrie. En parallèle, j'ai caractérisé la période actuelle de maturation du Riesling et du Gewurztraminer. J'ai calculé la température moyenne pendant les 35 jours qui suivent la véraison entre 1976 et 2008 et j'ai sélectionné les années où la teneur en sucres observée au niveau de l'Alsace satisfaisait au critère minimal pour l'appellation Grand Cru. Il se trouve que, pour les deux variétés, la température moyenne pendant la maturation lors des années favorables est de 17,7 °C. J'ai calculé avec les données climatiques quelle était la date de véraison dans le futur qui permettait de retrouver une température moyenne de 17,7 °C pendant la maturation. Le constat est

assez spectaculaire puisque que l'on montre que dans le futur les dates de véraison deviennent de plus en plus précoces alors que la période fraîche est de plus en plus tardive en automne. L'écart à combler atteint un mois pour la fin de XXI^e siècle. Il paraît impossible de trouver une variété qui soit assez tardive pour mûrir dans les conditions que nous connaissons aujourd'hui.

On peut également montrer que dans le futur les températures moyennes pendant la maturation des raisins tendent à converger quelle que soit la précocité du génotype (Figure III.2). Cela s'explique par le fait que tous les génotypes tendent à mûrir à la période la plus chaude de l'été (voir figure III.1), à une époque où les variations de dates de véraison n'ont qu'un impact limité sur la température moyenne des 35 jours qui suivent (Duchêne et al. 2014).

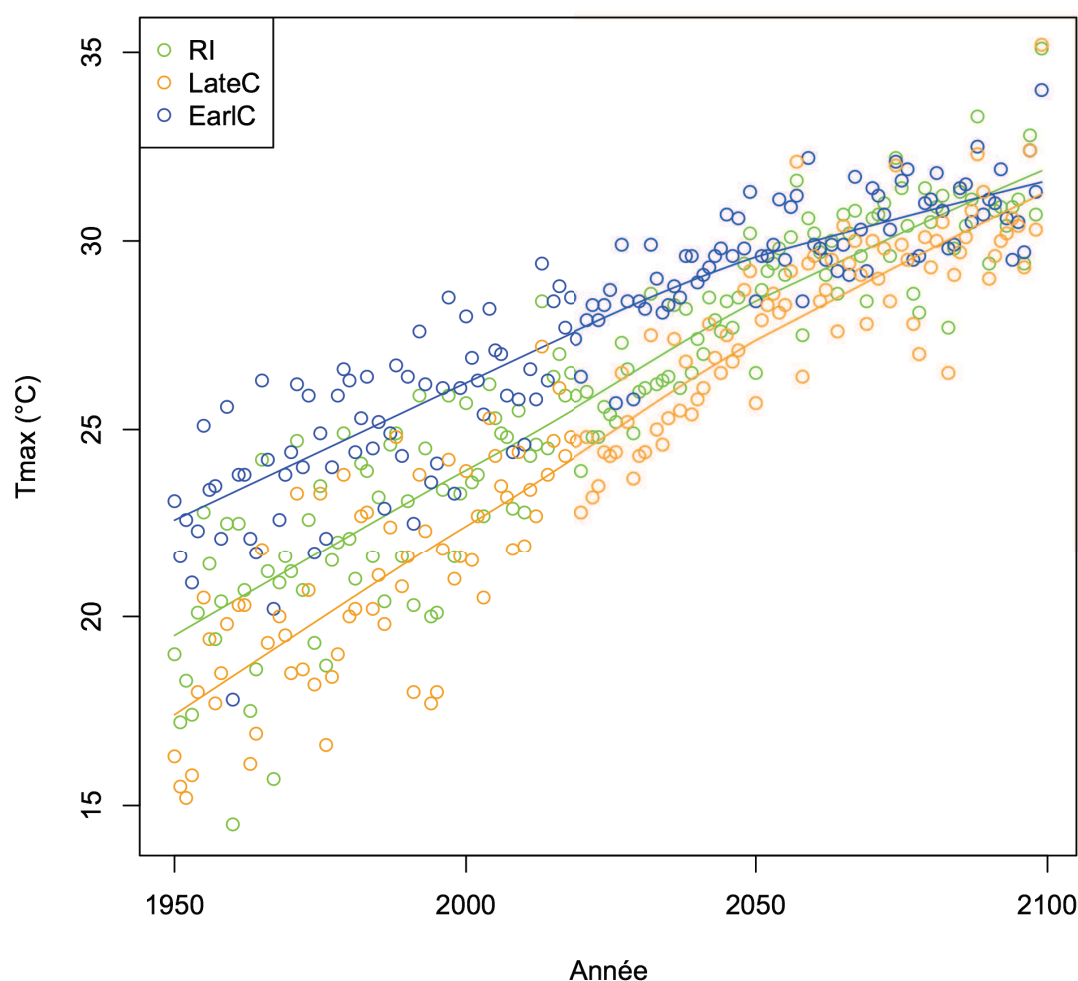


Figure III.2: Températures maximales moyennes pendant les 35 jours qui suivent la véraison pour trois génotypes. Simulation avec le scénario A1B pour le poste de Colmar. Cercles verts: Riesling, cercles bleus: génotype virtuel le plus précoce possible, cercles orange: génotype virtuel le plus tardif possible.

e) Conclusion

Un des enseignements majeur de ce travail est que, contrairement à une idée intuitive, la recherche de variétés tardives n'est pas la solution idéale pour l'adaptation des vignobles au

changement climatique. En termes de recherche, il faut porter autant d'attention à la capacité des variétés à produire des raisins de qualité, en termes de teneurs en sucres, d'acidité, d'arômes, de couleur, sous de fortes températures qu'à leur précocité à la véraison. Un inconvénient des variétés tardives est par ailleurs d'augmenter la consommation en eau et donc d'être plus exposées à des stress hydriques de fin de cycle.

The challenge of adapting grapevine varieties to climate change

Eric Duchêne^{1,2,*}, Frédéric Huard³, Vincent Dumas^{1,2}, Christophe Schneider^{1,2},
Didier Merdinoglu^{1,2}

¹Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), UMR1131, BP 20507, 68000 Colmar, France

²Université de Strasbourg, UMR1131, 67000 Strasbourg, France

³INRA, Agroclim, 84914 Avignon, France

ABSTRACT: Climate change is expected to advance grapevine phenological stages. After the calibration and the validation of a degree-days model, we were able to accurately simulate dates of bud-break, flowering and véraison for Riesling and Gewurztraminer, 2 winegrape varieties grown in Alsace, France. Projected daily temperatures were calculated for the local meteorological station with the ARPEGE-Climat general circulation model using 3 distinct greenhouse gas emissions scenarios. Compared with its timing in 1976–2008, véraison is predicted to advance by up to 23 d and mean temperatures during the 35 d following véraison are projected to increase by more than 7°C by the end of the 21st century for both varieties. Such changes will likely have a significant impact on grape and wine quality. Using the same framework, the genetic variability of phenological parameters was explored with 120 genotypes of progeny from a Riesling × Gewurztraminer cross, along with 14 European varieties. In addition, we created a virtual late ripening genotype, derived from a cross between Riesling and Gewurztraminer. This modelled genotype was projected to undergo véraison 2 to 3 d before Muscat of Alexandria, one of the latest ripening varieties studied. Even with this virtual genotype, or with Muscat of Alexandria, grapes would ripen by the middle of the 21st century under higher temperatures than in the present years. This study highlights the important changes that viticulture will likely face in a future warmer climate and emphasises the need to create very late ripening genotypes or genotypes able to produce high quality wines under elevated temperatures.

KEY WORDS: Grapevine · Climatic change · Phenology · Temperature · Genetic variability

Resale or republication not permitted without written consent of the publisher

1. INTRODUCTION

The effects of global warming on the environmental conditions of natural ecosystems and on human activities, including agriculture, have been extensively described (IPCC 2007, EEA 2008). A change in grapevine phenology during the past decades has been reported for several grape-growing areas (Duchêne & Schneider 2005, Petrie & Sadras 2008, Ramos et al. 2008).

The increase in temperatures is likely to continue, allowing future wine production in areas that are presently too cold for vine cultivation, whereas the

present grape growing regions will have to adapt to these changes (White et al. 2006, Hall & Jones 2009). The impact of climate change on wine production will presumably vary according to the type of wine produced and the geographical location, with milder effects expected in coastal regions (Jones et al. 2005, Webb et al. 2007, Hall & Jones 2009).

If phenological stages advance, the maturation of berries is likely to take place under warmer conditions. Experiments have shown that the accumulation of anthocyanins, which are responsible for berry coloration, is lower when maturation occurs at higher temperatures (Mori et al. 2007) and, despite a lack of

*Email: duchene@colmar.inra.fr

direct experimental data, this is certainly true for terpenols, the molecules responsible for floral aromas (Bureau et al. 2000). The idea that increasing temperatures can lower the quality of grapes and wines is widely accepted (Jackson & Lombard 1993, Jones et al. 2005).

Possible responses towards the projected future warming in vineyards include (1) accepting changes in the typicity of wines and altering production accordingly, going as far as producing red wines or dessert wines instead of white wines; (2) adapting varieties in order to maintain a constant typicity; and (3) moving grapevine cultivation to areas that are presently cooler (e.g. higher elevations).

Alsace is a white-wine-producing region in north-eastern France, and the evolution of phenological stages during the past decades and the consequences for grapevine physiology have been described (Duchêne & Schneider 2005). The next logical steps in this line of study are to assess the future climatic conditions in this region, to evaluate their impact on the currently cultivated varieties and to determine which varieties could be adapted in the future.

Three main phenological stages can be used to describe the grapevine developmental cycle: budbreak, flowering and véraison. Budbreak is the onset of vegetative growth, flowering is the time when the fertilisation process leads to the formation of berries and véraison is the beginning of the ripening process, which ends at harvest when sugar content and acidity meet required levels. At véraison, berries undergo major changes, i.e. cell wall degradation, skin colouration, sugar accumulation and malic acid degradation. 'Maturity' is not a phenological stage due to the difficulty in establishing uniform criteria for different varieties. Sugar content cannot be treated as a standard maturity indicator because it varies according to training systems, crop load and cultural practices (Jackson & Lombard 1993), as well as climatic signals.

The objectives of this study were to model future changes in phenology and temperature during berry ripening and to explore the consequences of such changes for the adaptation of grapevine varieties.

In this paper, we describe a model for predicting the developmental stages of Riesling and Gewurztraminer. Using this model, we assess the genetic variability in other grapevine varieties grown in the same location and in the progeny of a cross between Riesling and Gewurztraminer. The models are then used to predict future developmental stages using 3 greenhouse gas emissions scenarios developed by the Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC 2000) and to evaluate the genotypes that would be better adapted to these projected conditions.

2. DATA AND METHODS

2.1. Developmental stage data sets

Budbreak, flowering and véraison dates were gathered in 3 data sets, all obtained from the Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) experimental vineyard at Bergheim (Alsace, France, 48° 21' N, 7° 34' E). The vineyard is located on a vertic calisol soil (FAO/WRB) at an elevation of 309 m. Vines were trained on a vertical trellis at a planting density of 4500 to 4850 plants per ha, depending on the experiment.

Thirty-three yr of records (1976–2008) for Riesling (RI) and Gewurztraminer (GW) from an experiment planted in 1973 were used for the first data set. For the second data set, observations were collected from the 'Viticultural Ecology' collection, consisting of 14 varieties planted in 1975. The third data set was provided by the characterisation of offspring. Between 1998 and 2000, 527 seeds were collected from 3 crosses between RI clone 49 and GW clone 643. After a year of growth in the greenhouse, grafts of the offspring were prepared in 2002 with the Couderc 161-49 rootstock using a green grafting technique (Walter et al. 1990). In 2003, 120 genotypes were planted in the vineyard according to a randomised 5-block design. Developmental stages were recorded for 3 of the 5 blocks.

Since 1976, the methods for evaluating phenological stages have been standardised. After successive observations, budbreak, flowering and véraison dates were determined as the dates when 50% of buds, flowers and berries, respectively, reached the required stage. For budbreak, this stage corresponded to stage C 'Green tip', as described by Baggiolini (1952). As observing colour change in white varieties is more difficult than in red varieties, véraison timing was based on berry softening.

2.2. Observed and simulated climatic data

Meteorological data were not available in Bergheim before 1987, instead we exclusively used records from the INRA Station in Colmar (48° 03' N, 7° 19' E, 193 m elevation, 15 km south of Bergheim), available since 1976. These data were provided by Météo-France and the INRA STEFCLI database. The coefficient of determination R^2 between the 2 meteorological stations has been higher than 0.98 for daily mean or maximum temperatures (T) since 1987. The bias is limited: $T_{\text{mean}}(\text{Bergheim}) = 1.02 T_{\text{mean}}(\text{Colmar}) - 0.2$ and $T_{\text{max}}(\text{Bergheim}) = 0.98 T_{\text{max}}(\text{Colmar}) - 0.6$.

Projected climate data were obtained through the regionalised general circulation model ARPEGE-

Climat of Météo-France (Déqué 2007). The grid resolution of this model over France is 50 km. Three greenhouse gas (GHG) emissions scenarios were used: A2 (high emissions), B2 (low emissions) and A1B (intermediate emissions) (IPCC 2000). These data were available with a daily resolution for a control period (1950–2000) and for the future (2070–2100) for the A2 and B2 scenarios. For the A1B scenario, the simulated data set was uninterrupted from 1950 to 2100.

To estimate the regional impacts of climate change, a method based on anomalies was used (Déqué 2007). The closest grid point to Colmar in the ARPEGE-Climat model was chosen, and the modified climate for the future was calculated as follows:

$$\begin{aligned} \text{Modified daily temperatures} = \\ \text{Observed daily temperatures} + \text{Monthly difference} \quad (1) \\ \text{between future and control simulations} \end{aligned}$$

For the A2 and B2 scenarios, the control period used was 1960–1989. For the A1B scenario, the projected shifts were calculated on a 20 yr sliding period instead of a single 30 yr period. The control period was 1987–2006. A first 20 yr period (2007–2026) was simulated with monthly anomalies calculated for a 20 yr sliding window. For example:

$$\begin{aligned} \text{Modified climate of 2010} = & \text{Observed climate in 1990} \\ & + \text{Difference [(2010:2029) – (1987:2006)]} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Modified climate of 2011} = & \text{Observed climate in 1991} \\ & + \text{Difference [(2011:2030) – (1987:2006)]} \end{aligned}$$

For the second period (2027–2036) and the subsequent ones, calculations started back with the 1987–2006 control period. Five 20 yr cycles are then visible in the simulated data set for the A1B scenario.

2.3. Models for phenological stages

Plant development rates are often described by thermal time or heat sums, expressed in growing degree-days (GDD). GDD are calculated as the difference between an observed temperature and a lower threshold, or 'base temperature', under which development is not possible. For the grapevine, GDD are generally calculated from daily mean temperatures and a 10°C threshold (Williams et al. 1985). However, except for the leaf emergence rate (Lebon et al. 2004), the base temperature of 10°C has not been widely validated with experimental data. Some authors have proposed using different base temperatures for the leaf emergence rate, budbreak and flowering (Moncur et al. 1989, Oliveira 1998) for different grape growing regions (Besselat et al. 1995), or using a daily maximum temperature instead of a daily mean temperature

(Besselat et al. 1995). Models based on thermal time are not the only means to predict phenological stages (Riou & Pouget 1992, Chuine et al. 2004), but we chose to restrict our study to this type of model because (1) the same framework can be used for predicting budbreak, flowering and véraison, (2) to assess parameters for 120 genotypes with 3 yr of data, the number of parameters to be estimated had to be less than 4, and (3) we are also interested in the genetic determinism of the traits and we expect more in the future from physiological approaches, more closely related to genes, than from more complex mathematical models. The model used is based on the equation:

$$HS = \sum_{i=1}^n \text{Max}(T_i - T_b ; 0) \quad (2)$$

where T_b (base temperature) and HS (heat sum) are parameters to be estimated, T_i is the daily temperature (mean or maximum) for day i and n is the number of days of the phase.

This model considers the response of grapevine developmental stages to temperature as linear, which is certainly not the case, as shown for other species (Yin et al. 1995) or for grapevine photosynthesis (Schultz 2000). A threshold for maximum temperature is sometimes used, for maize for instance (Brisson et al. 1998), and a model where values of maximum temperatures were limited to a 33°C threshold (Schultz 2000) has also been tested.

We did not attempt to predict harvest dates as (1) sugar content depends on yield level and soil water balance as well as on temperatures and (2) we do not have any validated model to predict sugar content and/or acidity in our conditions. Therefore, we did not work on a predicted véraison-harvest period.

2.4. Statistical tests

Models for phenological stages were evaluated using 3 statistical criteria (Greenwood et al. 1985, Garcia de Cortazar Atauri 2006). The Mean Absolute Error (MAE) was calculated as:

$$MAE = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n |P_i - O_i| \quad (3)$$

where n is the number of years in the data set, P_i is the predicted date for year i , O_i is the observed date for year i .

The Root Mean Square Error (RMSE) was calculated as:

$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (P_i - O_i)^2} \quad (4)$$

This criterion gives a higher weight to important errors of prediction.

The efficiency of the model (EFF) provides an estimation of the variance of the observations explained by the model. If EFF = 0 or less, the model does not explain any variation.

$$\text{EFF} = 1 - \left(\frac{\sum_{i=1}^n (P_i - O_i)^2}{\sum_{i=1}^n (O_i - \bar{O})^2} \right) \quad (5)$$

where $\bar{O}$ is the mean of the observations.

Regression and analysis of variance were performed with the R software version 2.8.1 (R Development Core Team 2008).

3. RESULTS

3.1. Determination of base temperatures

To determine base temperatures, the inverse of the duration of a period D ($1/D$) was plotted against the average temperature $\bar{T}$ over the period D (Durand et al. 1982). With $1/D = a\bar{T} + b$, the base temperature T_b , where D would be infinite, can be calculated as $T_b = -b/a$. Consequently, $\sum_{i=1}^n (T_i - T_b)$, where T_i is the temperature of day i of the period, is a constant. The confidence ellipses for the estimated parameters a and b were calculated using the 'ellipse' library in the R packages and were used to verify whether a chosen base temperature T_b was compatible or not with a confidence ellipse. To obtain the best estimates for these base temperatures, all of the available data for RI and GW were used. Both daily mean and daily maximum temperatures were tested.

For budbreak, the date when the calculation of temperature accumulation should start is theoretically the day when the period of dormancy ends (Pouget 1972). For practical reasons, 1 January is often considered as the starting point (Riou & Pouget 1992, Oliveira 1998), but 20 February has also been used (Williams et al. 1985). Seven starting dates, every 15 d from 1 January to 1 April, were tested independently for RI and GW. The coefficients of correlation between $1/D$ and $\bar{T}$ were the highest with 15 February as the starting date, for both varieties, using either the mean or the maximum temperature (data not shown). Using 10 February or 20 February did not yield better results. The calculated base temperatures were very similar for the 2 varieties tested (Table 1). A simple integer value, in the confidence ellipses for RI and GW, was chosen for each stage for the remainder of the study (' T_b used' in Table 1).

3.2. Cross-validation of models

The first objective of the study was to set up models able to predict budbreak, flowering and véraison dates for RI and GW. For each of the 3 phases, 15 February to budbreak (15FB), budbreak to flowering (BF) and flowering to véraison (FV), each data set was divided into 2 parts. The heat sum required to reach a particular stage was calculated independently for RI and GW using 17 randomly chosen years. The MAE, RMSE and EFF criteria were calculated with the dates predicted for the 16 remaining years. The model using a 10°C base temperature was also included as a control.

The 10°C base temperature models were discarded as they created more variability than in the observed data, except for predicting flowering (Table 2). The use of daily mean temperatures or daily maximum temperatures provided satisfactory models with efficiencies greater than 62% (Table 2). The prediction of budbreak was better using a daily mean temperature above -2°C than using a maximum temperature above 2°C, whereas predictions of flowering and véraison were slightly better using maximum temperatures. As the models were validated by these cross tests, average heat sums were calculated with the complete data set and then used to compute simulated dates annually. Except for budbreak prediction with mean temperatures, RMSE were smaller than those obtained for the cross tests (Table 3). Efficiencies were always higher, or within a 1% range, for the complete data set. The use of maximum temperatures was slightly more

Table 1. Base temperatures ($T_b = -b/a$) calculated with the relationship $1/D = a\bar{T} + b$, where D is the duration of the period and $\bar{T}$ is the average temperature during this period. 15FB: 15 February to budbreak; BF: Budbreak to flowering; FV: Flowering to véraison; GW: Gewurztraminer; RI: Riesling. ' T_b used' values are integer values within the confidence ellipses of the calculated T_b for both varieties

Temperature	Period	Variety	R ²	T_b calculated (°C)	T_b used (°C)
Mean	15FB	GW	0.65	-1.8	-2
		RI	0.56	-2.4	
		GW	0.72	6.6	7
		RI	0.77	7.3	
	FV	GW	0.55	2.6	3
		RI	0.68	2.7	
Maximum	15FB	GW	0.69	2.3	2
		RI	0.64	1.9	
		GW	0.81	10.4	10
		RI	0.77	10.4	
	FV	GW	0.60	5.6	6
		RI	0.70	5.2	

Table 2. Heat sums (HS, degree-days) calculated with 17 yr and criteria for goodness of fit calculated with 16 different yr. The base temperatures used are shown in Table 1. 1JB: 1 January to budbreak; 15FB: 15 February to budbreak; BF: budbreak to flowering; FV: Flowering to véraison; RI: Riesling; GW: Gewurztraminer; MAE: Mean Absolute Error; RMSE: Root Mean Square Error; EFF: Efficiency. A negative efficiency means that the model created more variability in the predicted data compared with the observed data

Temperature	Period	HS for GW	HS for RI	MAE (d)	RMSE (d)	EFF (%)
Mean with $T_b = 10^\circ\text{C}$	1JB	32.1	47.0	7.5	10.4	<0
	BF	299.2	295.5	3.0	3.8	87
	FV	598.0	633.0	10.6	21.9	<0
Mean with T_b from Table 1	15FB	559.9	607.7	3.7	4.7	73
	BF	470.6	456.9	2.9	3.9	87
	FV	1048.5	1105.7	4.5	5.3	85
Maximum with T_b from Table 1	15FB	611.9	665.4	4.5	5.6	62
	BF	619.4	587.7	2.7	3.4	90
	FV	1244.5	1317.4	4.1	5.0	86

Table 3. Heat sums (HS, degree-days) and criteria for simulations with 33 yr of data. The base temperatures used are shown in Table 1. 15FB: 15 February to budbreak; BF: Budbreak to flowering; FV: Flowering to véraison; RI: Riesling; GW: Gewurztraminer; MAE: Mean Absolute Error; RMSE: Root Mean Square Error; EFF: Efficiency

Temperature	Period	HS for GW	HS for RI	MAE (d)	RMSE (d)	EFF (%)
Mean	15FB	551.0	601.8	3.9	4.9	74
	BF	466.2	441.3	2.6	3.6	87
	FV	1038.3	1129.2	3.5	4.3	87
Maximum	15FB	599.7	655.3	3.6	4.7	75
	BF	612.6	575.9	2.7	3.3	89
	FV	1229.5	1339.6	3.2	4.1	89

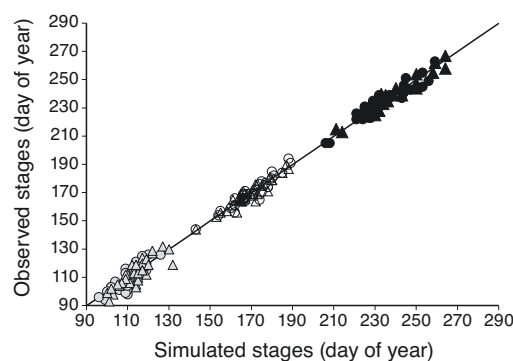


Fig. 1. Comparison between observed and simulated dates of budbreak, flowering and véraison over 33 yr for Riesling and Gewurztraminer in Bergheim. O: Gewurztraminer. Δ: Riesling. Grey: budbreak. White: flowering. Black: véraison

efficient than the use of daily mean temperatures. Using a 33°C threshold for maximum temperatures during the FV period did not improve the model (EFF = 89%, RMSE = 4.3 d).

Budbreak, flowering and véraison dates were also calculated one after the other. Overall, the simulations were very good (Fig. 1). The RMSE was 3.1 and 3.7 d for the flowering and véraison dates, respectively. This is less than the RMSE for budbreak (4.7 d) or for the duration of the FV period (4.1 d). The efficiency of the model in predicting flowering and véraison with only meteorological data was 91% for the 2 stages.

3.3. Genetic variability in the Viticultural Ecology collection

Heat sums for the 15FB, BF and FV periods were calculated as for RI and GW with maximum temperatures with T_b of 2, 10 and 6°C , respectively, for 14 varieties with 12 yr of data. The base temperatures used were the same as those employed for RI and GW (1) to make comparisons between varieties possible and (2) to be consistent with the calculations for the RI $\times$ GW progeny, where base temperatures could not be reasonably evaluated individually for the 120 genotypes with only 3 yr of data. The overall efficiency of the simulation of the véraison dates with only meteorological data was 81%, and the RMSE was 4.7 d. Mean errors of prediction were greater for late genotypes than for early genotypes. For example, the bias for Muscat of Alexandria, -2.9 d between simulated and observed dates, was due to 2 years, 1978 and 1987, with observed véraison dates after 10 October.

There were significant differences between varieties for the 3 phases (Table 4). Heat requirements were independent between phases: the BF period for Chasselas blanc was one of the longest, but the FV period was the shortest. Conversely, flowering for RI took place quite quickly after budbreak, but reaching véraison required more degree-days than for Syrah. Cabernet Sauvignon was a late-ripening variety, but this was mainly due to late budbreak. A véraison index was calculated for each variety as the sum of the 3 heat sums to allow for quick comparisons between varieties. This approach enables an accurate characterisation of genetic variations in developmental stages.

Table 4. Heat sums (HS, degree-days) with maximum temperatures and standard errors for genotypes grown in Bergheim. Twelve yr of data were available for the Viticultural Ecology collection. Only extreme values (3 yr of data) are presented for the RI × GW progeny. 15FB: 15 February to budbreak; BF: Budbreak to flowering; FV: Flowering to véraison. Bold: extreme values

Genotype	HS 15FB	HS BF	HS FV	Véraison index
Viticultural Ecology collection				
Cabernet Sauvignon	774.3	619.8	1189.8	2583.9
Carignan	756.6	649.9	1380.8	2794.8
Chasselas blanc	653.8	656.0	1042.5	2352.4
Gewurztraminer	628.1	635.5	1193.5	2457.1
Grenache	735.1	664.8	1366.2	2767.9
Kadarka	696.1	672.2	1275.8	2644.0
Limberger	597.1	649.1	1205.1	2451.2
Muscat of Alexandria	711.3	675.6	1387.9	2792.5
Pinot noir	691.4	587.2	1190.1	2468.7
Portugais bleu	653.4	604.4	1107.3	2365.1
Riesling	685.0	589.2	1291.3	2565.6
Sauvignon	666.6	641.9	1167.8	2476.3
Syrah	669.3	641.3	1242.3	2552.9
Ugni blanc	798.9	641.6	1327.0	2771.3
Standard error	12.8	10.5	15.3	19.1
RI × GW progeny				
9E	591.5	–	–	–
47E	702.5	–	–	2635.9
26E	–	597.6	–	–
13D	–	666.1	–	–
4E	–	–	1059.4	–
237E	–	–	1345.5	–
58E	–	–	–	2345.4
Virtual 9E:26E:4E	591.5	597.6	1059.4	2248.5
Virtual 47E:13D:237E	702.5	666.1	1345.5	2714.1
Standard error	27.4	10.0	23.3	31.6

3.4. Genetic variability in the RI × GW progeny

As for RI and GW, heat sums were assessed for 3 yr of observation for 120 genotypes among the progeny of a RI × GW cross. Calculations were carried out using meteorological data from Colmar in order to be consistent with the other data sets. The heat sum values observed in this progeny cover approximately 55 % (budbreak), 77 % (flowering) and 83 % (véraison) of the ranges observed in the Viticultural Ecology collection (Table 4). The latest genotypes in the RI × GW progeny have a véraison index lower than Kadarka, Carignan, Grenache and Muscat of Alexandria but a higher index than Cabernet Sauvignon or Syrah.

To explore the potential extent of the variation of the phenology response, we created a 'virtual' genotype by adding the largest values observed for each period in the RI × GW progeny results. This 'virtual' genotype has a véraison index of 2714 (Table 4) and would theoretically reach véraison a few days before Grenache.

3.5. Projected temperatures

The temperatures simulated with the ARPEGE-Climat model on the closest grid-point to Colmar were compared with the actual data from Colmar for the control period 1986–2007. The month-to-month average temperature does not differ by more than 0.36°C ($T_{\max}$ in May). The average differences over the grapevine growing period of April to September were 0.10 and 0.07°C for $T_{\min}$ and $T_{\max}$, respectively. Consequently, we considered the model as acceptable. To further validate the projected climatic data, comparisons were made with IPCC data. Under scenario B2, the mean annual temperature in Colmar is projected to increase by 2.1°C at the end of the century compared with the period 1973–1999 (Table 5). The increases are 1.0 and 1.3°C higher under scenarios A1B and A2, respectively. These increases in temperatures are in the range of the changes expected for the global average surface temperature with the same scenarios (IPCC 2007). The A1B projected changes are, however, closer to A2 projected changes in our region than at the global level. The increase is predicted to be +0.3 to 0.4°C higher for maximum temperatures than for minimum temperatures.

3.6. Projected stages

Simulated daily temperatures were available for Colmar for scenario A1B from 2010 to 2100 and for scenarios A2 and B2 from 2073 to 2099. For each year and scenario, budbreak, flowering and véraison dates were calculated for RI and GW according to the models previously developed with maximum temperatures (Table 3). To summarise the results, dates of phenological stages were averaged over periods of 27 to 32 yr. By the end of the century, véraison could advance for both varieties by 16 (B2) to 24 (A2) d when compared with the period 1976–2008 (Fig. 2). As expected, the effects of climatic conditions in scenario B2 are of lower magnitude than in scenario A2. In scenario A1B,

Table 5. Increase of predicted average annual temperatures (°C) in 2073–2099 compared with the observed values (1973–1999) for Colmar according to 3 IPCC emissions scenarios using the ARPEGE-Climat model

Dataset	Minimum temp.	Maximum temp.	Mean temp.
Observed values	5.7	15.0	10.3
B2	+2.0	+2.3	+2.1
A1B	+3.0	+3.3	+3.1
A2	+3.2	+3.6	+3.4

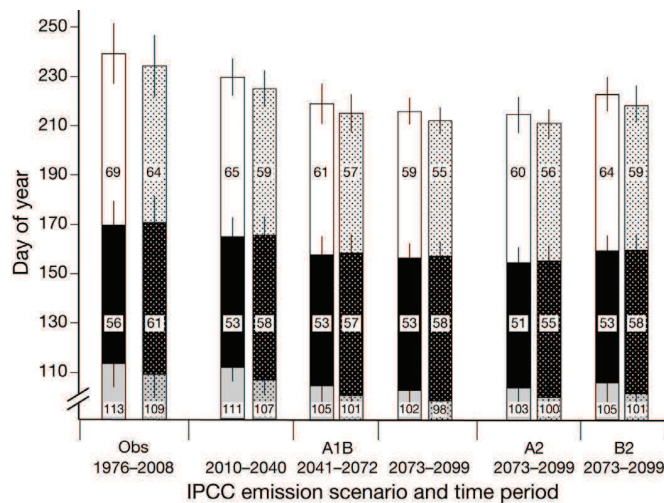


Fig. 2. Observed and projected dates of budbreak (grey), flowering (black) and véraison (white) for Riesling (left, plain) and Gewurztraminer (right, dotted) according to 3 IPCC scenarios. Figures in the bars represent the durations of the different phases, and whiskers indicate standard deviations

the difference between the beginning of the century (2010–2040) and mid-century (2041–2073) will be greater than from mid-century to the end of the century (2073–2099). If these simulations are correct, a large number of climate change effects will be apparent by the first half of the century.

The model with a 33°C threshold for maximum temperature was also used to predict the véraison dates. Delays in véraison dates are predicted when using the threshold model instead of the model without a threshold, but the largest effect on average values is limited to +1 d, as evident for RI in scenario A2 from 2071–2099. Using a 30°C threshold, the delay for the same data set would be +2.4 d.

The model used for budbreak assumes that chilling requirements are satisfied for all years, which had to be verified. Chilling requirements necessary to release bud dormancy are not clearly defined. Pouget (1972) suggested that a period of 7 consecutive days with a mean temperature below 10°C was required for Merlot. More recently, Garcia de Cortazar Atauri (2006) proposed a model that included an accumulation of daily chilling units (Cc) to predict the end of dormancy. For RI, the estimated value for Cc was 108.2. Under scenario A1B, both criteria were satisfied every year before 15 February. According to the current knowledge on budbreak and to the meteorological data used, a delay in budbreak due to insufficiently low winter temperatures is unlikely for Colmar in the future.

3.7. Consequences on climatic conditions during ripening

The requested natural alcohol level in the 'Alsace Grand Cru' top level wines is currently 11 % v/v for RI and 12.5 % v/v for GW (Association des Viticulteurs d'Alsace, May 2009), which corresponds to 185 and 210 g l⁻¹ of sugar in the berries, respectively. Projected climatic conditions were therefore compared to the years when these levels of sugar content were actually reached in samples taken all over the region (Duchêne & Schneider 2005). Twelve and 19 years, called 'favourable years' in the following text, were selected for RI and GW, respectively (Table 6). Average minimum and maximum temperatures were calculated for the 35 d following véraison (Duchêne & Schneider 2005) for each year of observed data and of the A1B scenario. This period was chosen to compare the climatic conditions during the ripening phase and does not correspond

to an actual, or projected, véraison–harvest period. Our purpose was to compare present and future conditions rather than to predict grapevine quality at harvest. Surprisingly, the years favourable to high sugar content, although different, have the same temperature profile for RI and for GW despite differences in véraison dates (Table 6). When compared with the observed favourable years, an increase of approximately 1°C for RI and 1.5°C for GW is predicted for 2010–2040 (Table 7). For 2041–2072, the increase will clearly be greater for maximum temperatures than for minimum temperatures, reaching 5.3°C for RI and 5.9°C for GW (3.9°C and 4.5°C for minimum temperatures, respectively). As observed for developmental stages, a slowing down of the rate of increase is projected for the last years of the century. The average maximum temperature during ripening for GW could, however, reach 31°C at this time, compared with 23.7°C in the observed favourable years and 22.4°C for 1976–2008 (Table 7).

Table 6. Average véraison dates and average temperatures (°C) during the 35 d following véraison for years favourable for sugar accumulation within the 1976–2008 period (185 g l⁻¹ for Riesling, 210 g l⁻¹ for Gewurztraminer)

Genotype	Véraison date	Minimum temp.	Maximum temp.	Mean temp.
Riesling	18 August	11.7	23.7	17.7
Gewurztraminer	15 August	11.6	23.7	17.7

Table 7. Differences in véraison dates (d) and in average temperatures (°C): observed and projected data (scenario A1B) are compared to the years favourable for sugar accumulation (Table 6)

Genotype	Data set	Period	Véraison date	Minimum temp.	Maximum temp.	Mean temp.
Riesling	Observed	1976–2008	+8	–1.6	–2.1	–1.8
		2003	–15	+2.4	+6.5	+4.4
	Projected (A1B)	2010–2040	–1	+0.9	+1.1	+1.0
		2041–2072	–11	+3.9	+5.3	+4.6
		2073–2099	–15	+5.6	+6.9	+6.3
Gewurztraminer	Observed	1976–2008	+6	–1.0	–1.3	–1.2
		2003	–22	+3.6	+8.0	+5.8
	Projected (A1B)	2010–2040	–2	+1.4	+1.7	+1.5
		2041–2072	–12	+4.5	+5.9	+5.1
		2073–2099	–15	+6.0	+7.3	+6.6

Year 2003 was included as a reference for an exceptionally hot summer (Schär et al. 2004). Maximum temperatures during ripening in 2003 are comparable to the projected temperatures for the end of the century, but mean temperatures similar to those seen in 2003 could be common as soon as the middle of the century (Table 7).

3.8. Adaptation of genotypes to projected conditions

Temperatures over the growing season, integrated in indexes such as the Huglin Index, determine the suitability of varieties to a given environment (Huglin 1978). Temperatures are of major importance for wine quality (Jones et al. 2005), but there are no scientific data on the range of temperatures during the ripening period suitable for producing wines with specific characteristics, i.e. 'typical' wines, in our conditions. A working hypothesis is to assume that temperatures during ripening in the future should remain in the

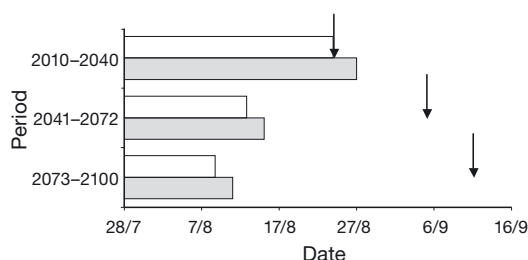


Fig. 3. Véraison dates under scenario A1B. White: virtual genotype from a Riesling × Gewurztraminer progeny. Grey: Muscat of Alexandria. Arrows indicate the date when the mean temperature of the following 35 d is projected to be 17.7°C, on average

same range as currently observed to maintain a constant typicity. We therefore determined the date when ripening should start so that the mean temperature during the following 35 d would be the same as the mean temperature observed in the favourable years as previously defined. Average daily mean temperatures were calculated for 3 periods for the A1B scenario. An average mean temperature of 17.7°C (Table 6) during ripening would be observed if ripening started on 24 August, 5 September and 11 September during 2010–2040, 2041–2072 and 2073–2100, respectively (Fig. 3). In parallel, véraison dates were calculated for Muscat of Alexandria and for the virtual genotype from the RI × GW progeny that would have the latest véraison. Muscat of Alexandria was chosen because it was one of the latest ripening genotypes studied. For 2010–2040, it appears possible to find genotypes whose ripening could take place in temperature conditions similar to the favourable years actually observed (Fig. 3). For 2041–2072, there is a 20 d gap between the véraison of Muscat of Alexandria (15 August) and the start of the period when the mean temperature would be 17.7°C (5 September). The virtual RI × GW genotype would undergo véraison before Muscat of Alexandria. Therefore, the feasibility of creating a new variety, a progeny of RI and GW, that could ripen in the same range of temperatures as currently observed, does not seem possible.

In the last years of the century, it is unlikely that any *Vitis vinifera* variety could start ripening on 11 September, knowing that Muscat of Alexandria, one of the latest ripening varieties in Europe, would undergo véraison on 9 August, on average. These results illustrate the effects of global warming on both the advance in phenological stages and the increase of temperatures in summer.

4. DISCUSSION

4.1. A model for phenological stages

Here, we provide a model for predicting budbreak, flowering and véraison for RI and GW. This model, based on growing degree-days, is able to simulate accurately the observed stages from the past 30 yr.

Base temperatures were obtained by a regression model, and it can be shown mathematically that base temperatures obtained by minimizing the standard deviation of the heat sums are very close (Durand et al. 1982). Moncur et al. (1989) reached the same conclusion empirically. Base temperatures vary widely in the literature, depending on the varieties studied (Moncur et al. 1989) or on grape-growing regions (Besselat et al. 1995). The values of base temperatures calculated for the FV period, 3 and 6°C for T_{mean} and T_{max} , respectively, are surprisingly low. They result from statistical adjustments and are far from the range of average temperatures observed during this period (22.8 to 29.2°C for T_{max}). If the response of the phenology is not linear, these calculated base temperatures are not indicators of actual physiological thresholds. An indirect validation of our calculated base temperatures is the fairly good predictions of the models. For budbreak, a RMSE of 4.7 d and an efficiency of 75% (Table 3) are satisfactory when compared with similar studies (Mandelli et al. 2003, Garcia de Cortazar Atauri 2006). Improving budbreak prediction is difficult, as this stage also depends on soil temperature (Kliewer 1975) and on pruning dates (Martin & Dunn 2000). As already shown (Moncur et al. 1989), a 10°C base temperature is not appropriate for budbreak prediction.

Previous studies also obtained good relationships between flowering dates and heat sums expressed in degree-days (Williams et al. 1985, Besselat et al. 1995, Garcia de Cortazar Atauri 2006). Our final model (maximum temperatures, 10°C base temperature) is the same as the model retained by Besselat et al. (1995) for Pinot Noir in Burgundy and has a similar accuracy, with a MAE between 2.5 and 3 d in each case. With our data, using mean temperatures with the classical 10°C base did not significantly change the goodness of fit for this stage (Table 2).

We are not aware of a published heat sum model for véraison. Chuine et al. (2004) proposed a model using daily mean temperatures that could explain approximately 90% of the variance of véraison dates for Pinot Noir. This model, however, requires 5 parameters and was not appropriate for the simple comparison of grapevine genotypes. The goodness of fit of our model is high, with a final RMSE of 3.7 d and an efficiency of approximately 90%.

4.2. Genetic variability

Costantini et al. (2008) have shown that flowering and véraison time segregated in an Italia × Big Perlon progeny. Quantitative Trait Loci (QTL) and molecular markers associated with these traits could be identified for these genotypes. A similar work is in progress for our RI × GW progeny. Our results show that heat sums can be used to characterise the genetic variability, and this should lead to a better analysis of the genetic determinism of the phenological traits. The genetic variability for the véraison dates was 39 d within 279 genotypes in the INRA collection at Vassal (Galet 1990). The range in the véraison dates in our study was 6 d between RI and GW, 16 d in the RI × GW progeny and 28 d in the collection of 14 varieties. The range of stages created in our progeny is quite large when we consider that the parents are adapted to the same growing conditions. Among the progeny of Italia × Big Perlon, 2 genitors with a 20 d difference in time of véraison, the observed range of véraison dates was 45 d (Costantini et al. 2008). Breeding new late ripening varieties is a way to increase the existing genetic variability and to adapt the grapevine phenology to climate change.

4.3. Phenological stages in the future

The impacts of future climate change on Cabernet Sauvignon and Chardonnay phenology have been assessed in Australia (Webb et al. 2007). Except for one of the regions of the study, budbreak should be earlier by 2 to 9 d in 2030 and 3 to 18 d in 2050. Our simulations are compatible with these estimations (Fig. 2). Figures for the advance of harvest in Australia (approx. 20 d in 2050 without the Margaret River region) are also similar to our results for the véraison dates. The predicted advance of phenological stages is, however, smaller in our study than in a previous work conducted in France (Garcia de Cortazar Atauri 2006). By extrapolating the observed tendencies (Duchêne & Schneider 2005), véraison dates could be 40 d earlier in 2050 compared with those in 1976–2008. Limited canopy development due to more frequent water shortages in the future could also increase grape exposure and berry temperature during ripening (dos Santos et al. 2007). The uncertainty in véraison advance in climate modelling is also in part due to our incomplete understanding of the relationship between high temperatures and grapevine phenology. The arbitrary use of a threshold for maximum temperatures did not significantly modify the projected véraison dates (approximately 2 d) when compared with the uncertainty between scenarios (more than 7 d between scenarios A2 and B2). This

limited effect can be explained by the shift of the FV period earlier in the season in the future. This partially counteracts the higher frequency of warm days during summer: for RI under scenario A2 in 2073–2099, the average maximum temperature during the FV period falls outside the range of observed years in only 5 years. Nevertheless, the models could certainly be improved by the use of a non-linear response of phenology to temperatures.

4.4. Projected conditions during ripening

Projected temperatures and phenological stages show that ripening could occur under higher temperatures in the future because of both earlier véraison dates and a general increase in temperatures. By 2030 (2010–2040), the projected increase in temperatures is limited to 1–1.5°C, but by 2050 (2041–2072) temperatures could be 5 to 6°C higher than the average value for the past favourable years. High temperatures accelerate the degradation of organic acids (Kliewer 1971) and impair the accumulation of anthocyanins (Mori et al. 2007). As sugar content is likely to increase with accelerated ripening (Jackson & Lombard 1993, Duchêne & Schneider 2005), climate change will lead to wines with a modified sugar/acid ratio unless acid is added back to the must. Despite scarce direct experimental data, the negative effects of high temperatures on the aroma content of grapes and wines are widely accepted. Monoterpenols are the molecules responsible for the floral aromas found in GW grapes and wines (Duchêne et al. 2009b), and RI also contains more monoterpenols than 'neutral' grape varieties do (Razungles et al. 1993). A 30 % loss of terpenols has been observed between naturally and artificially shaded bunches of Muscat of Frontignan, with the main difference being a temperature that was 7°C higher in the bags used for shading (Bureau et al. 2000).

In addition, 1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaphthalene (TDN) is a compound found in RI wines (Simpson & Miller 1983). TDN concentrations increase during ripening and under warmer conditions (Marais et al. 1992). High TDN content can be detrimental to wine quality in some hot summer growing areas, and this could occur in Alsace in the future.

The direct effects of [CO₂] should also be considered. When analysing wines made from grapes of Touriga Franca vines grown under ambient or elevated (500 ppm) [CO₂], Goncalves et al. (2009) showed a small but significant increase in the linalool concentration in wines made from grapes grown under elevated [CO₂]. Although the results of this experiment suggest that [CO₂] may affect wine quality, it does not provide a conceptual framework for how future CO₂ atmospheric concentra-

tions could increase monoterpenol content in aromatic varieties. In the same experiment, total anthocyanins and polyphenol concentrations were inhibited under elevated [CO₂].

Through a different alcohol/acidity balance and a different aroma profile, the typicity of wines could be modified by the middle of the century. From another point of view, these new ripening conditions will offer expanded opportunities to grow late ripening genotypes. Combined with a high diversity of geological substrates, new and original types of wines might be produced in Alsace.

4.5. Adapting varieties

We have no clear indication of the threshold of temperatures during ripening that can significantly modify the characteristics of RI and GW wines. We may be able to manage the predicted increase for the coming 30 yr (1 to 1.5°C), but this value is an average, and hotter summer temperatures or extreme temperature events are expected to become more and more frequent (Schär et al. 2004). To avoid hot ripening conditions, one strategy is to move the cultivation area to higher elevations or higher latitudes. Another strategy is to delay véraison. With the current varieties, the only technical means of accomplishing this is to delay bud-break by late pruning. This strategy is not realistic at a regional scale as, logistically, it is not possible to prune all vineyard plots late, and even if late pruning was practised, the effect would be limited to a few days (Martin & Dunn 2000) when weeks of delay would be necessary (Fig. 3).

The original purpose of this research was based on the hypothesis that creating new varieties would meet the challenge of climate change. Our results can be analysed from 2 points of view. On the one hand, we demonstrated that crossing RI and GW can generate a large genetic variability. Genotypes ripening almost as late as Grenache can be expected from such progenies, and we can potentially breed a new variety that reproduces the wine characters of the parents using molecular markers (Duchêne et al. 2009a). On the other hand, this variability does not seem sufficient to compensate for the effect of climate change after 2050. At this time, even a late ripening variety like Muscat of Alexandria would experience warmer ripening conditions than RI or GW do today. Whether such a variety originating from warmer Mediterranean countries is able to produce high quality wines in such conditions should be further investigated. Other alternatives are to explore in depth the existing genetic variability or to breed varieties from crosses with late ripening genotypes, for example, RI and Muscat of Alexandria.

5. CONCLUSIONS

Our work combined ecophysiological modelling, projected climate changes and exploration of genetic variability. The use of a degree-days model showed that compared to 1976–2008, véraison could advance by 23 d, and mean temperatures during the following 35 d could increase by more than 7°C by the end of the 21st century for RI and GW grown in Alsace. Using the same framework, the genetic variability of phenological parameters was explored with 120 genotypes resulting from a RI × GW cross and with 14 European varieties. We created a virtual late ripening genotype, derived from a cross between RI and GW, which would undergo véraison 2 to 3 d before Muscat of Alexandria. Even with this virtual genotype, as well as with Muscat of Alexandria, grapes should ripen under higher temperatures by the middle of the 21st century than in the present years.

Many uncertainties complicate the prediction of grapevine physiology in the future: GHG emissions scenarios and climatic models; the quantitative impact of temperatures on sugars, acids and aroma compounds; and the direct effects of CO₂ atmospheric concentration. Whatever these uncertainties, our work highlights the important changes that viticulture might have to face and the limits of our capacities to find adapted varieties. As such, our work emphasises the importance of research programs that target climate change and the new strategies needed to adapt to such projected changes.

Acknowledgements. This work was partially financed by the ERA-NET Plant Genomics Program (GRASP GRAPE WINE 074B).

LITERATURE CITED

- Baggiolini M (1952) Les stades repères dans le développement annuel de la vigne et leur utilisation pratique. *Rev Rom Agric Vitic* 8:4–6
- Besselat B, Drouet G, Palagos B (1995) Méthodologie pour déterminer le besoin thermique nécessaire au départ de la floraison de la vigne. *J Int Sci Vigne Vin* 29:171–182
- ✱ Brisson N, Mary B, Ripoche D, Jeuffroy MH and others (1998) STICS: a generic model for the simulation of crops and their water and nitrogen balances. I. Theory and parameterization applied to wheat and corn. *Agronomie* 18:311–346
- ✱ Bureau SM, Razungles AJ, Baumes RL (2000) The aroma of Muscat of Frontignan grapes: effect of the light environment of vine or bunch on volatiles and glycoconjugates. *J Sci Food Agric* 80:2012–2020
- ✱ Chuine I, Yiou P, Viovy N, Seguin B, Daux V, Le Roy Ladurie E (2004) Grape ripening as a past climate indicator. *Nature* 432:289–290
- ✱ Costantini L, Battilana J, Lamaj F, Fanizza G, Grando MS (2008) Berry and phenology-related traits in grapevine (*Vitis vinifera* L.): from Quantitative Trait Loci to underlying genes. *BMC Plant Biol* 8:38
- ✱ Déqué M (2007) Frequency of precipitation and temperature extremes over France in an anthropogenic scenario: model results and statistical correction according to observed values. *Global Planet Change* 57:16–26
- ✱ dos Santos TP, Lopes CM, Rodrigues ML, de Souza CR and others (2007) Effects of deficit irrigation strategies on cluster microclimate for improving fruit composition of Moscatel field-grown grapevines. *Sci Hortic (Amsterdam)* 112:321–330
- ✱ Duchêne E, Schneider C (2005) Grapevine and climatic changes: a glance at the situation in Alsace. *Agron Sustain Dev* 25:93–99
- ✱ Duchêne E, Butterlin G, Claudel P, Dumas V, Jaegli N, Merdinoglu D (2009a) A grapevine (*Vitis vinifera* L.) deoxy-d-xylulose synthase gene colocalizes with a major QTL for terpenol content. *Theor Appl Genet* 118:541–552
- ✱ Duchêne E, Legras JL, Karst F, Merdinoglu D, Claudel P, Jaegli N, Pelsy F (2009b) Variation of linalool and geraniol content within two pairs of aromatic and non aromatic grapevine clones. *Aust J Grape Wine Res* 15:120–130
- ✱ Durand R, Bonhomme R, Derieux M (1982) Seuil optimal des sommes de températures. Application au maïs (*Zea mays* L.). *Agronomie* 2:589–597
- EEA (2008) Impacts of Europe's changing climate—2008 indicator-based assessment. European Environment Agency, Copenhagen K, Denmark. www.eea.europa.eu/publications/eea_report_2008_4
- Galet P (1990) Cépages et vignobles de France. Tome II. L'Ampélographie Française. Montpellier
- Garcia de Cortazar Atauri I (2006) Adaptation du modèle STICS à la vigne (*Vitis vinifera* L.). Utilisation dans le cadre d'une étude d'impact du changement climatique à l'échelle de la France. PhD thesis, Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier, France
- ✱ Goncalves B, Falco V, Moutinho-Pereira J, Bacelar E, Peixoto F, Correia C (2009) Effects of elevated CO₂ on grapevine (*Vitis vinifera* L.): volatile composition, phenolic content, and *in vitro* antioxidant activity of red wine. *J Agric Food Chem* 57:265–273
- ✱ Greenwood DJ, Neeteson JJ, Draycott A (1985) Response of potatoes to N fertilizer: dynamic model. *Plant Soil* 85:185–203
- ✱ Hall A, Jones GV (2009) Effect of potential atmospheric warming on temperature-based indices describing Australian winegrape growing conditions. *Aust J Grape Wine Res* 15:97–119
- Huglin P (1978) Nouveau mode d'évaluation des possibilités héliothermiques d'un milieu viticole. *Compte-rendus de l'Académie d'Agriculture*:1117–1126
- IPCC (2000) IPCC special report on emissions scenarios. Summary for policy makers, WMO-UNEP, Geneva, Switzerland. www.ipcc.ch/pdf/special-reports/spm/sres-en.pdf
- IPCC (2007) Climate change 2007: synthesis report. In: Pachauri RK, Reisinger A (eds) Contribution of Working Groups I, II and III to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, Core Writing Team. WMO-UNEP, Geneva. www.ipcc.ch/pdf/assessment-report/ar4/syr/ar4_syr.pdf
- Jackson DI, Lombard PB (1993) Environmental and management practices affecting grape composition and wine quality—a review. *Am J Enol Vitic* 44:409–430
- ✱ Jones GV, White MA, Cooper OR, Storchmann K (2005) Climate change and global wine quality. *Clim Change* 73:319–343
- Kliwer WM (1971) Effect of day temperature and light intensity on concentration of malic and tartaric acids in *V. vinifera* grapes. *J Am Soc Hortic Sci* 96:372–377

- Kliewer WM (1975) Effect of root temperature on budbreak, shoot growth, and fruit-set of Cabernet Sauvignon grapevines. *Am J Enol Vitic* 26:82–89
- ✱ 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. *Ann Bot (Lond)* 93: 263–274
- Mandelli F, Berlato MA, Toniello J, Bergamaschi H (2003) Predicting the date of budbreak of grapevine grown in the 'Serra Gaucha' region. *J Int Sci Vigne Vin* 37:229–235
- Marais J, van Wyk CJ, Rapp A (1992) Effect of sunlight and shade on norisoprenoid levels in maturing Weisser Riesling and Chenin blanc grapes and Weisser Riesling Wines. *S Afr J Enol Vitic* 13:23–32
- ✱ Martin SR, Dunn GM (2000) Effect of pruning time and hydrogen cyanamide on budburst and subsequent phenology of *Vitis vinifera* L. variety Cabernet Sauvignon in central Victoria. *Aust J Grape Wine Res* 6:31–39
- Moncur MW, Rattigan K, Mackenzie DH, McIntyre GN (1989) Base temperatures for budbreak and leaf appearance of grapevines. *Am J Enol Vitic* 40:21–27
- ✱ Mori K, Goto-Yamamoto N, Kitayama M, Hashizume K (2007) Loss of anthocyanins in red-wine grape under high temperature. *J Exp Bot* 58:1935–1945
- Oliveira M (1998) Calculation of budbreak and flowering base temperatures for *Vitis vinifera* cv. Touriga Francesa in the Douro region of Portugal. *Am J Enol Vitic* 49:74–78
- ✱ Petrie PR, Sadras VO (2008) Advancement of grapevine maturity in Australia between 1993 and 2006: putative causes, magnitude of trends and viticultural consequences. *Aust J Grape Wine Res* 14:33–45
- Pouget R (1972) Considérations générales sur le rythme végétatif et la dormance des bourgeons de la vigne. *Vitis* 11: 198–217
- R Development Core Team (2008). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. www.R-project.org
- ✱ Ramos MC, Jones GV, Martinez-Casasnovas JA (2008) Structure and trends in climate parameters affecting winegrape production in northeast Spain. *Clim Res* 38:1–15
- Razungles A, Günata Z, Pinatel S, Baumes R, Bayonove C (1993) Etude quantitative de composés terpéniques, norisoprénoides et de leurs précurseurs dans diverses variétés de raisins. *Sci Aliments* 13:59–72
- Riou C, Pouget R (1992) Nouvelles propositions pour évaluer la vitesse de débourrement des bourgeons de la vigne et modélisation de la date de débourrement. *J Int Sci Vigne Vin* 26:63–74
- ✱ Schär C, Vidale PL, Lüthi D, Frei C, Häberli C, Liniger MA, Appenzeller C (2004) The role of increasing temperature variability in European summer heatwaves. *Nature* 427: 332–336
- ✱ Schultz HR (2000) Climate change and viticulture: a European perspective on climatology, carbon dioxide and UV-B effects. *Aust J Grape Wine Res* 6:2–12
- Simpson RF, Miller GC (1983) Aroma composition of aged Riesling wine. *Vitis* 22:51–63
- ✱ Walter B, Bass P, Legin R, Martin C, Vernoy R, Collas A, Vesselle G (1990) The use of a green-grafting technique for the detection of virus-like diseases of the grapevine. *J Phytopathol* 128:137–145
- ✱ Webb LB, Whetton PH, Barlow EWR (2007) Modelled impact of future climate change on the phenology of winegrapes in Australia. *Aust J Grape Wine Res* 13:165–175
- ✱ 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. *Proc Natl Acad Sci USA* 103:11217–11222
- Williams DW, Andris HL, Beede RH, Luvisi DA, Norton MVK, Williams LE (1985) Validation of a model for the growth and development of the Thompson Seedless grapevine. II. Phenology. *Am J Enol Vitic* 36:283–289
- ✱ Yin X, Kropff MJ, McLaren G, Visperas RM (1995) A nonlinear model for crop development as a function of temperature. *Agric For Meteorol* 77:1–16

Editorial responsibility: Nils Chr. Stenseth,
Oslo, Norway

Submitted: September 21, 2009; Accepted: February 3, 2010
Proofs received from author(s): April 13, 2010

3. Actualisation

Je vais dans cette partie discuter les résultats nouveaux publiés depuis la sortie de l'article précédent. Ils concernent la mise au point et le test de modèles de phénologie mais aussi des simulations de stades de développement dans le futur.

a) *Le débourrement*

Le débourrement est un stade qui mobilise beaucoup d'efforts de recherche car non seulement il conditionne les stades ultérieurs, la floraison puis la véraison, mais il détermine également le niveau de risques de gels printaniers. La difficulté méthodologique est que ce stade est conditionné par un évènement qui n'est pas directement observable, la levée de la dormance des bourgeons. La question est de savoir si avec le réchauffement climatique le débourrement sera plus précoce ou plus tardif. Si la vigne a peu de besoin en froid pour la levée de dormance, l'élévation des températures agira très tôt au cours de l'hiver, et les débournements seront précoces. Par contre, si les besoins en froid sont élevés, ils seront parfois difficilement satisfaits au cours de l'hiver et les débournements seront plus tardifs, et sans doute plus irréguliers. Le débourrement reste un stade plus difficile à prévoir que la floraison ou la véraison (Fila et al. 2014). L'introduction d'un modèle pour la levée de dormance n'amène pas systématiquement une amélioration de la prévision des dates. En utilisant un modèle de type UniChill (Chuine 2000), intégrant les besoins en froid et prévoyant donc une date de levée de dormance, Fila et al. (2014) ne trouvent pas d'amélioration significative de la prévision des dates de débourrement. Parker et al. (2011) ne mettent pas non plus en évidence l'intérêt d'un modèle de type UnciChill pour la prévision des dates de floraison par rapport à une approche de cumuls de températures à partir d'une date fixe. Caffarra et Eccel (2010) ou Molitor et al. (2014a) conservent eux une prévision de la date de levée de dormance dans leur modèle mais sans éléments factuels permettant de justifier leur choix. Le choix de travailler avec une date fixe dans mon approche n'est donc pas remis fondamentalement en question. Il est d'ailleurs plutôt confirmé. J'ai proposé un début des cumuls de températures au 15 février. Nendel (2010) propose pour le Riesling pour différents sites en Europe des dates allant du 14 février pour le poste de Lahr, à 70 km de Colmar, au 12 mars. Parker et al. (2011) ont retenu le 1^{er} mars pour un ensemble de variétés en Europe. Fila et al. (2014) proposent des dates entre le 17 février et le 26 février selon les modèles avec leur calibration vignoble. Il existe donc une convergence entre auteurs pour un début des cumuls autour de la mi-février, début mars. Il est par contre plus difficile de trouver un consensus sur les températures de base à retenir. J'avais directement déterminé, par régression linéaire, un seuil de -2 °C pour les températures moyennes sans pouvoir le justifier sur des bases biologiques. En utilisant des algorithmes d'optimisation globale des paramètres, Parker et al. (2011) optent pour un seuil de 0 °C (pour floraison et véraison), tandis que les seuils proposés par Nendel

(2010), Fila et al. (2014) ou Molitor et al. (2014b) sont proches de 5-6 °C. Notre jeu de données devrait être ré-analysé avec ce type d'approche mathématique pour comparer les résultats.

Un des résultats récents les plus intrigants a été obtenu par Fila et al. (2014). Des boutures ont été prélevées à intervalles réguliers au vignoble de manière à explorer une gamme importante de froid subi, puis leur débourrement a été suivi dans des chambres de culture. Les auteurs ont ensuite construit un jeu de données avec ces durées de débourrement observées en conditions contrôlées ainsi qu'avec des données obtenues au vignoble. Dans ce cas, la date optimale de début de cumul des températures chaudes n'est plus fin février mais plutôt mi-décembre. De même, dans leur modèle de type UniChill, la somme de « chilling units » requise pour la levée de dormance est beaucoup plus faible que celle obtenue seulement avec les données du vignoble. La vigne (ici le Chardonnay) n'aurait dans ce cas pas beaucoup de besoins en froid, et donc pourrait avoir un débourrement très précoce dans le futur, comme le simulent d'ailleurs ces auteurs. La question est de savoir si les jeux de données combinant des données obtenues au vignoble et des données obtenues en conditions contrôlées représentent la gamme de conditions effectivement observables au vignoble ou si un autre facteur que la température conditionne les dates de débourrement. La principale hypothèse qui reste à tester est celle d'un effet de la photopériode. Ce facteur agit en effet sur l'entrée en dormance des bourgeons (Garris et al. 2009), mais il n'y a à ma connaissance aucun résultat expérimental montrant un effet de la photopériode au moment du débourrement. Il n'empêche. La convergence, quels que soient les auteurs, des dates d'initiation des calculs autour du 1^{er} mars n'est peut être pas un hasard et pourrait avoir une signification biologique. Par ailleurs, Molitor et al. (2014a) ont introduit la photopériode (modèle DORMPHOT), d'une part pour la modélisation de l'entrée en dormance, d'autre part pour moduler l'effet des températures printanières. Les auteurs ne présentent hélas pas de paramètres mathématiques permettant de quantifier l'apport de l'introduction de la photopériode dans leur modèle. Les erreurs de prédiction présentées dans des données de validation, entre deux et quatre jours pour des sites très variés, sont cependant les plus faibles qui ait été publiées à ce jour. La question de la sensibilité du débourrement à la photopériode est cruciale dans l'appréciation de l'effet du changement climatique et mérite d'être explorée, soit empiriquement à travers le tests de modèles mathématiques, soit en imaginant des dispositifs expérimentaux spécifiques.

b) Floraison et véraison

Sans surprise, la floraison est un stade pour lequel les modèles sont très performants, bien qu'il puisse y avoir débat sur la température de base ou sur le type de courbe de réponse à la température à utiliser (Figure III.3). Les modèles sont en effet plus simples que ceux utilisés pour le débourrement, car ils ne font intervenir que des cumuls de températures chaudes. Molitor et al. (2014b) et Parker et al. (2011) ne voient pas d'avantage significatif à utiliser des courbes de réponses sigmoïdales (Figure III.3).

Dans les résultats de Fila et al. (2014) par contre, l'utilisation d'une courbe en cloche apporte systématiquement un gain par rapport aux degrés.jours classiques et Molitor et al. (2014b) retiennent finalement une courbe de réponse à la température à trois seuils (Figure III.3). En ce qui concerne la température de base pour la prévision de la floraison, le seuil de 7 °C que je propose est compatible avec les résultats de Molitor et al. (2014b) (5 °C) ou Fila et al. (2014) (7-8 °C).

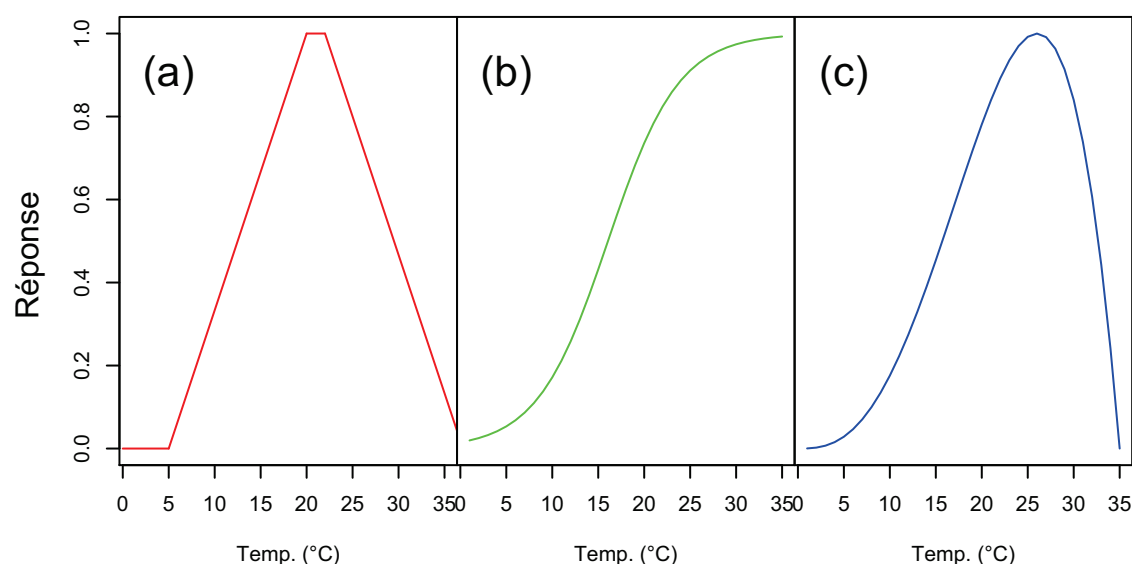


Figure III.3: Trois courbes de réponses à la température utilisées dans la littérature. **(a)** linéaire avec plateau puis décroissance (Molitor et al. 2014b), **(b)** sigmoïdale (Caffarra et Eccel 2010) **(c)** type bêta (Fila et al. 2014).

J'ai été un des premiers à publier un article montrant que les dates de véraison, plus précisément la durée floraison-véraison, étaient modélisables en fonction de sommes de températures. Depuis, cette approche a été validée à plusieurs reprises (Caffarra et Eccel 2010; Fila et al. 2014; Molitor et al. 2014b; Parker et al. 2011). Comme pour la floraison, il n'y a consensus ni sur les températures de base ni sur la forme des courbes de réponse à la température à utiliser. Comme dans mon cas, Fila et al. (2014) proposent une température de base plus faible pour la véraison que pour la floraison dans les modèles de cumuls linéaires des températures. Ils ne proposent pas non plus d'explications à ce constat.

Finalement, si je devais refaire le travail publié en 2010, il n'y aurait pas de changements fondamentaux sur les modèles de prévisions des stades que j'avais retenus. Les modèles simples de cumuls de températures à partir d'une date fixe donnent toujours de bons résultats (Fila et al. 2014; Parker et al. 2011). Il serait malgré tout intéressant de tester l'apport de l'introduction d'une courbe en cloche de réponse à la température. Un modèle apparemment plus performant de type DORMPHOT (Molitor et al. 2014a) nécessite onze paramètres, il est donc illusoire de vouloir le paramétrer sur de grandes populations car il faudrait pour cela les observer pendant plusieurs décennies.

L'absence d'un consensus dans la communauté internationale sur le ou les modèles à utiliser rend difficile la comparaison des données. Cela est particulièrement pénalisant lorsque l'on cherche à évaluer la variabilité génétique. Il est ainsi difficile de comparer mes résultats à ceux de Parker et al. (2013), qui ont publié des valeurs de sommes de températures pour atteindre la floraison et la véraison pour 95 variétés. On peut simplement constater que leur classement pour la véraison est, sauf pour deux variétés, cohérent avec celui que je propose pour 14 variétés. On soulignera également que Parker et al. (2013) relèvent que dans la comparaison de variétés, il n'y a pas de relation entre la somme de températures nécessaire pour arriver à la floraison et la somme de températures nécessaire pour arriver à la véraison. Cette observation conforte ma démarche de construction de géotypes virtuels.

c) Simuler les stades dans le futur et anticiper les conditions de maturation

Les exercices de projections de stades de développement de la vigne dans le futur publiés depuis 2010 ne sont pas nombreux. Molitor et al. (2014a) ont cherché à estimer les risques de gels dans le futur au Luxembourg pour la variété Muller-Thurgau en utilisant le modèle DORMPHOT. En utilisant six modèles de prévision du climat, mais seulement sur la base du scénario SRES A1B, ils concluent que les risques de gels vont diminuer dans le futur. Comme nous, ils anticipent une avancée des dates de débourrement de 11 jours pour la fin du XX^e siècle. Dans les projections de Fila et al. (2014), qui utilisent le scénario A2, plus pessimiste que le scénario A1B, l'avancée du débourrement pourrait atteindre plus de 40 jours à l'horizon 2090. Ce résultat a été obtenu avec une calibration des modèles incluant des données obtenues en chambres de culture, calibration qui conduit à débiter les cumuls de températures dès la fin de l'automne. En utilisant une calibration comprenant uniquement des données du vignoble, et une date de début de cumul fin février, l'avance prévue du débourrement à l'horizon 2090 est de l'ordre de 20 jours. Avec un modèle qui inclut un effet des températures basses sur la levée de dormance, les prévisions d'avancement du débourrement de Caffarra et Eccel (2011) avec le scénario A2 vont de 6 à 10 jours pour la même échéance: l'effet du changement climatique sur la phénologie de la vigne est d'autant plus sensible que l'on monte en altitude. La gamme de variations des prévisions va donc de 5 à 40 jours d'avance pour le débourrement d'ici la fin du XXI^e siècle, sur une zone géographique finalement restreinte, du Luxembourg à l'Italie du Nord, pour des variétés de la même gamme de précocité, le Muller-Thurgau et le Chardonnay. Notre chiffre de 11 jours d'avance correspond plus ou moins à la médiane de ces prévisions.

Pour la floraison et la véraison, les simulations de Caffarra et Eccel (2011) montrent que l'ampleur de l'avancement des stades dépend de l'altitude des lieux étudiés. Pour les sites de plaine (San Michele all'Adige, Avio), actuellement déjà propices à la culture de la vigne, il est prévu que les dates de floraison et de véraison avancent respectivement d'environ 14-16 et 22-25 jours d'ici 2090. Pour des sites de montagne tels que Sant'Orsola (1022 m d'altitude), l'avance serait de 24 jours pour la

floraison et 34 jours pour la véraison (scénario A2), ce qui fait dire aux auteurs que la vigne pourrait s'implanter dans de telles zones. Les simulations de Fila et al. (2014) pour le milieu du XXI^e siècle prévoient des décalages de 25 jours au moins pour la floraison et 30 jours au moins pour la véraison d'ici 2090 (scénario A2). Mes résultats, 23-24 jours d'avance pour la véraison vers 2090 avec les scénarios A1B ou A2 par rapport à la période 1976-2008, sont plus en accord avec ceux de Caffarra et Eccel (2011).

À ma connaissance, il n'y a pas eu depuis 2010 de publications sur l'effet du changement climatique sur les températures pendant la maturation prenant en compte des dates de véraison simulées. Des relations statistiques entre températures calendaires (juillet-août) et qualité des vins ont cependant été établies par Moriondo et al. (2011). Ces travaux suggèrent que les surfaces aptes à produire des vins de qualité dans la région du Chianti en Italie pourraient diminuer dans le futur si des adaptations ne sont pas mises en œuvre.

d) Conclusion

Les méthodes que j'ai utilisées dans mes travaux restent toujours d'actualité. Une des principales sources d'incertitudes des modèles de développement concerne le débourrement, dont les déterminants restent mal connus. La question de la levée de dormance, des besoins en froid, de l'effet de la photopériode reste mal étudiée car déterminer ce stade nécessite des expérimentations contraignantes. Il serait également impératif d'étudier la variabilité et le déterminisme génétique de la levée de dormance. Il y a en effet deux aspects importants autour ce stade: si les besoins en froid d'une variété sont faibles, les prévisions de Fila et al. (2014) de débourrement avancé de plus de 40 jours exposerait *a priori* cette variété à des risques de gel accrus. À l'inverse, avec des besoins en froid forts, les débourrements pourraient devenir tardifs et irréguliers. La recherche doit encore progresser sur ces points. Pour la floraison et la véraison, la marge de progrès des méthodes de prévisions est beaucoup plus faible, de l'ordre du détail méthodologique, avec éventuellement la prise en compte du rapport fruit/feuille par exemple (Parker et al. 2014).

Nous verrons dans le chapitre suivant que plusieurs équipes dans le monde ont travaillé sur la variabilité génétique des stades de développement, mais exprimés en dates calendaires. Étudier cette variabilité pour des paramètres de modèles écophysiologiques reste par contre un exercice rare sur la vigne, quel que soit le caractère étudié (Coupel-Ledru et al. 2014; Marguerit et al. 2012). Le travail présenté ici reste à ce jour un exemple unique d'utilisation de paramètres de modèles pour la construction de génotypes virtuels pour la vigne et de leur test dans des conditions climatiques du futur. Une de ses principales conclusions, à savoir que des variétés tardives ne permettraient pas de retrouver dans le futur des conditions telles que nous les connaissons aujourd'hui, a souvent interpellé car elle va à l'encontre de l'intuition. Elle conduit implicitement à privilégier des recherches sur la

capacité des variétés à produire des raisins et des vins de qualité lorsque les températures sont élevées pendant la maturation.

B. « Towards the adaptation of grapevine varieties to climate change: QTLs and candidate genes for developmental stages »

1. Résumé de l'article

a) *Caractérisation des phénotypes*

Le modèle de prévision des stades basé sur des sommes de températures a été utilisé pour caractériser la variabilité génétique dans la population RIxGW. Les sommes de températures maximales entre le 15 février et le débourrement (*Bud*, base 2 °C), entre débourrement et floraison (*Flo*, base 10 °C) et entre floraison et véraison (*Ver*, base 6 °C) ont été calculées pour les microparcelles de 120 génotypes sur trois blocs, pour quatre années de données. Les effets génotypiques pour chaque année, mais aussi pour l'ensemble des données, ont été extraits d'analyses de variance intégrant l'effet génotype, l'effet bloc et, le cas échéant, l'effet année considéré comme aléatoire. Les héritabilités des moyennes génotypiques issues de ce dispositif sont bonnes, supérieures à 0,85 quand on considère l'ensemble des observations. Je n'ai pas cherché à travailler avec les dates de réalisations des stades, ni avec les durées des phases en jour. L'objectif était dès le départ de caractériser des effets génétiques en sommes de températures pour pouvoir projeter le comportement de génotypes dans le climat du futur. Sachant d'une part que les durées en jours dépendent des températures, et d'autre part que les températures vont augmenter dans le futur, aucun exercice de projection n'aurait eu de sens avec des résultats exprimés en en dates calendaires ou en jours.

b) *Génotypage et cartes génétiques*

En parallèle à l'obtention de données phénotypiques, j'ai construit des cartes génétiques utilisant essentiellement des marqueurs microsatellites. Après le test de 277 marqueurs sur les parents, une carte consensus a été construite avec 153 marqueurs dans R/qtl. On peut estimer qu'elle couvre 92 % de la carte de référence de Doligez et al. (2006). La carte parentale Riesling comprend 129 marqueurs pour une longueur de 1135 cM, la carte parentale Gewurztraminer 119 marqueurs pour 993 cM. Ces cartes sont présentées en annexe 4.

c) *Recherche de QTLs*

La recherche de QTLs a été effectuée sur les trois cartes Riesling, Gewurztraminer et consensus, avec les données phénotypiques pour les trois variables *Bud*, *Flo* et *Ver* dans cinq jeux de données (un par année et un pour l'ensemble des quatre années). Des QTLs différents pour les trois variables ont été détectés. Les critères pour s'assurer de leur robustesse ont été les suivants:

- LOD supérieur à la valeur obtenue pour le génome entier avec 1000 permutations pour le seuil $p = 0,05$,

- détection pour au moins deux années et le jeu de données de l'ensemble des quatre années,
- validation par des analyses de variance aux marqueurs les plus proches.

Les QTLs pour le débourrement (*Bud*) sont situés sur les groupes de liaison (LG) 4 et 19. Ils expliquent au mieux 18,7 % de la variance totale observée (sur LG 19, Carte consensus, 2006). Sur LG 4, ce sont des allèles de RI qui contribuent à l'effet du QTL alors que sur LG 19 ce sont les allèles de GW. Selon les jeux de données, des QTLs sont également détectés sur LG 6, 7 et 14.

Le pourcentage de variance expliquée pour la durée débourrement-floraison (*Flo*) peut atteindre près de 39 % (LG 14, RI, jeu de 4 années de données). Les deux principaux QTLs sont situés sur LG 7, avec un effet des allèles de GW et sur LG 14, avec un effet des allèles de RI. Ils ont été détectés systématiquement sur au moins trois jeux de données annuelles et sur le jeu complet. Le QTL sur LG 14 a un effet mieux mis en évidence, avec LOD et un pourcentage de variance expliquée plus élevé que le QTL sur LG 7. Un des résultats importants est que les analyses de variance sur ce caractère mettent en évidence des interactions d'une part entre loci et d'autre part entre allèles. On peut ainsi montrer avec la carte génétique du Riesling que des effets alléliques d'un QTL sur LG 15 ne vont pas dans le même sens selon le génotype présent à la position 47cM du LG 14. De même, Les effets des formes alléliques provenant du Riesling à VMC8d11 (136 ou 142) ne sont visibles qu'en présence de l'allèle 136 du Gewurztraminer au même locus.

Pour la durée floraison-véraison (*Ver*), deux QTLs ont été mis en évidence sur LG 16 et LG 18 dans au moins trois jeux de données annuelles et dans le jeu complet. Le QTL sur LG 16 explique jusqu'à 21 % de la variance totale. Il est mieux mis en évidence sur la carte consensus que sur la carte parentale RI. Cela s'explique sans doute par la très forte interaction entre allèles des parents à ce locus. Sur un schéma déjà vu pour *Flo*, on peut voir que l'effet de l'allèle 219 à VVMD37 du Riesling est surtout net en présence de l'allèle 217 du Gewurztraminer au même locus.

L'existence de ces interactions, dont la réalité biologique n'est pas démontrée à ce jour, pourrait réduire l'efficacité de programmes de sélection en constituant une contrainte supplémentaire.

d) Identification de gènes candidats

Au cours du processus de détection des QTLs, des intervalles de confiance ont été calculés pour la position de ces QTLs dans les cartes génétiques. En partant de la position physique des marqueurs microsatellites dans le génome de référence PN40024 (version 12x), les intervalles de confiance génétiques ont été transformés en intervalles de confiance physiques. En parallèle, une étude bibliographique a permis d'établir une liste de gènes potentiellement impliqués dans les processus de débourrement, floraison et véraison. Cette liste a été confrontée à la liste des gènes identifiés dans les

intervalles de confiance physiques. La recherche de gènes candidats a également été effectuée en effectuant des BLASTs de gènes candidats issus d'autres espèces dans le génome de référence de la vigne.

Pour le débourrement, ce sont des gènes codant pour des glutathion S-transférases (GST) qui sont les meilleurs candidats, à la fois sur le chromosome 4 et sur le chromosome 19. Il est en effet montré que la levée de dormance est liée à des stress oxydatifs, et que l'expression de GSTs augmente à ce moment (Ophir et al. 2009).

Pour la floraison, le gène candidat le plus convaincant pour le QTL du LG 7 est *FT* (Flowering locus T). Le gène *VvFT* a été caractérisé chez la vigne et sa surexpression dans *Arabidopsis thaliana* induit des floraisons plus précoces (Carmona et al. 2007; Sreekantan et Thomas 2006). La position exacte de ce gène dans le génome de la vigne reste cependant à confirmer. Il est identifié dans la version 8x du génome de la lignée PN40024 (GSVIVT00012870001 sur www.genoscope.cns.fr), mais pas dans une région affectée à un chromosome donné (ChrUn_random). Il est introuvable dans la version 12x de ce génome! Il a été positionné sur le chromosome 7 dans le génome du Pinot noir ENTAV115 produit par une équipe Italienne (Velasco et al. 2007). Il se trouve qu'aujourd'hui (mars 2015), le site Internet hébergeant ces données n'est plus actif et une recherche sur NCBI de *fgenesh.VV78X193757.4_1* ne donne aucun résultat! Le cas de *SVP1* (*Short Vegetative Phase 1*) est assez similaire: ce gène n'a pas de position sur un chromosome dans les versions 8x ou 12x du génome de référence PN40024. Il était positionné sur le chromosome 7 à moins de 2Mb de *FT* dans le génome Pinot noir ENTAV 115. L'idée intéressante est que la protéine *SVP* agit comme un répresseur du gène *FT* (Lee et al. 2007). Si la structure physique qui avait été trouvée dans le génome Pinot noir ENTAV 115 s'avérait exacte, nous pourrions éventuellement être en présence d'un cluster de régulation de la floraison chez la vigne. Ce sont peut-être des variations alléliques dans les haplotypes de la région *SVP1-FT*, plutôt que dans les gènes pris individuellement, qui pourraient induire des variations de la durée débourrement-floraison.

Sur le chromosome 14, c'est un gène de type *CONSTANS* qui paraît le candidat le plus pertinent. La protéine CO codée par ce gène s'accumule en jours longs et active la transcription de *FT* (Amasino et Michaels 2010). De plus des variations dans des gènes de cette famille ont été reliées à des variations de dates de floraison chez *Medicago truncatula* (Pierre et al. 2010) et *Medicago sativa* (Herrmann et al. 2010).

Pour la véraison, ce sont des gènes liés à la réponse à l'acide abscissique (ABA) et à la perception des sucres et à leur transport qui sont les meilleurs candidats. Sur le chromosome 16, j'ai identifié par BLAST dans l'intervalle de confiance physique un gène d'une catégorie découverte récemment, les récepteurs d'ABA (Kline et al. 2010). Je l'ai nommé *VvPYL* par analogie avec le gène *PYL8* d'*Arabidopsis*. Ce gène est un candidat d'autant plus intéressant que Gambetta et al. (2010) ont montré

que la présence à la fois d'ABA et de sucres était nécessaire pour déclencher le processus de véraison. Sur le chromosome 18, c'est justement un mécanisme faisant appel à la perception des sucres qui est suggéré. En effet, le gène *VvMSA*, présent dans les intervalles de confiance fait partie de la famille des gènes *ASR* (« ABA stress and ripening-related »), et est impliqué dans la régulation de transporteurs de sucres (Cakir et al. 2003). Dans l'intervalle de confiance sur le chromosome 18 on trouve également des transporteurs de sucres (*VvSUT2-2* et *VvSUT2-3*) ainsi qu'un facteur de réponse à l'ABA (*VvABF7*). La présence de tels gènes, liés à la réponse à l'ABA et aux sucres, est cohérente avec le déclenchement de la véraison.

e) Conclusion

Les résultats de la recherche de QTLs pour les stades de développement ont mis en évidence des déterminismes génétiques différents pour les trois stades débourrement, floraison et véraison. Ce résultat justifie rétrospectivement le choix de travailler sur les durées entre ces stades plutôt que sur les dates de réalisation des stades eux-mêmes. En effet, à la lumière de mes résultats, il est plus que vraisemblable qu'en analysant par exemple directement les dates de véraison, on ait détecté des QTLs liés à des dates de floraison. La démarche que j'ai mise en œuvre a permis d'éviter des confusions d'effets: six QTLs indépendants, pour le débourrement, la durée débourrement-floraison et la durée floraison-véraison sont mis en évidence. Le choix de travailler avec des sommes de températures permet de justifier la construction de génotypes virtuels utilisés dans l'article précédent. L'analyse des intervalles de confiance des QTLs dans les génomes de référence de la vigne permet de proposer des gènes candidats pertinents. En particulier pour la véraison, l'identification de gènes liés à la réponse à l'ABA et au transport des sucres peut servir de base à des travaux de biologie fine du déclenchement de la véraison.

Towards the adaptation of grapevine varieties to climate change: QTLs and candidate genes for developmental stages

Eric Duchêne · Gisèle Butterlin · Vincent Dumas ·
Didier Merdinoglu

Received: 24 May 2011 / Accepted: 14 October 2011 / Published online: 4 November 2011
© Springer-Verlag 2011

Abstract The genetic determinism of developmental stages in grapevine was studied in the progeny of a cross between grapevine cultivars Riesling and Gewürztraminer by combining ecophysiological modelling, genetic analysis and data mining of the grapevine whole genome sequence. The dates of three phenological stages, budbreak, flowering and veraison, were recorded during four successive years for 120 genotypes in the vineyard. The phenotypic data analysed were the duration of three periods expressed in thermal time (degree-days): 15 February to budbreak (Bud), budbreak to flowering (Flo) and flowering to veraison (Ver). Parental and consensus genetic maps were built using 153 microsatellite markers on 188 individuals. Six independent quantitative trait loci (QTLs) were detected for the three phases. They were located on chromosomes 4 and 19 for Bud, chromosomes 7 and 14 for Flo and chromosomes 16 and 18 for Ver. Interactions were detected between loci and also between alleles at the same locus. Using the available grapevine whole-genome sequences, candidate genes underlying the QTLs were identified. *VvFT*, on chromosome 7, and a *CONSTANS*-like gene, on chromosome 14, were found to colocalise with the QTLs for flowering time. Genes related to the abscisic acid response and to sugar metabolism were detected within the

confidence intervals of QTLs for veraison time. Their possible roles in the developmental process are discussed. These results raise new hypotheses for a better understanding of the physiological processes governing grapevine phenology and provide a framework for breeding new varieties adapted to the future predicted climatic conditions.

Introduction

Adapting grapevine (*Vitis vinifera* L.) varieties to future climatic conditions is a major challenge for the forthcoming years. Most of the grapevines in the world are cultivated for wine production, and it is generally accepted that elevated temperatures can impair the quality of grapes and wines (Jones et al. 2005). Grape quality parameters, such as sugar content, acidity, colour and aroma content, are determined during the ripening phase. The grapevine developmental cycle can be described by three main phenological stages: (i) budbreak, which is the onset of vegetative growth; (ii) flowering, leading post-fertilisation to the formation of berries; and (iii) veraison, which is the onset of the ripening process. At veraison, berries undergo major changes, e.g., cell wall degradation, skin coloration, sugar accumulation and malic acid degradation. The dates of veraison partly depend on the budbreak and flowering dates, and they are key factors for determining the climatic conditions during the ripening process. An acceleration in the time required to reach key phenological stages during the last few decades has been reported for several grape-growing areas (Duchêne and Schneider 2005; Ramos et al. 2008; Soar et al. 2008). This trend is expected to continue with the projected increase of temperatures, and the ripening period is likely to occur under warmer conditions,

Communicated by C. Gebhardt.

Electronic supplementary material The online version of this article (doi:10.1007/s00122-011-1734-1) contains supplementary material, which is available to authorized users.

E. Duchêne (✉) · G. Butterlin · V. Dumas · D. Merdinoglu
UMR 1131 Santé de la Vigne et Qualité du Vin, INRA,
Université de Strasbourg, 28, rue de Herrlisheim, BP 20507,
68021 Colmar, France
e-mail: duchene@colmar.inra.fr

not only because of an earlier onset of ripening in the summer but also because of higher temperatures on the same calendar date (Duchêne et al. 2010). A possible adaptation for the current grape-growing areas is to grow varieties with a later ripening period than those currently used. Such varieties can be obtained from germplasm collections or through breeding processes. Current breeding programmes based on marker-assisted selection (MAS) (Di Gaspero and Cattonaro 2010) are increasingly efficient, as studies have identified quantitative trait loci (QTLs) for numerous traits (review in Martinez-Zapater et al. (2010)), including the resistance to fungal diseases (Bellin et al. 2009; Blasi et al. 2011; Marguerit et al. 2009), the aroma content of the berries (Battilana et al. 2009; Duchêne et al. 2009) and the timing of developmental stages (Costantini et al. 2008). The availability of grapevine whole-genome sequences (Jaillon et al. 2007; Velasco et al. 2007) also offers new opportunities to identify candidate genes and to better understand the molecular and physiological basis of traits of interest.

In this paper, we present a genetic analysis of the variability in the time required for grapevines to reach specific developmental stages using progeny from a cross between Riesling (RI) and Gewürztraminer (GW) varieties. We describe the genetic variability of the observed dates of the developmental cycle using an ecophysiological model based on the calculation of heat sums expressed in growing degree-days between (i) 15 February and budbreak, (ii) budbreak and flowering and (iii) flowering and veraison (Duchêne et al. 2010). Using a genetic map built with microsatellite markers, we show in this work that independent QTLs can be identified for these three phases. Based on the grapevine whole-genome sequences, we propose here candidate genes underlying these QTLs, and we suggest some metabolic pathways likely to play a role in the grapevine budbreak, flowering and veraison processes.

Materials and methods

Populations and experimental conditions

To study the genetic determinism of yield components, berry composition (sugar, acids, aromas) and developmental stages, we created and evaluated progeny from a cross between *V. vinifera* cv. Riesling (RI) clone 49 (female) and *V. vinifera* cv. Gewürztraminer (GW) clone 643 (male). These two varieties were chosen because they differ for the above traits; we then expected to observe segregations. Among 527 seedlings from the RI × GW cross, 188 were randomly chosen for the construction of a genetic map. Among this first subset, 120 genotypes were

randomly chosen and grafted in 2002 onto the Couderc 161-49 rootstock. Ten plants per genotype were planted according to a randomised 5-block design in an experimental vineyard at Bergheim (48°21'N, 7°34'E) in 2003. The vines were trained according to the double Guyot system.

Phenotyping

The budbreak, flowering and veraison dates were calculated, after successive scorings, as the dates when 50% of buds, flowers and berries, respectively, reached the required stage. Budbreak stage corresponded to Stage C “green tip”, as described by Baggioini (1952). Evaluation for veraison was based on berry softening. Developmental stages were recorded for 3 blocks and 4 years (2006–2009), i.e., on three 2-plant plots per genotype and per year. Stages were not evaluated for two of the available five blocks because we hypothesised that observing four more plants per genotype would not significantly improve the evaluation of the traits. Heat sums were calculated in degree-days (dd) as proposed by Duchêne et al. (2010), with daily maximum temperatures and base temperatures of 2, 10 and 6°C for the “15 February to budbreak” (Bud), “budbreak to flowering” (Flo) and “flowering to veraison” (Ver) phases, respectively. A meteorological station next to the experimental plot provided temperature data.

Genotypic effects used for QTL detection were determined using analysis of variance with mixed models where the year, genotype × year interaction, and individual plot were considered random effects. Calculations were performed with the R software, version 2.10.0 (© R Foundation for Statistical Computing, 2009) with the lme4 package. Five datasets were used for QTL detection: one for each year (2006–2009) and one with the estimates of genotypic effects when the “year” effect was included as a random factor in the model of analysis of variance. The estimated values for this 4-year dataset are close to the mean of the four values from each year. Heritabilities of the interannual genotypic means were calculated as:

$$H = \frac{\sigma_G^2}{\sigma_G^2 + \frac{\sigma_{GY}^2}{4} + \frac{\sigma_E^2}{12}}$$

where σ_G^2 is the genotypic variance, σ_{GY}^2 is the genotype × year interaction variance and σ_E^2 is the residual variance.

Simple sequence repeat (SSR) analysis

Genomic DNA extractions and methods for SSR analysis were performed as described by Merdinoglu et al. (2005). The sequences of the SSR primers used in this study can be

found in the NCBI UniSTS database (www.ncbi.nlm.nih.gov) except for VVC5 (Decroocq et al. 2003) and VVIm33 (Merdinoglu et al. 2005).

Electrophoregrams were analysed using GenescanTM 3.1 (Applied Biosystems, Foster City, USA). Alleles were identified using GenotyperTM 2.5.2 (Applied Biosystems, Foster City, USA), and their sizes were determined using the HD400-ROX internal size standard.

Construction of the genetic map

Genetic distances were calculated in Kosambi cM with the “R/qtl” package available for the R software (Broman et al. 2003). Parental maps were built considering only parental segregations, as in two backcrosses, and a consensus map was built on the basis of an $ab \times cd$ coding.

Marker orders were verified using the ‘ripple’ command, and the order with the minimal number of crossing-overs was chosen. When several marker orders were likely within a LOD 2 range, the order on the physical map (PN40024 line whole genome sequence, 12x release at <http://www.genoscope.cns.fr/externe/GenomeBrowser/Vitis>) was used as a reference.

QTL detection

QTL detection was performed on both parental and consensus maps with the R/qtl software (Broman et al. 2003) using the multiple imputation method (“draws” = 128) and the one-dimension scan command *scanone*. The two-dimension scan (*scantwo*) was used to search for interacting QTLs. LOD significances were ensured with permutation tests (1,000 permutations). QTL models were constructed step-by-step after the refinement of the QTL position (*refineqtl*), the search for supplementary QTLs (*addqtl*) and the search for interactions between QTLs (*addint*). The automatic detection procedure (*stepwiseqtl*, with a maximum of 5 QTLs) was also used after the calculation of LOD penalties. The LOD score and the percentage of variance explained by a QTL in a QTL model was assessed with analysis of variance using type III sums of squares (*fitqtl*). Confidence intervals were calculated as Bayesian credible intervals (*bayese-sint*) with a probability of coverage of 0.95.

Analysis of variance (*lmer*) considering only data at marker positions but including all the phenotypic data (4 years, 3 blocks) was also used to confirm the results. The model of analysis of variance used for analysing the allelic effects at a locus L was as follows: $T_{ijk} = Y_i + B_j + LR_k + LG_k + G_k + P_{jk} + \varepsilon_{ijk}$, where T_{ijk} is the value of a given trait for the year i , block j and genotype k , LR_k is the effect of the alleles from RI at locus L (depending on the genotype of the individual k at this

locus), LG_k is the effect of the alleles from GW at locus L (depending on the genotype of the individual k at this locus), G_k is the genotype background effect, P_{jk} is a single plot effect and ε_{ijk} is the residual error. Year, genotype background and plot were considered random effects. Interactions between markers were tested by introducing a term for the interactions in the model.

Significance of an effect in a model was assessed using a likelihood ratio, and associated P values based on a χ^2 distribution were confirmed with 1,000 simulations comparing models both with and without the tested fixed effect. In this paper, we use the system for QTL names proposed in the R/qtl software: chromosome@position (e.g., 14@59 for a QTL positioned at 59 cM on the genetic map of chromosome 14).

Determination of candidate genes for developmental stages

The Genoscope 12x whole genome sequence (WGS) release of the PN40024 line (<http://www.genoscope.cns.fr/externe/GenomeBrowser/Vitis/>; Jaillon et al. (2007)) was explored to search for candidate genes. When their accurate positions in the PN40024 genome release were unknown, the Pinot noir ENTAV 115 WGS (<http://genomics.research.iasma.it/gb2/gbrowse/grape/>; Velasco et al. (2007)) was used. The physical positions of our confidence intervals were assessed according to the physical positions of the microsatellite markers in the genome and to their position in our consensus map. In parallel, we searched for genes mentioned in the literature for their possible role in the genetic determinism of budbreak, flowering or onset of ripening, not only in grapevine but also in other perennial and annual species. Finally, we checked which of these genes were located within our confidence intervals.

Results

Segregations and heritabilities

Bud, Flo and Ver segregated in the progeny each year. The distributions were not skewed (Fig. 1) and no transformations were applied to the variables. Heritabilities of the genotypic means in the complete dataset were high, between 85 and 92% (Table 1). Values for Flo were similar for the two parents and close to the mean value observed in the progeny. Transgressions were observed, and the range of variations, approximately 70 dd, represents approximately 12% of the mean value. The parents differed more for the values of Bud and Ver. Particularly for Ver, RI was one of the latest genotypes. The variation among genotypes

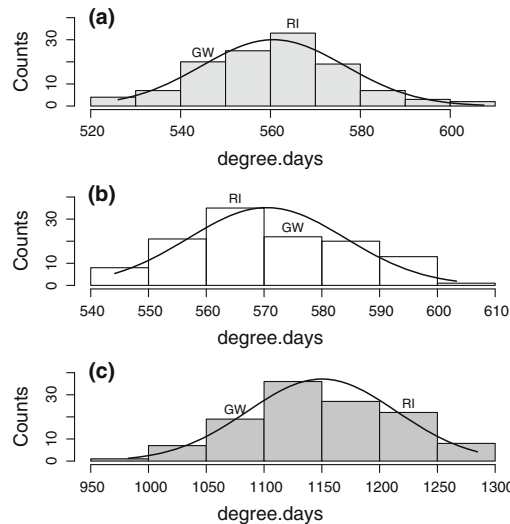


Fig. 1 Histogram of segregations of the genotypic effects (heat sums in degree-days over 4 years of data) in the RIxGW progeny. Lines represent the corresponding normal curves (mean and standard deviation of the progeny). **a** From 15 February to budbreak (Bud); **b** from budbreak to flowering (Flo); **c** from flowering to veraison (Ver). The class of the parents are indicated (RI Riesling, GW Gewurztraminer)

was approximately 350 dd, i.e., approximately 30% of the mean value.

Genetic map

A total of 277 SSR markers were tested on the Riesling and Gewurztraminer parents; 163 of them were selected based on their heterozygosity in at least one of the parents and for providing a good coverage of the grapevine genome whilst avoiding redundancy.

Ultimately, 153 markers were included in the consensus map, which covers 1,131.1 cM over the 19 expected linkage groups (LG). Only two markers, VMC9c1 (LG 14) and VVC5 (LG 16), showed a distortion of segregation that was significant at $P = 0.05$. The average distances between markers were approximately 25% shorter than those in the

grapevine framework map by Doligez et al. (2006). This might be partly due to the use of different software for the map calculations (R/qtl vs. CarthaGene), but heterogeneity between recombination rates was also observed between the five populations used for the framework map (Doligez et al. 2006). Differences with our mapping population are then not surprising.

With a recombination rate similar to the framework map, we can estimate that our consensus map would cover 1,508 cM, i.e., 92% of the total length of the framework map (1,646.8 cM). In the Riesling parental map, 129 markers cover 1,135 cM, while in the Gewurztraminer parental map, 119 markers cover 992.7 cM. Complete maps are presented as Online resource 1.

QTL detection

QTLs detected at $P = 0.05$ genome-wide with interval mapping methods were included in QTL models and are presented in Table 2 and Fig. 2. Percentages of variance explained in Table 2 take into account the presence of the other QTLs, i.e., values are additive. The results were confirmed by analysis of variance using data from the complete dataset, with a model built using the closest marker to the QTL peak for the 4-year dataset (Table 3).

Two main QTLs were found for Bud on LG 4 and 19, explaining 11.9 and 12%, respectively, of the phenotypic variance observed in the 4-year dataset with the consensus map. Allelic variations of RI were responsible for the QTL on LG 4, whereas the QTL on LG 19 was due to the effects of allelic variations in GW. There was no evidence of significant interactions between loci (Table 2) or between alleles at a given locus (Table 3). In some of the datasets, QTLs on LG 6, 7, 10 and 14 were also identified (Table 2).

Two strong QTLs were identified for Flo on LG 7 and 14 and they explained 16.2 and 27.4%, respectively, of the phenotypic variance observed in the 4-year dataset with the consensus map. They were detected in at least three growing seasons. The QTL on LG 14 explained up to 38.6% of the phenotypic variance observed in the 4-year dataset with the RI map. Additional QTLs on LG 2, 6, 15 and 16 were occasionally detected (Table 2). A significant interaction between loci on LG 14 and LG 15 was detected

Table 1 Variance components and heritabilities of the interannual genotypic means for the heat sums calculated for the three periods

Period	Variable	Genotype	Year	Genotype $\times$ year	Plot	Residual	Heritability of the means
15 February to budbreak	Bud	219.9	2,746.9	72.2	28.3	258.2	0.85
Budbreak to flowering	Flo	161.2	496.7	29.3	9.2 ^a	153.6	0.89
Flowering to veraison	Ver	3,773.6	332.7	924.4	389.1	1,083.7	0.92

All the random effects of this table were significant at $P = 0.001$ with a likelihood ratio test

^a Significant only at $P = 0.05$

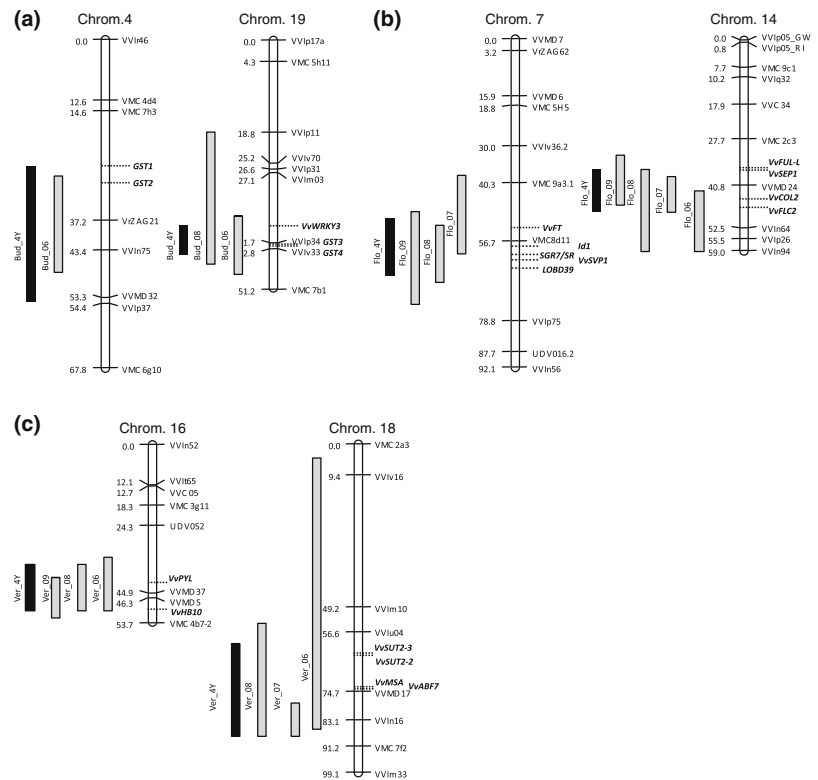
Table 2 Characteristics of the main QTLs detected in at least two different growing seasons and in the 4-year dataset

Period/variable	Linkage group	Map	Dataset	LOD Max	Associated marker	Confidence interval and LOD peak (cM)	% Var.	Other significant QTLs in the model
15 February–budbreak/Bud	4	RI	2006	2.8	VVIp37	26.0–56.2–56.2	9.9	14@59 ^a
			2008	2.7	VrZAG21	12.0–30.0–50.0	10.1	
		Consensus	2006	4.8	VrZAG21	28.0–37.2–48.0	12.7	14@56, 19@42
			4-year	4.1	VrZAG21	26.0–38.0–54.0	11.9	7@72, 19@38
	19	GW	2006	3.7	VVIv33	36.0–44.0–48.0	14.1	
			4-year	2.8	VVIv33	26.0–42.0–48.0	8.3	6@44.7, 10@2
		Consensus	2006	6.7	VVIp34	36.0–42.0–48.0	18.7	4@37.2, 14@56
			2008	4.0	VVIp34	18.8–41.7–46.0	18.5	7@87.7
			4-year	5.5	VVIp34	30.0–38.0–44.0	12.0	4@38, 7@72
Budbreak–flowering/Flo	7	GW	2007	3.8	VMC8d11	44.0–50.0–68.0	12.2	6@20.7
			2008	5.8	VMC8d11	46.0–50.0–74.0	20.3	
			2009	3.8	VMC8d11	44.0–50.0–78.0	13.5	
			4-year	4.4	VMC8d11	46.0–50.0–72.0	15.8	
		Consensus	2007	6.9	VMC8d11	38.0–52.0–60.0	13.1	2@12, 6@8, 14@44
			2008	9.4	VMC8d11	52.0–56.7–68.0	22.6	14@38
			2009	5.2	VMC8d11	48.0–58.0–74.0	13.4	14@38
			4-year	8.0	VMC8d11	50.0–58.0–66.0	16.2	2@8, 14@38
	14	RI	2006	8.2	VVin64	45.0–49.0–59.0	28.6	
			2007	7.9	VVMD24	39.0–45.0–51.0	24.7	15@36
			2008	7.7	VVMD24	37.0–47.0–53.0	23.6	16@44
			2009	7.5	VVMD24	36.0–46.0–51.0	25.1	
			4-year	14.2	VVMD24	45.0–47.0–49.0	38.6	15@17.4, 16@46, 14@47 × 15@17.4 ^b
		Consensus	2006	12.3	VVin64	42.0–48.0–59.0	28.0	
			2007	9.7	VVMD24	38.0–44.0–48.0	19.6	2@12, 6@8, 7@52
			2008	9.3	VVMD24	36.0–38.0–59.0	22.4	7@56.7
			2009	8.4	VVMD24	32.0–38.0–46.0	23.2	7@58
			4-year	12.3	VVMD24	36.0–38.0–48.0	27.4	2@8, 7@58
Flowering–veraison/Ver	16	RI	2008	3.3	VVMD37	30.0–44.0–45.0	8.9	14@21, 18@80
			4-year	3.2	VVMD37	30.0–44.0–47.3	9	14@21, 18@80
		Consensus	2006	5.6	VVMD37	34.0–40.0–50.0	16.4	18@82
			2008	5.3	VVMD37	36.0–42.0–50.0	14.8	18@82
			2009	6.5	VVMD5	40.0–48.0–52.0	20.6	14@34
			4-year	4.8	VVMD37	36.0–42.0–50.0	13.7	18@83.1
	18	RI	2006	4.9	VVIu04	20.0–49.2–55.0	16.5	7@65
			2007	5.2	VVin16	75.0–81.4–85.0	18.2	
			2008	3.6	VVin16	45.0–80.0–85.0	9.7	14@21, 16@44
			2009	3.7	VVin16	55.0–81.4–90.0	13.4	
		Consensus	4-year	3.2	VVin16	45.2–80.0–85.0	8.7	14@21, 16@44
			2006	4.6	VVin16	4.0–82.0–86.3	13.2	16@40
			2007	5.6	VVin16	78.0–83.1–88.0	19.6	
			2008	5.9	VVin16	54.0–82.0–88.0	16.6	16@42
			4-year	5.6	VVin16	60.0–83.1–88.0	16	16@42

^a Chromosome @ position on the genetic map^b Interaction between loci

Fig. 2 Confidence intervals (Bayesian credible intervals, probability of coverage: 0.95) reported on the consensus map for different datasets (4Y = 4-year dataset in black, otherwise by year in grey). Candidate genes are positioned with dashed lines. Please refer to Table 5 for annotations.

a QTLs for the length of the 15 February to budbreak period (*Bud*). **b** QTLs for the length of the budbreak to flowering period (*Flo*) **c** QTLs for the length of the flowering to veraison period (*Ver*)



in the 4-year dataset with the RI map (Table 2); the QTL at 14@47 had a strong effect, but the presence of allele 399 at VVlp37 had a negative effect on *Flo* when the genotype at 14@47 was A, whereas this effect was positive when the genotype at 14@47 was B (Fig. 3a). Moreover, alleles from RI and GW at the VMC8d11 locus on LG 7 also interacted with each other (Table 3; Fig. 3b); the effect of allele 136 from RI (+6.6 dd) was not significant when allele 136 from GW was present (interaction effect = -6.9 dd), whereas effects from RI alleles were significant in the context of the GW 132 allele.

Two QTLs for *Ver* were identified in the RI and in the consensus map on LG 16 and LG 18, where they explained 13.7 and 16%, respectively, of the phenotypic variance observed in the 4-year dataset with the consensus map (Table 2). An analysis of variance also detected significant effects for alleles from GW, although lower than for RI, as well as interactions between alleles from the two parents (Table 3). This interaction was very clear at VVMD37, where the greatest effect was observed when alleles 219 from RI and 217 from GW were combined (Fig. 4). Thus, effects from GW alleles were only significant when allele 219 from RI was present.

Candidate genes for developmental stages

The search for candidate genes was performed within the confidence intervals calculated in the consensus map for the 4-year dataset QTLs. The number of genes predicted in these confidence intervals varied from 93 (*Flo*, chromosome 7) to 292 (*Ver*, chromosome 18) (Table 4).

For budbreak, we focused on candidate genes proposed for other species or present in transcriptomics data on chilling requirements (Mathiason et al. 2009) or dormancy release (Ophir et al. 2009). Genes coding for glutathione *S*-transferase as well as a WRKY transcription factor were found in the confidence intervals: 2 on chromosome 4 and 3 on chromosome 19 (Table 5; Fig. 2a).

Nine genes linked to the flowering process were identified (Table 5; Fig. 2b). *VvFT*, on chromosome 7, belonged to the confidence intervals for all years. *VvCOL2*, on chromosome 14, was also within all of the confidence intervals.

The positions of grapevine genes participating in ethylene (Chervin and Deluc 2010; Chervin et al. 2008), auxin (Bottcher et al. 2010) or abscisic acid (Gambetta et al. 2010) signalling pathways were determined in the

Table 3 Analysis of variance with the closest markers to the detected QTLs

Period/variable	QTL ^a	Marker	Effect tested	Likelihood ratio test	df ^b	P value	Effect ^c
15 February–budbreak/Bud	4@38	VrZAG21	Alleles RI	16.8	2	<0.001	+11.3
			Alleles GW	1.2	2	ns	ns
			Interaction	1.0	1	ns	ns
	19@38	VVIp34	Alleles RI	1.7	2	ns	ns
			Alleles GW	16.9	2	<0.001	−10.9
			Interaction	1.7	1	ns	ns
Budbreak–flowering/Flo	7@8	VMC8d11	Alleles RI	6.1	2	0.04	6.6
			Alleles GW	29.6	2	<0.001	13.4
			Interaction	3.7	1	0.06 ^d	−6.9
	14@47	VVMd24	Alleles RI	46.2	2	<0.001	13.9
			Alleles GW	1.2	2	ns	ns
			Interaction	0.3	1	ns	ns
Flowering–veraison/Ver	16@42	VVMd37	Alleles RI	13.6	2	<0.001	−9.7
			Alleles GW	8.4	2	0.02	−3.1
			Interaction	4.0	1	0.06 ^d	−42.6
	18@83.1	VVIn16	Alleles RI	20.8	2	<0.001	47.1
			Alleles GW	3.5	2	ns	ns
			Interaction	2.0	1	ns	ns

^a Chromosome @ position on the consensus map (4-year dataset)^b Degrees of freedom^c Difference between the estimates of the marker effects (allele B vs. allele A) expressed in degree-days. For an interaction, effect of the simultaneous presence of allele B from both parents^d $P < 0.001$ when the marker effect was tested as 4 independent levels of allelic combinations (AA, AB, BA and BB)

PN40024 line WGS. The effect of ABA on the onset of veraison has recently received increasing interest (Gambetta et al. 2010; Koyama et al. 2010; Owen et al. 2009; Wheeler et al. 2009), and the more relevant candidate genes detected in our confidence intervals are related to ABA and sugar signalling pathways (Table 5; Fig. 2c). A gene belonging to the recently discovered PYR/PYL family of ABA receptors colocalised with the QTL on chromosome 16, and an ABA stress and ripening-related (ASR) gene (*VvMSA*) colocalised with the QTL on chromosome 18.

Discussion

Our approach combined an ecophysiological model (Duchêne et al. 2010) and genetic tools. We chose to focus on the length of three important developmental periods, expressed in degree-days: Bud, Flo and Ver. This allowed us to detect independent QTLs for budbreak (LG 4 and 19), budbreak to flowering (LG 7 and 14) and flowering to veraison (LG 16 and 18). In our study, the “Year” and the “Genotype × Year” effects were significant, which means that our model has room for improvement. Ecophysiological models have been successful for analysing the genetic

determinism of complex traits, such as fruit quality (Quilot et al. 2005) or tolerance to water stress (Reymond et al. 2003; Uptmoor et al. 2009). Detection of QTLs for phenology using models has also been reported for rice (Nakagawa et al. 2005) and barley (Yin et al. 2005).

Models allow a better dissection of a trait, and QTLs independent from environmental conditions are of particular interest for testing ideotypes. Quantitative allelic effects independent from environmental conditions can be used to predict the behaviour of genotypes for other geographical conditions and also for future climatic scenarios (Duchêne et al. 2010). Applied to the grapevine, this approach provides support to help determine which loci should be considered a priority in the breeding process.

To our knowledge, this is the first report of QTLs identified for budbreak in the grapevine. Two QTLs were detected, on LG 4 and 19, in 2006 and 2008. Together, they could explain up to 31.4% of the phenotypic variance in 2006. QTLs for budbreak can be associated with two physiological processes. Indeed, budbreak dates depend (i) on the date of dormancy release and (ii) on the positive response to temperatures after this date (see Garcia de Cortazar Atauri et al. (2009) for a review). Garcia de Cortazar Atauri et al. (2009) propose different values, in “chilling units”, that are necessary for dormancy release

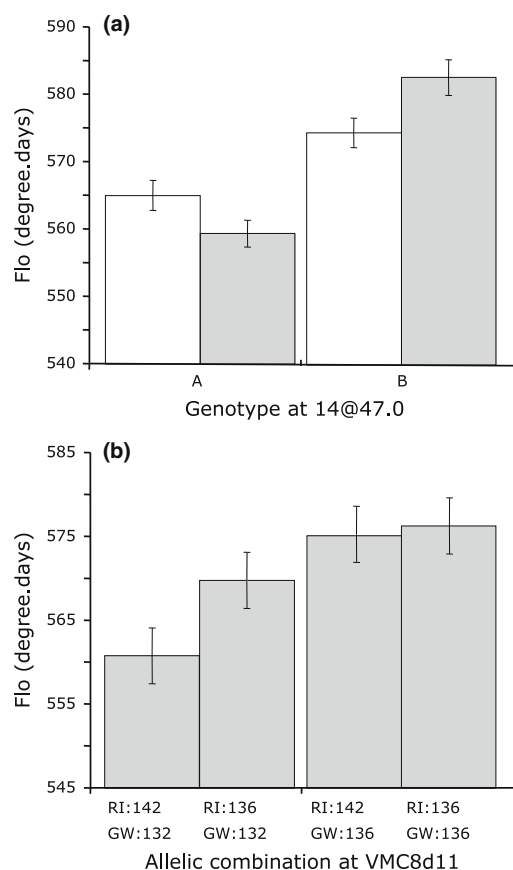


Fig. 3 Interactions on the length of the budbreak-flowering period (*Flo*, 4-year dataset). Bars represent standard errors. **a** between two loci (Riesling map). White, grey alleles 403 and 399 at VV1p33 (LG 15), respectively. Genotype at 14@47 in absence of recombination: A alleles 82 at VVIn64 and 217 at VVMD24, B alleles 70 at VVIn64 and 209 at VVMD24; **b** between alleles at VMC8d11 (LG 7)

for different grapevine varieties. As the date of dormancy release is difficult to assess for a population containing 120 different genotypes, we have to assume that the chilling requirements were fulfilled at the time we started heat summations (15 February). This hypothesis is reasonable, as the latest date of chilling requirements predicted with the model of García de Cortazar Atauri et al. (2009) for Riesling over the 4 years of our study was 17 December. However, in the present study, we cannot distinguish whether the heat sums calculated between 15 February and budbreak reflect differences in the dates of dormancy release or differences in the growth rates starting at the same date of dormancy release for all 120 genotypes.

A search for candidate genes involved in budbreak put forward genes coding for glutathione *S*-transferase

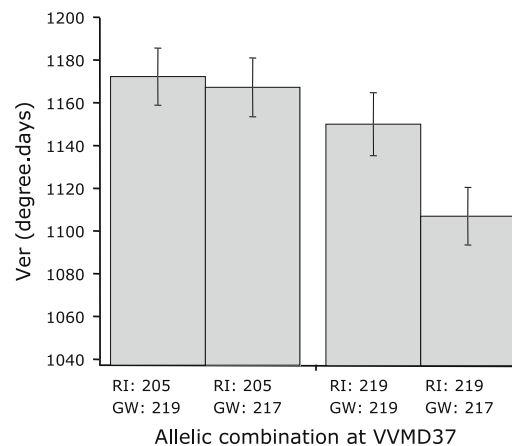


Fig. 4 Interactions between alleles at VVMD37 on the length of the flowering-veraison period (*Ver*, 4-year dataset). Bars represent standard errors

(Table 5; Fig. 2a). An increase in the expression levels of such genes has been shown after hydrogen cyanamide (HCN) application, heat shock of the buds to release dormancy (Keilin et al. 2007; Ophir et al. 2009) and also after natural chilling requirements (Pacey-Miller et al. 2003). The activities of glutathione *S*-transferase are consistent with the oxidative stress associated with the dormancy release process (Ophir et al. 2009). An induction of these genes in relation with budbreak has also been observed in other species (Mazzitelli et al. 2007; Walton et al. 2009). Ophir et al. (2009) propose a cascade of events leading to dormancy release where the ethylene and ABA (abscisic acid) metabolism processes play a central role. A WRKY transcription factor, VvWRKY3 (Gambetta et al. 2010), was found within the confidence interval on chromosome 19 (Fig. 4). Interestingly, this transcription factor is similar to AtWRKY2 (At5g56270) (Gambetta et al. 2010), which has been shown to mediate ABA effects on seed germination in *Arabidopsis thaliana* (Jiang and Yu 2009).

Two QTLs associated with *Flo* were found on chromosomes 7 and 14 (Table 2; Fig. 2b). They are different from those detected by Costantini et al. (2008) for flowering time, which were on chromosomes 1, 2 and 6 in Italia × Big Perlon progeny. There are several meaningful candidate genes within the confidence intervals of the QTLs (Table 5; Fig. 2b).

On chromosome 7, *VvFT*, for Flowering locus T, is one of the more relevant candidate genes. Indeed, this gene has a central role in the flowering process in *A. thaliana*, where its protein acts as a long-range signal to promote flowering (Huang et al. 2005). Over-expression of *VvFT* also hastened flowering in *Arabidopsis* (Carmona et al. 2007; Sreekantan and Thomas 2006).

Table 4 Confidence intervals (CI) explored for candidate genes identification in the Genoscope 12x release of the PN40024 line genome sequence

Trait ^a	QTL on	Left marker	Right marker	Left limit of the CI (bp)	Right limit of the CI (bp)	Length of the CI (bp)	Number of genes in the CI
Bud	LG4	VrZAG21	VVIn75	11,525,084	16,833,861	5,308,777	145
	LG19	VVIp34	VVIV33	10,554,320	14,882,349	4,328,029	90
Flo	LG7	VMC9a3.1	VVIp75	14,614,644	15,701,093	1,086,449	93
	LG14	VVMD24	VVIn64	23,287,124	25,698,974	2,411,849	181
Ver	LG16	UDV052	VVMD5	18,431,382	21,631,537	3,200,156	218
	LG18	VVlu04	VVIn16	14,816,454	25,208,444	10,391,991	292

^a For the 4-year dataset

VvSVPI, also located on chromosome 7, is encoding for a MIKC^C-Type MADS-box protein (Diaz-Riquelme et al. 2009). A homolog of VvSVPI, *JOINTLESS*, has been associated with a QTL of flowering in tomato (Jimenez-Gomez et al. 2007). The expression level of VvSVPI increases as the differentiation of the inflorescences progress in latent buds in the season preceding flowering (Diaz-Riquelme et al. 2009). In *Arabidopsis*, SVP protein acts as a repressor of *FT* via direct binding to the *FT* sequence (Lee et al. 2007b), and it mediates the effect of ambient temperature. The repressor effect of SVP on *FT* has also been demonstrated in Chinese cabbage (Lee et al. 2007a). VvFT and VvSVPI cooperate to regulate flowering in *Arabidopsis* and they are only 2 Mbp apart in the Pinot noir ENTAV 115 WGS. As SVP protein regulates *FT* gene expression, our case may indicate a QTL represented by multiple genes instead of the individual effects of VvFT or VvSVPI alone.

Finally, *SGR7/SHR*, *LOBD39* and *Id1* are genes on chromosome 7 with an expression profile that varies in response to the photoperiod (Sreekantan et al. 2010). They are related to the flowering transition or to meristem formation and patterning, but their role in the flowering process is less clear than the roles of VvFT or VvSVPI.

On chromosome 14, four candidate genes were identified in the confidence interval for Flo: VvFUL-L, VvSEPI, VvFLC2 and VvCOL2. VvFUL-L is a MADS-box transcription factor belonging to the same family as VvFUL and VvAPI (Diaz-Riquelme et al. 2009). VvFUL-L could play a role both in flowering induction and in tendril development (Calonje et al. 2004; Diaz-Riquelme et al. 2009). VvSEPI expression is clearly associated with flower development (Diaz-Riquelme et al. 2009). SEP class genes (SEPALLATA) belong to the E class of the ABCDE model of flower development, where they participate in the specification of floral organs (Melzer et al. 2010). A possible role for VvSEPI could be to impact the speed of flower development. Both VvFUL-L and VvSEPI did not belong to confidence intervals during all 4 years of the study, and their implication in determining the

flowering time has less support than for VvFLC2 and VvCOL2.

The *FLC* (FLOWERING LOCUS C) gene is a MADS-box transcription factor gene. In *Arabidopsis*, FLC acts as a floral inhibitor by repressing the expression of genes, such as *FT* (Amasino and Michaels 2010). The *FLC* homologs detected in grapevine, VvFLC1 and VvFLC2, have quite divergent sequences and different expression patterns with respect to *FLC* in *Arabidopsis* (Diaz-Riquelme et al. 2009). Their expression is associated with the development of inflorescence branch meristems, but it is low in flowers and is not related to the flowering transition as in *Arabidopsis*. The possible role of VvFLC2 is unclear, although its implication in the flowering process makes sense.

In *Arabidopsis*, *CONSTANS* (*CO*) is a floral promoter gene involved in photoperiodism perception. CO protein accumulates during long days and activates the expression of *FT* (Amasino and Michaels 2010). Two *CONSTANS* homologs have been characterised in grapevine (Almada et al. 2009): VvCOL1 is localised on chromosome 4 and VvCO is localised on chromosome 14, but they are outside our 4-year confidence interval (22,695,812 bp to 22,698,379 bp). We have detected another *CONSTANS*-like gene that we named VvCOL2. *CONSTANS*-like proteins (GenBank accessions ADA54554/ADA54555) were found to be associated with genetic variations of flowering dates in *Medicago truncatula* (Pierre et al. 2010) and *Medicago sativa* (Herrmann et al. 2010). Similar proteins were identified on chromosomes 1 and 14 in the grapevine WGS: the predicted protein VvCOL2 on chromosome 14 in the Pinot noir ENTAV 115 WGS (glimmer.VV78X250837.10_4) is longer than that in the PN40024 line WGS (454 aa vs. 196 aa), has similarities with the *Arabidopsis* *CONSTANS*-like 14 protein (At2g33500 gene) and a convincing EST can be found in databases. These results indicate a possible role for VvCOL2 in the flowering process.

A search for genes that could explain the genetic variations in veraison dates also yielded relevant candidates. On chromosome 16, VvHBI0 is a homeobox gene (class I HB transcription factor), similar to *AtHB7* and *AtHB12*

Table 5 Candidate genes underlying the identified QTLs

Related trait	Gene ID	Genome	Chrom.	Position	Gene symbol	Annotation	Reference for the annotation
Budbreak	GSVIVT01035262001	PN40024	4	11,587,680–11,589,305	<i>GST1</i>	Glutathione S-transferase	NCBI Blast on Swissprot
	GSVIVT01001479001	PN40024	4	12,133,777–12,135,719	<i>GST2</i>	Glutathione S-transferase	NCBI Blast on Swissprot
	GSVIVT01014953001	PN40024	19	12,826,742–12,829,288	<i>GST3</i>	Glutathione S-transferase	NCBI Blast on Swissprot
	GSVIVT01014963001	PN40024	19	13,089,548–13,090,890	<i>GST4</i>	Glutathione S-transferase	NCBI Blast on Swissprot
	GSVIVT01014854001	PN40024	19	10,665,036–10,669,055	VvWRKY3	WRKY transcription factor	Gambetta et al. (2010)
Flowering	GSVIVT01000107001	PN40024	7	15,325,228–15,327,698	<i>SGR7/SHR</i>	SHOOT GRAVITROPISM 7/SHORT-ROOT	Sreekantan et al. (2010)
	GSVIVT01000141001	PN40024	7	15,589,316–15,590,604	<i>LOBD39</i>	LOB domain-containing protein 39	Sreekantan et al. (2010)
	fgenesH.VV78X193757.4_1	Pinot N	7	16,134,566–16,136,821	<i>VvFT</i>	FLOWERING LOCUS T	Carmona et al. (2007)
	fgenesH.VV78X205200.8_1	Pinot N	7	17,334,104–17,335,492	<i>Id1</i>	INDETERMINATE 1	Sreekantan et al. (2010)
	fgenesH.VV78X111272.17_6	Pinot N	7	18,175,054–18,180,577	<i>VvSVP1</i>	SHORT VEGETATIVE PHASE/MADS-box protein JOINTLESS	Diaz-Riquelme et al. (2009) Jimenez-Gomez et al. (2007)
	GSVIVT01036549001	PN40024	14	23,320,331–23,341,234	<i>VvFUL-L</i>	FRUITFUL	Diaz-Riquelme et al. (2009)
	GSVIVT01036551001	PN40024	14	23,363,222–23,379,548	<i>VvSEP1</i>	SEPALLATA	Diaz-Riquelme et al. (2009)
	GSVIVT01033017001	PN40024	14	25,084,968–25,088,507	<i>VvCOL2</i>	CONSTANS-like protein	Herrmann et al. (2010)
	GSVIVT01033067001	PN40024	14	25,509,955–25,536,232	<i>VvFLC2</i>	FLOWERING LOCUS C	Diaz-Riquelme et al. (2009)
	GSVIVT01028704001	PN40024	16	19,636,837–19,641,201	<i>VvPYL</i>	ABA receptor PYL8	NCBI Blast on Swissprot
Veraison	GSVIVT01038619001	PN40024	16	21,439,501–21,441,052	<i>VvHB10</i>	Homeobox	Gambetta et al. (2010)
	GSVIVT01034886001	PN40024	18	15,923,474–15,926,074	<i>VvSUT2-2</i>	Putative sucrose sensor	Gambetta et al. (2010)
	GSVIVT01034881001	PN40024	18	15,866,681–15,868,604	<i>VvSUT2-3</i>	Putative sucrose sensor	Gambetta et al. (2010)
	GSVIVT01034540001	PN40024	18	19,680,342–19,687,518	<i>VvABF7</i>	ABRE-binding factor	Gambetta et al. (2010)
	NCBI Nucleotide DQ139800.1 No gene model in the PN40024 line genome 12x	PN40024	18	19,582,848–19,586,315	<i>VvMSA</i>	ASR, abscisic acid, stress and ripening-induced protein	Cakir et al. (2003)

(Gambetta et al. 2010). In *Arabidopsis*, the transcription of *AtHB7* is ABA-dependent (Olsson et al. 2004). Costantini et al. (2008) also identified a QTL for veraison time on chromosome 16, but our confidence interval does not cover this region (Fig. 2c); thus, it is likely that there are two QTLs for veraison time on this chromosome.

VvPYL, also on chromosome 16, is a more convincing candidate. ABA receptors have only recently been discovered (Kline et al. 2010), and *VvPYL* was identified in the grapevine WGS by similarity to genes of the *Arabidopsis* PYR/PYL family. The *VvPYL*-predicted protein shows 79%

identity with the PYR1-like 8 protein from *Arabidopsis* (At5g53160 gene). ABA binds to PYR/PYL proteins, which in turn regulate a cascade of events, including the modification of phosphatase activities (for a review see Kline et al. (2010)). The regulation system is likely to be reversible and sensitive to ABA concentration gradients. As the presence of ABA in association with sugars induces ripening (Gambetta et al. 2010), *VvPYL* proteins could play a role in the genetic differences observed in veraison time in this study.

On chromosome 19, 4 genes related to ABA and sugar signalling were found. *VvSUT2-2* and *VvSUT2-3* have

homologies to both the *Arabidopsis* sucrose transporters (AtSUC1) and sucrose sensors (AtSUT2) (Gambetta et al. 2010). Both ABA and sugars are required to induce ripening (Gambetta et al. 2010), and the efficiency of sucrose transport or sucrose sensing could play a role in the triggering of veraison, but the actual mechanism may also lie elsewhere. *VvAB7F*, also located within our confidence interval on chromosome 19, is similar to the ABA-responsive transcription factor AtABI5 (Gambetta et al. 2010). In *Arabidopsis*, it has been proposed that the AtABI5 protein binds to the promoter of the sugar transporter *AtSUC1* (ortholog of *VvSUT2-2* and *VvSUT2-3* cf. *supra*) to regulate the expression of *AtSUC1* (Hoth et al. 2010). This example of crosstalk between ABA signalling and sugar metabolism is to be considered when trying to elucidate the determinism of veraison in grapevine. Cakir et al. (2003) have also described a similar mechanism in grapevine. These authors showed that a grapevine ASR protein was able to bind to two sugar-responsive elements in the promoter of the putative monosaccharide transporter *VvHT1*. The interesting point is that the gene coding for this ASR protein, *VvMSA*, was also identified within our confidence interval on chromosome 19. The study on crosstalks between ABA, stress and sugar signalling is an expanding research area (Hey et al. 2010; Kline et al. 2010). The presence of *VvSUT2-2*, *VvSUT2-3*, *VvABF7* and *VvMSA* in the chromosomal region of the QTL for veraison time suggest the presence of a complete pathway to regulate the sugar and ABA response at this locus. These results reinforce the hypothesis that the onset of ripening in grapevine is dependent on both sugar and ABA metabolism.

Conclusion

An ecophysiological model was used to characterise the genetic variability of budbreak, flowering and veraison dates in progeny from a Riesling × Gewürztraminer cross over four seasons. The joint analysis of these phenotypic data and of genetic variations at microsatellite loci allowed us to identify 6 independent QTLs: 2 for the 15 February to budbreak period on chromosomes 4 and 19; 2 for the budbreak to flowering period on chromosomes 7 and 14; and 2 for the flowering to veraison period on chromosomes 16 and 18. Interactions were detected between loci and also between alleles at the same locus. Relevant candidate genes were found in the confidence intervals of these QTLs by examining the available whole-genome sequences. *VvFT*, on chromosome 7, and a *CONSTANS*-like gene on chromosome 14 were the more convincing candidate genes for the flowering process. Several genes participating in ABA and sugar metabolism were found to colocalise with

QTLs for the veraison process, and one of them, *VvPYL*, is similar to ABA receptor genes. These candidate genes open new perspectives for future studies on the genetic determinism of phenological stages in grapevine. Exploring their roles further and quantifying the effects of their genetic variations with ecophysiological models will provide a valuable framework to imagine and virtually test ideotypes of grapevine under projected climatic conditions.

Acknowledgments This work was partially financed by the ERA-NET Plant Genomics Program (GRASP GRAPE WINE 072b).

References

- Almada R, Cabrera N, Casaretto JA, Ruiz-Lara S, Villanueva EG (2009) *VvCO* and *VvCOL1*, two *CONSTANS* homologous genes, are regulated during flower induction and dormancy in grapevine buds. *Plant Cell Rep* 28:1193–1203
- Amasino RM, Michaels SD (2010) The timing of flowering. *Plant Physiol* 154:516–520
- Baggiolini M (1952) Les stades repères dans le développement annuel de la vigne et leur utilisation pratique. *Rev Rom Agric Vitic* 8:4–6
- Battilana J, Costantini L, Emanuelli F, Sevin F, Segala C, Moser S, Velasco R, Versini G, Grando MS (2009) The 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate synthase gene co-localizes with a major QTL affecting monoterpene content in grapevine. *Theor Appl Genet* 118:653–669
- Bellin D, Peressotti E, Merdinoglu D, Wiedemann-Merdinoglu S, Adam-Blondon AF, Cipriani G, Morgante M, Testolin R, Di Gasparo G (2009) Resistance to *Plasmopara viticola* in grapevine ‘Bianca’ is controlled by a major dominant gene causing localised necrosis at the infection site. *Theor Appl Genet* 120:163–176
- Blasi P, Blanc S, Wiedemann-Merdinoglu S, Prado E, Rühl E, Mestre P, Merdinoglu D (2011) Construction of a reference linkage map of *Vitis amurens* and genetic mapping of *Rpv8* a locus conferring resistance to grapevine downy mildew. *Theor Appl Genet* 123:43–53
- Bottcher C, Keyzers RA, Boss PK, Davies C (2010) Sequestration of auxin by the indole-3-acetic acid-amido synthetase GH3-1 in grape berry (*Vitis vinifera* L.) and the proposed role of auxin conjugation during ripening. *J Exp Bot* 61:3615–3625
- Broman KW, Wu H, Sen S, Churchill GA (2003) R/qtl: QTL mapping in experimental crosses. *Bioinformatics* 19:889–890
- Cakir B, Agasse A, Gaillard C, Saumonneau A, Delrot S, Atanassova R (2003) A grape ASR protein involved in sugar and abscisic acid signaling. *Plant Cell* 15:2165–2180
- Calonje M, Cubas P, Martinez-Zapater JM, Carmona MJ (2004) Floral meristem identity genes are expressed during tendrill development in grapevine. *Plant Physiol* 135:1491–1501
- Carmona MJ, Calonje M, Martinez-Zapater JM (2007) The FT/TFL1 gene family in grapevine. *Plant Mol Biol* 63:637–650
- Chervin C, Deluc L (2010) Ethylene signalling receptors and transcription factors over the grape berry development: gene expression profiling. *Vitis* 49:129–136
- Chervin C, Tira-umphon A, Terrier N, Zouine M, Severac D, Roustan JP (2008) Stimulation of the grape berry expansion by ethylene and effects on related gene transcripts, over the ripening phase. *Physiol Plant* 134:534–546
- Costantini L, Battilana J, Lamaj F, Fanizza G, Grando MS (2008) Berry and phenology-related traits in grapevine (*Vitis vinifera* L.): from quantitative trait loci to underlying genes. *BMC Plant Biol* 8:38

- Decroocq V, Fave MG, Hagen L, Bordenave L, Decroocq S (2003) Development and transferability of apricot and grape EST micro-satellite markers across taxa. *Theor Appl Genet* 106:912–922
- Di Gaspero G, Cattonaro F (2010) Application of genomics to grapevine improvement. *Aust J Grape Wine Res* 16:122–130
- Diaz-Riquelme J, Lijavetzky D, Martinez-Zapater JM, Carmona MJ (2009) Genome-wide analysis of MIKC^C-Type MADS Box genes in grapevine. *Plant Physiol* 149:354–369
- Doligez A, Adam-Blondon AF, Cipriani G, Di Gaspero G, Laucou V, Merdinoglu D, Meredith CP, Riaz S, Roux C, This P (2006) An integrated SSR map of grapevine based on five mapping populations. *Theor Appl Genet* 113:369–382
- Duchêne E, Schneider C (2005) Grapevine and climatic changes: a glance at the situation in Alsace. *Agron Sustain Dev* 25:93–99
- Duchêne E, Butterlin G, Claudel P, Dumas V, Jaegli N, Merdinoglu D (2009) A grapevine (*Vitis vinifera* L.) deoxy-D-xylulose synthase gene colocalizes with a major quantitative trait loci for terpenol content. *Theor Appl Genet* 118:541–552
- Duchêne E, Huard F, Dumas V, Schneider C, Merdinoglu D (2010) The challenge of integrated grapevine varieties to climate change. *Clim Res* 41:193–204
- Gambetta GA, Matthews MA, Shaghahi TH, McElrone AJ, Castellarin SD (2010) Sugar and abscisic acid signaling orthologs are activated at the onset of ripening in grape. *Planta* 232:219–234
- Garcia de Cortazar Atauri I, Brisson N, Gaudillere JP (2009) Performance of several models for predicting budburst date of grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Int J Biometeorol* 53:317–326
- Herrmann D, Barre P, Santoni S, Julier B (2010) Association of a CONSTANS-LIKE gene to flowering and height in autotetraploid alfalfa. *Theor Appl Genet* 121:865–876
- Hey SJ, Byrne E, Halford NG (2010) The interface between metabolic and stress signalling. *Ann Bot* 105:197–203
- Hoth S, Niedermeier M, Feuerstein A, Hornig J, Sauer N (2010) An ABA-responsive element in the *AtSUC1* promoter is involved in the regulation of *AtSUC1* expression. *Planta* 232:911–923
- Huang T, Bohlenius H, Eriksson S, Parcy F, Nilsson O (2005) The mRNA of the *Arabidopsis* gene *FT* moves from leaf to shoot apex and induces flowering. *Science* 309:1694–1696
- Jaillon O, Aury JM, Noel B, Policriti A, Clepet C, Casagrande A, Choise N, Aubourg S, Vitulo N, Jubin C, Vezzi A, Legeai F, Huguency P, Dasilva C, Horner D, Mica E, Jublot D, Poulain J, Bruyere C, Billaud A, Segurens B, Gouyvenoux M, Ugarte E, Cattonaro F, Anthouard V, Vico V, Del Fabbro C, Alaux M, Di Gaspero G, Dumas V, Felice N, Paillard S, Juman I, Moroldo M, Scalabrin S, Canaguier A, Le Clainche I, Malacrida G, Durand E, Pesole G, Laucou V, Chatelet P, Merdinoglu D, Delledonne M, Pezzotti M, Lecharny A, Scarpelli C, Artiguenave F, Pe ME, Valle G, Morgante M, Caboche M, Adam-Blondon AF, Weissenbach J, Quetier F, Wincker P (2007) The grapevine genome sequence suggests ancestral hexaploidization in major angiosperm phyla. *Nature* 449:U463–U465
- Jiang WB, Yu DQ (2009) *Arabidopsis* WRKY2 transcription factor mediates seed germination and postgermination arrest of development by abscisic acid. *BMC Plant Biol* 9:96
- Jimenez-Gomez JM, Alonso-Blanco C, Borja A, Anastasio G, Angosto T, Lozano R, Martinez-Zapater JM (2007) Quantitative genetic analysis of flowering time in tomato. *Genome* 50:303–315
- Jones GV, White MA, Cooper OR, Storchmann K (2005) Climate change and global wine quality. *Clim Change* 73:319–343
- Keilin T, Pang X, Venkateswari J, Halaly T, Crane O, Keren A, Ogorodovitch A, Ophir R, Volpin H, Galbraith D, Or E (2007) Digital expression profiling of a grape-bud EST collection leads to new insight into molecular events during grape-bud dormancy release. *Plant Sci* 173:446–457
- Kline KG, Sussman MR, Jones AM (2010) Abscisic acid receptors. *Plant Physiol* 154:479–482
- Koyama K, Sadamatsu K, Goto-Yamamoto N (2010) Abscisic acid stimulated ripening and gene expression in berry skins of the Cabernet Sauvignon grape. *Funct Integr Genomic* 10:367–381
- Lee JH, Park SH, Lee JS, Ahn JH (2007a) A conserved role of SHORT VEGETATIVE PHASE (SVP) in controlling flowering time of *Brassica* plants. *BBA-Gene Regul Mech* 1769:455–461
- Lee JH, Yoo SJ, Park SH, Hwang I, Lee JS, Ahn JH (2007b) Role of SVP in the control of flowering time by ambient temperature in *Arabidopsis*. *Gene Dev* 21:397–402
- Marguerit E, Boury C, Manicki A, Donnart M, Butterlin G, Nemorin A, Wiedemann-Merdinoglu S, Merdinoglu D, Ollat N, Decroocq S (2009) Genetic dissection of sex determinism, inflorescence morphology and downy mildew resistance in grapevine. *Theor Appl Genet* 118:1261–1278
- Martinez-Zapater JM, Carmona MJ, Diaz-Riquelme J, Fernandez L, Lijavetzky D (2010) Grapevine genetics after the genome sequence: challenges and limitations. *Aust J Grape Wine Res* 16:33–46
- Mathiason K, He D, Grimplet J, Venkateswari J, Galbraith D, Or E, Fennell A (2009) Transcript profiling in *Vitis riparia* during chilling requirement fulfillment reveals coordination of gene expression patterns with optimized bud break. *Funct Integr Genomic* 9:81–96
- Mazzitelli L, Hancock RD, Haupt S, Walker PG, Pont SDA, McNicol J, Cardle L, Morris J, Viola R, Brennan R, Hedley PE, Taylor MA (2007) Co-ordinated gene expression during phases of dormancy release in raspberry (*Rubus idaeus* L.) buds. *J Exp Bot* 58:1035–1045
- Melzer R, Wang YQ, Theissen G (2010) The naked and the dead: the ABCs of gymnosperm reproduction and the origin of the angiosperm flower. *Semin Cell Dev Biol* 21:118–128
- Merdinoglu D, Butterlin G, Bevilacqua L, Chiquet V, Adam-Blondon AF, Decroocq S (2005) Development and characterization of a large set of microsatellite markers in grapevine (*Vitis vinifera* L.) suitable for multiplex PCR. *Mol Breed* 15:349–366
- Nakagawa H, Yamagishi J, Miyamoto N, Motoyama M, Yano M, Nemoto K (2005) Flowering response of rice to photoperiod and temperature: a QTL analysis using a phenological model. *Theor Appl Genet* 110:778–786
- Olsson A, Engström P, Söderman E (2004) The homeobox genes *ATHB12* and *ATHB7* encode potential regulators of growth in response to water deficit in *Arabidopsis*. *Plant Mol Biol* 55:663–677
- Ophir R, Pang XQ, Halaly T, Venkateswari J, Lavee S, Galbraith D, Or E (2009) Gene-expression profiling of grape bud response to two alternative dormancy-release stimuli expose possible links between impaired mitochondrial activity, hypoxia, ethylene-ABA interplay and cell enlargement. *Plant Mol Biol* 71:403–423
- Owen SJ, Lafond MD, Bowen P, Bogdanoff C, Usher K, Abrams SR (2009) Profiles of abscisic acid and its catabolites in developing Merlot grape (*Vitis vinifera*) berries. *Am J Enol Vitic* 60:277–284
- Pacey-Miller T, Scott K, Ablett E, Tingey S, Ching A, Henry R (2003) Genes associated with the end of dormancy in grapes. *Funct Integr Genomic* 3:144–152
- Pierre J-B, Bogard M, Herrmann D, Huyghe C, Julier B (2010) A CONSTANS-like gene candidate that could explain most of the genetic variation for flowering date in *Medicago truncatula*. *Mol Breed* 28:25–35
- Quilot B, Kervella J, Génard M, Lescouret F (2005) Analysing the genetic control of peach fruit quality through an ecophysiological model combined with a QTL approach. *J Exp Bot* 422:3083–3092
- Ramos MC, Jones GV, Martinez-Casasnovas JA (2008) Structure and trends in climate parameters affecting winegrape production in northeast Spain. *Clim Res* 38:1–15

- Reymond M, Muller B, Leonardi A, Charcosset A, Tardieu F (2003) Combining quantitative trait loci analysis and an ecophysiological model to analyse the genetic variability of the responses of maize leaf growth to temperatures and water deficit. *Plant Physiol* 131:664–675
- Soar CJ, Sadras VO, Petrie PR (2008) Climate drivers of red wine quality in four contrasting Australian wine regions. *Aust J Grape Wine Res* 14:78–90
- Sreekantan L, Thomas MR (2006) *VvFT* and *VvMADS8*, the grapevine homologues of the floral integrators *FT* and *SOC1*, have unique expression patterns in grapevine and hasten flowering in *Arabidopsis*. *Funct Plant Biol* 33:1129–1139
- Sreekantan L, Mathiason K, Grimplet J, Schlauch K, Dickerson JA, Fennell AY (2010) Differential floral development and gene expression in grapevines during long and short photoperiods suggests a role for floral genes in dormancy transitioning. *Plant Mol Biol* 73:191–205
- Uptmoor R, Osei-Kwarteng M, Gurtler S, Stutzel H (2009) Modeling the effects of drought stress on leaf development in a *Brassica oleracea* doubled haploid population using two-phase linear functions. *J Am Soc Hortic Sci* 134:543–552
- Velasco R, Zharkikh A, Troggio M, Cartwright DA, Cestaro A, Pruss D, Pindo M, Fitzgerald LM, Vezzulli S, Reid J, Malacarne G, Iliev D, Coppola G, Wardell B, Micheletti D, Macalma T, Facci M, Mitchell JT, Perazzolli M, Eldredge G, Gatto P, Oyzerski R, Moretto M, Gutin N, Stefanini M, Chen Y, Segala C, Davenport C, Dematte L, Mraz A, Battilana J, Stormo K, Costa F, Tao Q, Si-Ammour A, Harkins T, Lackey A, Perbost C, Taillon B, Stella A, Solovyev V, Fawcett JA, Sterck L, Vandepoele K, Grando SM, Toppo S, Moser C, Lanchbury J, Bogden R, Skolnick M, Sgaramella V, Bhatnagar SK, Fontana P, Gutin A, Van de Peer Y, Salamini F, Viola R (2007) A high quality draft consensus sequence of the genome of a heterozygous grapevine variety. *PLoS ONE* 2:e1326
- Walton EF, Wu RM, Richardson AC, Davy M, Hellens RP, Thodey K, Janssen BJ, Gleave AP, Rae GM, Wood M, Schaffer RJ (2009) A rapid transcriptional activation is induced by the dormancy-breaking chemical hydrogen cyanamide in kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) buds. *J Exp Bot* 60:3835–3848
- Wheeler S, Loveys B, Ford C, Davies C (2009) The relationship between the expression of abscisic acid biosynthesis genes, accumulation of abscisic acid and the promotion of *Vitis vinifera* L. berry ripening by abscisic acid. *Aust J Grape Wine Res* 15:195–204
- Yin X, Struik PC, van Eeuwijk FA, Stam P, Tang J (2005) QTL analysis and QTL-based prediction of flowering phenology in recombinant inbred lines of barley. *J Exp Bot* 56:967–976

3. Actualisation

a) *Détection de QTLs*

Depuis 2012, deux équipes, l'une Italienne, l'autre Allemande ont publié des résultats de détection de QTLs de phénologie chez la vigne. Dans les deux cas les chercheurs ont travaillé avec des dates calendaires (Grzeskowiak et al. 2013) ou des classes de précocité (Fechter et al. 2014) pour la floraison et la véraison. Ils ne sont donc pas en mesure de distinguer l'impact de QTLs déterminant les dates de débourrement sur les stades ultérieurs, pas plus que l'effet de QTLs de la durée débourrement-floraison et de la durée floraison-véraison sur les dates de véraison. Ainsi les QTLs sur les chromosomes 1 et 11 pour la date de véraison proposés par Fechter et al. (2014) sont très certainement des QTLs déterminant la date de floraison (ou de débourrement?) (Tableau III.1). Ces approches, moins analytiques que la nôtre, ne sont pas très puissantes en regard des effectifs utilisés et de la densité des cartes génétiques. Je n'ai ainsi retenu que des QTLs dont le LOD score était supérieur au LOD seuil à $p = 0,05$ sur l'ensemble du génome, alors que ces auteurs conservent des QTLs sur la base d'un LOD score seuil plus permissif, car calculé chromosome par chromosome. Quoiqu'il en soit, les QTLs communs entre tous les résultats publiés à ce jour sont peu nombreux. Pour la floraison, mon QTL pour la durée débourrement-floraison du chromosome 7 est situé dans la même région du génome que le QTL de début de floraison publié par Grzeskowiak et al. (2013). De même, la position du QTL que j'ai mis en évidence sur le chromosome 14 est compatible avec celle(s) du (des?) QTL(s) proposé(s) par Fechter et al. (2014) dans deux populations différentes. Pour la véraison, il n'y a aucun QTL commun entre mes travaux et les autres études publiées à ce jour (Costantini et al. 2008; Fechter et al. 2014; Grzeskowiak et al. 2013).

Tableau III.1: Récapitulatif des QTLs liés à la phénologie de la vigne publiés au 30 mars 2015.

Surlignés en jaune: QTLs situés sur le même groupe de liaison que dans mon étude, mais pas dans la même région du génome. Surlignés en vert: QTLs situés dans la même région du génome que dans mon étude.

Référence	Population (Nombre de génotypes)	Caractère	LG (¹)	LOD Max	% Variance (max)	Remarques
Costantini <i>et al</i> , 2008	Italia x Big Perlon (163)	Date de floraison (50 %)	1	4.8	13.9	sans doute 2 QTLs
			2	8.4	16.4	
			6	7.4	20.8	
		Date de véraison (50 %)	2	5.6	12.6	
			6	4.9	9.9	
			16	15.1	45.4	
		Durée floraison- véraison (jours)	2	8	21.4	
			6	4	8.5	
			16	8.7	37.2	
Grzeskowiak <i>et al</i> , 2013	Syrah x Pinot noir (170)	Début floraison (10 %)	7	4.2	11	VMC8d11 en commun
		Début véraison (10 %)	2	10.3	20.5	
			15	8.1	18.3	
			17	6.2	14	
		Fin véraison	2	16.3 3	43.7	
			15	6.7	18.2	
Fechter <i>et al</i> , 2014	V3125 x Börner (202)	Début floraison (10 %)	1	5.9	14.3	sans doute 2 QTLs
			10	3.1	7.8	
			11	2.7	6.7	
			14	3.7	9.3	sans doute 2 QTLs
			17	3.4	7.6	
		Date de floraison (50 %)	1	5.6	12.8	
			10	3	7.2	
			11	4.1	9.4	
			14	3.4	10	sans doute 2 QTLs
			16	4.9	28.9	
			17	3.5	10	
			19	3.4	8.6	
		Début véraison (10 %)	1	5.4	19.7	
			11	4.2	15.6	
			13	3.8	14.4	
	GF.GA-47- 42 x Villard Blanc (151)	Date de floraison (50 %)	1	4.5	17	
			4	5.1	16.5	
			8	4.3	31.2	
			14	6.2	21.1	
			17	3.9	15.9	
			19	3.5	11.9	

(¹) Linkage Group

b) Gènes candidats pour le débourrement

On peut distinguer trois phases pour décrire l'état quiescent des bourgeons (Lang 1987; Pouget 1963). La période de paradormance est celle pendant laquelle les bourgeons à l'aisselle des feuilles ne débourrent pas car leur développement est inhibé par la dominance apicale. Pendant la période d'endodormance, des facteurs intrinsèques au bourgeon le maintiennent à l'état de repos végétatif: même dans des conditions environnementales favorables (lumière, température), il n'évoluera pas. Après la levée de dormance, il entrera dans une phase d'écodormance: il devient sensible aux conditions de milieu et peut reprendre son activité si ces conditions sont favorables, en particulier lorsque les températures s'élèvent. Les dates de débourrement observées au vignoble dépendent d'une part des dates de levée de dormance pour chacun des génotypes étudiés, d'autre part du besoin en cumul de températures entre ces dates et le débourrement effectif (pointe verte). Il est clair qu'il existe de la variabilité génétique pour les besoins en froid sur des arbres fruitiers comme l'abricot (Olukolu et al. 2009), le pommier (Falavigna et al. 2014) ou la cerise (Castede et al. 2014). La variabilité génétique « besoins en froid », « besoins en chaleur » n'est cependant que très rarement étudiée conjointement (Castede et al. 2014). Dans mon étude, nous ne pouvons pas savoir si la variabilité génétique que nous observons est due à une variabilité des dates de levée de dormance ou bien à une variabilité des besoins en chaleur de la phase d'écodormance.

Le métabolisme des bourgeons change radicalement entre l'été et le printemps de l'année suivante: le nombre de gènes sous ou sur exprimés entre les différentes phases se compte en milliers (Diaz-Riquelme et al. 2012). Il n'y a pas d'éléments précis permettant de guider la recherche de gènes candidats pour la durée de la phase d'écodormance. Dans une approche très similaire à la nôtre, Celton et al. (2011) ont recherché des gènes candidats pour la date du débourrement du pommier en estimant l'enrichissement en catégories fonctionnelles de gènes (GO terms). Ils mettent ainsi en évidence la sur-représentation des catégories « response to stimulus », « biological regulation », « signalling », « death » et « cell cycle » dans les intervalles de confiance des QTLs liés au débourrement. Cette diversité, qui confine au flou, illustre la difficulté à rechercher des gènes candidats lorsque le phénomène étudié n'est pas marqué par un changement clair d'état ou par l'apparition de nouveaux organes. La recherche de gènes candidats est donc partiellement biaisée car l'essentiel des travaux scientifiques, toutes espèces confondues, concernent d'une part les mécanismes de l'entrée en dormance des bourgeons (transition para/endodormance), d'autre part les mécanismes moléculaires liés à la levée de dormance des bourgeons (transition endo/écodormance). Le schéma qui se confirme actuellement pour la vigne est que levée de la dormance est déclenchée par un stress respiratoire et oxydatif. Mettre les bourgeons en conditions d'hypoxie (Rubio et al. 2014), bloquer la respiration avec du cyanure de potassium KCN

(Vergara et al. 2013) ou de l'azoture de sodium NaN_3 (Perez et al. 2009) induit très rapidement une levée de la dormance. Les mécanismes moléculaires sous-jacents et les gènes impliqués sont très divers puisque le niveau d'expression de 2002 gènes change au moment de la transition endo/écodormance (Diaz-Riquelme et al. 2012). De manière assez inattendue, des gènes participant aux mécanismes de la floraison semblent impliqués dans le processus de levée de dormance (Diaz-Riquelme et al. 2012; Perez et al. 2011). Vergara et al. (2012) montrent également qu'une hypoxie ou une application de cyanamide d'hydrogène (CH_2N_2) augmentent l'expression de *VvFT*, ainsi qu'un cortège de gènes liés à la réponse à l'hypoxie. Dans le même ordre d'idée, la même équipe a mis en évidence que ces mêmes stimuli augmentaient l'expression de gènes liés au GABA-shunt (Vergara et al. 2013). Ce nom désigne un processus fermentaire impliquant l'alanine, dans lequel il y a production d'acide γ -butyrique (GABA). Il y a accumulation de GABA en réponse à des stress respiratoires (Vergara et al. 2013). J'ai identifié un gène de cette voie codant pour une glutamate décarboxylase (3) sur le chromosome 4 dans la région de mon QTL de débourrement, en limite de l'intervalle de confiance (GSVIVT01035247001, chr4:11271833..11278384). Un des résultats récents les plus intéressants a également été publié par Rubio et al. (2014): ces auteurs montrent qu'en réponse à un stress respiratoire dans les bourgeons en dormance, il y avait augmentation de l'expression de gènes codant pour des α -amylases, diminution des teneurs en amidon et augmentation temporaire des teneurs en glucose et en fructose. Il est possible que quand la carence en énergie (ATP) atteint un seuil critique, les cellules des bourgeons dormants enclenchent un nouveau programme de production d'énergie, qui coïncide avec le phénomène de levée de dormance. Cette implication des α -amylases a également été observée par Jogaiah et al. (2014).

La position des gènes étudiés dans toutes les publications citées précédemment a été comparée aux intervalles de confiance des QTLs que j'ai mis en évidence sur les chromosomes 4 et 19. Seul le gène *GAD3* (Vergara et al. 2013) se trouve non loin d'un intervalle de confiance pour le QTL du chromosome 4. J'ai également extrait les niveaux d'expression des gènes candidats que je propose dans les données de transcriptomique publiées par Diaz-Riquelme et al. (2012). Les gènes *GST1*, *GST3* et *WRKY3* ne sont pas référencés sur la puce ADN utilisée. Par contre, la figure III.4 montre que les niveaux d'expression de *GST2*, *GAD3* et surtout *GST4* varient dans les bourgeons au cours du temps. Le niveau d'expression est maximal pendant la période hivernale pour les *GSTs*, minimal pour *GAD3*. Pour *GST4* en particulier, le pic d'expression correspond à la période d'endodormance entre novembre et janvier. Cette observation permet d'apporter un argument de plus en faveur du choix de *GST2* et *GST4* comme gènes candidats.

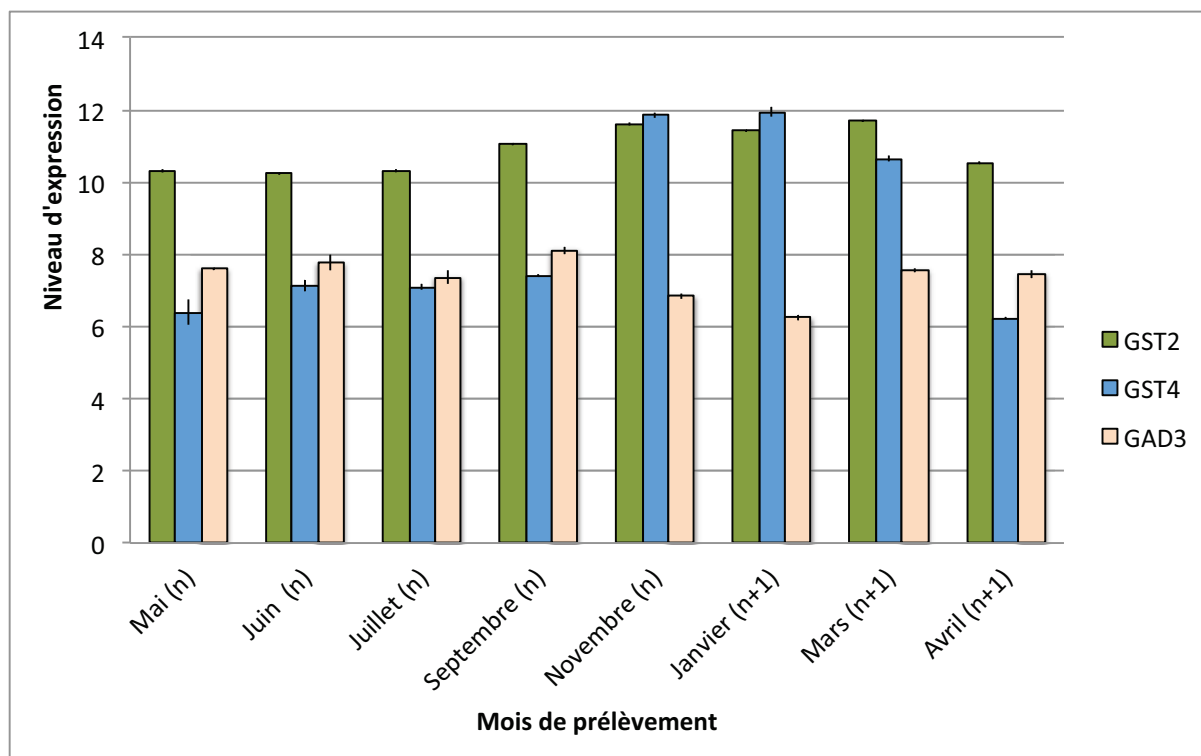


Figure III.4: Niveau d'expression de trois gènes candidats dans les bourgeons au cours du temps (Diaz-Riquelme et al. 2012). Données obtenues sur Affymetrix GrapeGen GeneChip®. Les barres verticales représentent les erreurs-type (n=3).

L'implication d'un gène dans un phénomène ne signifie pas qu'il participe à la variabilité génétique observée. La régulation de l'entrée et de la sortie de dormance est un processus complexe qui fait intervenir des mécanismes épigénétiques, avec méthylation de l'ADN, acétylations des histones, mais également des mécanismes de silencing (Rios et al. 2014). De nombreux gènes sont impliqués dans les changements de métabolisme du bourgeon et leur niveau d'expression peut varier en relation avec ces évolutions du métabolisme général, sans pour autant qu'ils soient à l'origine de la variabilité génétique des phénomènes étudiés. Il convient donc d'être très prudent dans cette approche, d'autant plus que l'on peut imaginer des déterminants des besoins en froid indépendamment du fonctionnement au niveau cellulaire. Si la levée de dormance est effectivement déclenchée par un état d'hypoxie, il serait par exemple possible que la perméabilité des bourgeons d'hiver à l'oxygène participe à la variabilité génétique.

c) *Gènes candidats pour la floraison*

La floraison est un phénomène étudié de manière intensive chez de nombreuses plantes. La mise en place des pièces florales et la date de floraison ont en effet des conséquences agronomiques considérables. En effet, les quantités de récoltes, que ce soit pour des graines et des fruits, dépendent

d'une part de la quantité et de la qualité des organes reproducteurs et d'autre part de la réussite de la fécondation et du développement des graines. La vigne ne fait pas exception et plusieurs équipes de recherche étudient les mécanismes moléculaires de la formation des inflorescences et des fleurs. Il faut en effet rappeler que la mise en place des organes reproducteurs s'effectue en deux temps chez la vigne (Huglin et Schneider 1998). Au cours de la saison *n*, il y a initiation des inflorescences dans les bourgeons à l'aisselle des feuilles. Les fleurs ne se différencient qu'au printemps de la saison *n+1* après la levée de dormance des bourgeons. Les facteurs qui contrôlent la date de floraison chez la vigne sont donc *a priori* davantage à rechercher dans les gènes impliqués dans le développement des pièces florales que dans les gènes liés à l'initiation florale. Les données publiées récemment conduisent à revisiter les gènes candidats proposés initialement. Ainsi, *VvFT* (Chrom. 7) et *VvSVP1* (Chrom. 7) sont exprimés à la fois dans les inflorescences ou les vrilles (Diaz-Riquelme et al. 2014). *VvFUL-L* (Chrom. 14) est par contre assez spécifique des vrilles alors que *VvFLC2* (Chrom. 14) et *VvSEP1* (Chrom. 14) sont assez spécifiques des fleurs. Des résultats de comparaison d'expression de gènes dans des fleurs mâles, femelles et hermaphrodites montrent également que *VvSVP1* est moins exprimé lors des phases finales de formation des fleurs que pendant les phases initiales de développement des inflorescences (Ramos et al. 2014). Pour les gènes candidats que j'ai proposés, les données de transcriptomiques récentes ne permettent de ne conforter que le rôle de *FLC2* dans les processus de floraison et la durée débourrement-floraison. L'examen d'autres sources de données permet cependant d'émettre de nouvelles hypothèses de travail.

J'ai examiné la position de tous les gènes dont le niveau d'expression varie selon le sexe des fleurs (Ramos et al. 2014). J'ai identifié ainsi deux nouveaux gènes candidats dans l'intervalle de confiance du QTL sur LG 14.

VIT_14s006g01690 (GSVIVT01032999001, chr14:24,979,316..24,981,695) est un gène dont le niveau d'expression évolue au cours du temps dans tous les types de fleurs. Il est orthologue de *Tasselseed-2* (46 % d'identité en protéine avec *P50160.1|TS2_MAIZE*), un gène impliqué dans la stérilité femelle chez le maïs (Calderon-Urrea et Dellaporta 1999).

Le cas de *VIT_14s008g01200* (GSVIVT01036572001, chr14:23,603,520..23,606,026) est plus intrigant. Ce gène n'est pas exprimé dans les fleurs mâles (Ramos et al. 2014). Un BLAST de la protéine prédite pour ce gène contre SWISSPROT ne donne aucun résultat convaincant (au mieux 20 acides aminés identiques sur 59, expect = 0,34). Par contre, un BLAST du cDNA virtuel contre les séquences de transcrits sur NCBI (refseq_rna) indique que cet ARN pourrait être un long non-coding RNA (LOC104881623). L'exploration du rôle de ce type d'ARN dans la régulation du fonctionnement des génomes des plantes n'est encore qu'à ces débuts (Zhang et al. 2013), mais il a été montré chez *Arabidopsis* qu'un long ARN non codant participait au contrôle de l'expression du gène *FLC* (Shin et Chekanova 2014).

La régulation de l'expression des gènes fait également intervenir des petits ARNs non-codants (miRNAs). Wang et al. (2014) ont spécifiquement cherché des miRNAs et leurs gènes cibles dans des feuilles de vigne jeunes et âgées, des inflorescences, des fleurs, des jeunes baies et des baies mûres. Ils ont ainsi identifié 375 miRNAs et 193 ARNs cibles correspondants. J'ai trouvé quatre de ces gènes cibles dans les intervalles de confiance des QTLs des groupes de liaison 7 et 14. Sur le chromosome 7, GSVIVT01003435001 (chr7:15016616..15018620) interagit avec miR395 mais la fonction de ce gène n'est pas connu. Sur le chromosome 14, GSVIVT01032911001 (chr14:24045544..24048408) interagit avec miR319. GSVIVT01032911001 code pour un facteur de transcription de type TCP. Or on sait que des facteurs de transcription de cette famille peuvent agir sur *FT* (Ho et Weigel 2014; Mimida et al. 2011). Les deux autres candidats interagissent avec des miRNAs trouvés seulement dans les baies.

Dans le même ordre d'idée, Calvino et Messing (2013) ont mis en évidence un couple de miRNAs (vvi-MIR169z à vvi-MIR169e) qui interagit avec *VvCol2*, gène codant pour une protéine de type CONSTANS-like, que j'ai identifié comme gène candidat sur le chromosome 14. Ce couple de miRNAs est situé à moins de 2,3 kb du gène *VvCOL2*. À partir des données obtenues sur d'autres espèces avec miR169, montrant une proximité physique sur les génomes des miRNAs et des gènes ciblés, Calvino et Messing (2013) développent l'idée que les processus de sélection génétique ne peuvent se contenter de considérer des gènes isolés, mais doivent intégrer les régions avoisinantes (« linkage drag »).

Tableau III.2: Séquences génomiques candidates présentes dans les intervalles de confiance pour les QTLs de durée débourrement-floraison des groupes de liaison 7 et 14

a. Gènes

Identifiant Génoscope (www.genoscope.cns.fr)	Identifiant CRIBI V1 (genomes.cribi.unipd.it)	Position	Commentaire
GSVIVT01032999001	VIT_14s006g01690	Chr14:24 979 316..24 981 695	Tasselseed-2
GSVIVT01036572001	VIT_14s0083g01200	Chr14:23 603 520..23 606 026	Long ARN non-codant?
GSVIVT01003435001	VIT_207s0191g00220	Chr7:15 016 616..15 018 620	Fonction inconnue, interagit avec miRNA 395
GSVIVT01032911001	VIT_214s0068g00330	Chr14:24 045 544..24 048 408	Facteur de transcription de type TCP, interagit avec miRNA 319

b. miRNAs

Identifiant	Position	
vvi-MIR169z	Chr14: 25 082 612..25 082 498	vvi-MIR169z à vvi-MIR169e: 367 pb, interaction avec VvCOL2 (COL14)
vvi-MIR169e	Chr14: 25 082 865..25 082 717	

Le tableau III.2 récapitule les nouvelles hypothèses de travail issues de cette mise à jour bibliographique. Les données de transcriptomiques n'apportent pas d'arguments en faveur d'un rôle de *VvFT*, *VFUL-L*, *VvSP1* mais montrent l'implication de *VvFLC2* et *VvSEP1* dans la formation des fleurs. Les données bibliographiques récentes suggèrent qu'une implication d'ARNs non-codants dans la régulation de la floraison est possible chez la vigne, comme cela a clairement été montré chez *Arabidopsis* (Yamaguchi et Abe 2012). À ce titre, *VvCOL2*, dont le rôle dans la variabilité génétique des dates de floraison a déjà été montré (Herrmann et al. 2010; Pierre et al. 2010), et qui est physiquement proche d'un couple de miRNAs potentiellement régulateur (Calvino et Messing 2013), est d'évidence un des candidats à étudier en priorité.

d) Gènes candidats pour la véraison

La véraison est un stade qui n'est jamais explicitement étudié chez les autres fruits, même chez les fruits non climactériques comme la cerise. Il est donc difficile de s'appuyer sur les connaissances acquises chez d'autres espèces pour identifier des gènes impliqués dans le déclenchement de la véraison comme cela peut être le cas lorsque l'on s'intéresse à la levée de dormance ou à la floraison. Le ou les facteurs déclenchant la véraison ne sont toujours pas identifiés avec certitude. Le rôle des sucres, et donc de tous les mécanismes autour de la perception des sucres (« sugar sensing and signalling »), a été indirectement confirmé à l'échelle de la plante. En effet, plusieurs travaux ont récemment montré qu'un rapport fruit/feuille défavorable, et donc une disponibilité en sucres *a priori* faible au niveau des baies, retardait les dates de véraison (Martinez de Toda et al. 2014; Parker et al. 2014). Le gène VvMSA proposé comme gène candidat sur le chromosome 16 pourrait intervenir dans ces processus. La protéine codée par ce gène fait partie d'une de la famille des protéines ASR (« Absciscic acid, stress, ripening-related »). Elle est impliquée dans la régulation de la transcription du transporteur de glucose VvHT1 (Cakir et al. 2003). L'activité du promoteur de VvMSA dépend des concentrations en glucose (Saumonneau et al. 2012). On peut également observer dans les données présentées, que les promoteurs spécifiques du Cabernet-Sauvignon et de l'Ugni Blanc ont des comportements différents (Saumonneau et al. 2012). Il existe donc une variabilité génétique de réponses aux sucres qui pourrait participer à la variabilité des durées floraison-véraison. L'activité du promoteur de VvMSA dépend également des concentrations en ABA (Saumonneau et al. 2012).

Le déclenchement de la véraison est sous la dépendance d'un équilibre entre auxine et ABA. Des applications d'auxine retardent la véraison (Böttcher et al. 2011; Gouthu et Deluc 2015) tandis que des applications d'ABA accélèrent le processus (Gouthu et Deluc 2015). La présence d'ABA semble nécessaire pour déclencher le processus de véraison (Gambetta et al. 2010) et un gène tel que VvMSA, dont le promoteur est sensible à la fois aux sucres et à l'ABA (Saumonneau et al. 2012) reste un candidat solide dans mon approche.

J'ai également été parmi les premiers à proposer l'implication de récepteurs d'ABA chez la vigne. Leur désignation est encore instable entre PYR (réponse à la pyrabactine), PYL (pour « PYR-like »), RCAR (« Regulatory component of ABA receptor ») et ABAR (« ABA receptor »). Ces ABARs n'ont été mis en évidence que récemment (Kline et al. 2010) mais les connaissances ont progressé très rapidement (Miyakawa et al. 2013; Zhang et al. 2015). L'ABA modifie la conformation de ces récepteurs, qui peuvent alors agir physiquement avec des phosphatases de type 2C (PP2C) et les inactiver. Ces PP2Cs ne sont alors plus en mesure d'inhiber des protéines de type SnRK2. Actives, ces protéines SnRK2 sont capables d'activer des promoteurs de certains gènes. La cascade de réaction est complexe mais décrit bien pourquoi en présence d'ABA, l'expression de certains gènes est activée et qu'en absence

d'ABA, l'expression de ces gènes ne soit pas possible. Boneh et al. (2012) ont identifié huit ABARs chez la vigne dont sept paraissent fonctionnels, ils ont également caractérisés neuf PP2Cs et mis en évidence les interactions ABAR-PP2C par un système double-hybride chez la levure. Le gène candidat VvPYL sur le chromosome 16 correspond à VvCRAR2 dans la nomenclature de Boneh et al. (2012). VvCRAR2 est fonctionnel et interagit avec trois PP2Cs chez la vigne, et reste donc un bon candidat pour expliquer des variations de durée floraison-véraison.

e) Conclusion

Pour progresser dans la connaissance du déterminisme génétique des dates de débourrement, il faut en premier lieu mieux cerner, pour une variété donnée, les déterminants physiologiques du phénomène. Malgré les acquis de la littérature, les déterminants des besoins en froid pour la levée de dormance ne sont pas tous connus. Des observations empiriques à l'INRA d'Avignon et de Colmar suggèrent qu'il existe des facteurs encore inconnus qui font varier les besoins en froid pour une même variété de vigne. Des constatations similaires ont été faites sur cerisier (Castede et al. 2014). Par ailleurs comme un des modèles actuels de prévision du débourrement les plus performants intègre un effet de la photopériode (Molitor et al. 2014a), il faudrait confirmer l'intérêt et quantifier l'apport de ce paramètre qui accroît la complexité de l'approche. Dans un deuxième temps, pour mieux cerner les déterminants génétiques, il faudrait dissocier les besoins en froid des besoins en chaleur dans des populations en ségrégation, comme cela a été fait pour le cerisier (Castede et al. 2014), ou dans des core-collections. Enfin, la recherche de gènes candidats sera d'autant plus pertinente que le caractère « date de débourrement » sera décomposé en processus physiologiques indépendants et que les effectifs étudiés seront élevés.

Pour la floraison, les gènes candidats ne manquent pas. La poursuite du travail engagé peut suivre plusieurs pistes. La première est de mieux décomposer le caractère « durée débourrement-floraison ». L'acquisition de données de cinétiques de floraison inflorescence par inflorescence, en tenant compte de leurs positions d'insertion sur le rameau serait *a priori* plus informative que des notations de floraison sur des plantes entières.

En second lieu, il faudrait caractériser la variabilité de séquence nucléotidique dans les gènes candidats, leurs promoteurs, voire dans les miRNAs qui leur sont associés. Ce travail permettrait de cartographier génétiquement ces gènes candidats et de vérifier leur colocalisation avec les QTLs. Les intervalles de confiance des QTLs seront d'autant plus précis que les effectifs caractérisés seront élevés et que la densité de marquage moléculaire sera grande. Les données phénotypiques ont été obtenues jusqu'à présent sur 120 génotypes, et le marquage moléculaire été réalisé avec 153 marqueurs microsatellites. Nous disposons de 383 génotypes au vignoble et nous sommes engagés dans un programme visant à obtenir de données de « Genotyping by sequencing » sur tout ou partie de cette

population. Dans un deuxième temps, ou parallèlement, l'implication de gènes candidats dans la variabilité des stades de développement pourrait être vérifiée en étudiant des collections de variétés non-apparentées (core-collections) et en cherchant les associations génotype-phénotype par des méthodes de « Genome wide association » (GWA) ou de sélection génomique (Fodor et al. 2014).

En ce qui concerne la véraison, la démarche peut se poursuivre comme pour la floraison, en étudiant la variabilité génétique des gènes candidats, en étendant le panel de génotypes étudiés et en augmentant la densité de marquage moléculaire. L'approche est cependant compliquée par le fait que le déclenchement de la véraison dépend de la disponibilité en sucres dans les baies et donc du rapport fruit/feuille. Or celui-ci est variable au sein de la descendance RlxGW comme nous le verrons dans l'article qui suit. Une des manières de s'affranchir de cet effet indirect serait de travailler avec des plantes au rapport fruit/feuille non-limitant, en enlevant des grappes. Les données récentes confirment le schéma d'un déclenchement de la véraison sous la dépendance de l'ABA et des sucres, et par là-même nous incitent à poursuivre les investigations sur le rôle des récepteurs d'ABA et de VvMSA dans la variabilité génétique de la durée floraison-véraison.

Le travail que j'ai conduit sur le déterminisme génétique des stades de développement est original à plusieurs titres. Nous sommes en effet les seuls à proposer des QTLs robustes pour les dates de débourrement, mais aussi les seuls à mettre en évidence des interactions entre loci et entre allèles. L'apport majeur de ce travail est qu'il est le premier exemple de détection de QTLs pour des paramètres de modèles écophysiologiques chez la vigne, et qu'il est le seul à ce jour à tester des génotypes virtuels dans des conditions climatiques du futur. Par ailleurs, l'identification de gènes candidats pertinents pour la floraison et la véraison fournit des hypothèses à des études plus approfondies des mécanismes moléculaires fins régulant ces processus. La proximité physique de gènes candidats ayant des interactions, ou de gènes candidats et d'éléments régulateurs comme les miRNAs, conduit à s'interroger une notion de « linkage drag » positif: dans d'éventuels programmes de sélection, il faut peut-être s'assurer de transmettre des portions de génomes plutôt que des gènes individuels.

Si l'on considère les deux articles précédents sous l'angle de l'adaptation au changement climatique, on peut voir les résultats obtenus de deux manières. La première est qu'il existe effectivement de la variabilité génétique, que l'on travaille avec des caractères héréditaires, que nous sommes vraisemblablement en mesure de comprendre les mécanismes moléculaires mis en jeu en y mettant les moyens. Le revers est que d'une part nous ne sommes pas certains que la variabilité génétique des stades de développement soit suffisante pour compenser les effets du réchauffement climatique, et que d'autre part, il y aurait d'évidence des allèles provenant de plusieurs loci à intégrer dans des descendance et donc un travail de pyramidage conséquent, en faisant abstraction des interactions entre loci ou entre allèles. La vigne ayant un cycle reproducteur long, ce travail en devient irréaliste pour un résultat incertain. Une des possibilités est d'explorer les déterminants des stades de

développement dans d'autres fonds génétiques, en espérant identifier des architectures de caractère simples. Les populations issus de croisement avec des espèces des genres *Vitis* américaines ou *Muscadinia* pourrait être de bons supports à de telles études. L'autre possibilité est de focaliser l'effort de recherche sur la capacité des génotypes à produire des raisins aux teneurs en sucres maîtrisées, à l'acidité et au potentiel organoleptique élevés même en conditions de maturation chaudes.

Les deux articles qui suivent s'inscrivent dans ce cadre: quelle variabilité génétique peut-on mettre en évidence pour les teneurs en sucres des raisins? Quelle variabilité génétique peut-on mettre en évidence pour l'acidité des raisins?

IV. Les teneurs en sucres: « Deciphering the ability of different grapevine genotypes to accumulate sugar in berries »

1. Résumé de l'article

L'excès de sucres dans les raisins, avec pour conséquence des teneurs en alcool des vins élevées et/ou des sucres résiduels dans les vins, est une préoccupation consécutive au réchauffement climatique (Alston et al. 2011; Teisseidre 2013). Utiliser la variabilité génétique pour créer des variétés dont la véraison serait assez tardive pour compenser l'augmentation des températures pendant la maturation des raisins est une tâche lourde et complexe pour des résultats incertains. La deuxième hypothèse explorée est que l'on peut trouver des génotypes ayant des capacités limitées à accumuler des sucres, ce qui permettrait de mieux maîtriser dans le futur les teneurs en alcool des vins. Une variabilité génétique pour des teneurs en sucres mesurées à la récolte a déjà été décrite (Huglin et Schneider 1998; Mercado-Martin et al. 2006), mais on sait que les teneurs en sucres des raisins à la récolte dépendent beaucoup des conditions climatiques, des modes de conduite de la vigne, des dates de début de maturation et du rapport fruit/feuille (Dai et al. 2011; Jackson et Lombard 1993). Il est probable qu'une partie des différences de TSS (Total Soluble Solids, mesure exprimée en °Brix des teneurs en sucres) à la récolte entre génotypes soit liée d'une part à des dates de véraison différentes d'autre part à des rapport fruit/feuille différents. L'objectif de mon étude était donc de proposer une méthode permettant de comparer des génotypes sur la base du métabolisme des baies elles-mêmes, c'est-à-dire en éliminant les effets de la date de véraison et du rapport fruit/feuille. Cette méthode de caractérisation doit permettre de déconstruire les processus conduisant à une teneur en sucres à une date donnée et de rechercher de QTLs pour des caractères élémentaires plutôt que sur un caractère intégratif.

Le travail a été décomposé en deux parties. La première a consisté à valider une approche méthodologique. Je me suis pour cela appuyé sur des suivis de l'accumulation des sucres chez les variétés parents Riesling (RI) et Gewurztraminer (GW) au cours de trois années consécutives. Dans la deuxième partie, j'ai utilisé la méthodologie proposée pour caractériser 120 génotypes descendants du croisement RIxGW au cours de trois saisons.

J'ai testé différents modèles permettant de décrire les cinétiques d'accumulation des sucres chez les parents. Le premier résultat, qui confirme l'intuition, est qu'il est obligatoire de comparer les cinétiques en prenant comme point de départ la date de véraison. Le décalage des dates de véraison est d'environ 10 jours entre les deux variétés, pour des dates de floraison similaires, ce qui conduit à des

écarts importants de TSS à date égale. Commencer les cinétiques à la véraison permet de partir du même niveau de sucres dans les baies pour les deux variétés (Figure 2 et tableau 3 de l'article).

J'ai ensuite comparé l'utilisation d'échelles temporelles en jours (DOY), en sommes de températures journalières moyennes base 10 °C (HS_Tmean) et en sommes de températures journalières maximales base 10 °C (HS_Tmax). L'utilisation des DOY produit toujours les meilleurs ajustements (R^2), mais au prix de l'utilisation de nombreux paramètres (Tableau 2), y compris un terme quadratique (X^2) et de coefficients dépendant du génotype. AIC et BIC sont des critères intégratifs de qualité des modèles qui tiennent compte de la vraisemblance du jeu de données observé selon ce modèle (likelihood) et du nombre de paramètres utilisés. Plus les valeurs de AIC ou BIC sont faibles, meilleur est le modèle. AIC et BIC sont toujours moins bons (plus élevés) avec l'échelle DOY qu'avec HS_Tmean ou HS_Tmax. Les modèles avec HS_Tmean ou HS_Tmax sont équivalents en 2007 et 2009 mais le modèle utilisant HS_Tmax est clairement meilleur en 2008. Par ailleurs, en utilisant les températures maximales, l'introduction d'un terme quadratique n'est jamais nécessaire, et la pente de réaction des deux génotypes n'est jamais significativement différente ($P\text{-value (Genotype} \times X) > 0,05$, tableau 2 de l'article). En d'autres termes, en utilisant l'échelle HS_Tmax l'augmentation des TSS est linéaire et suit une pente qui est la même pour les deux génotypes quelle que soit l'année. Il existe par contre un décalage significatif entre les cinétiques des deux variétés ainsi décrites en 2007 et 2008 ($P\text{-value (Genotype)} < 0,05$, tableau 2 de l'article). Nous pouvons conclure à ce stade que l'utilisation d'une échelle en sommes de températures, commençant à la véraison, est plus appropriée qu'une échelle en jours pour comparer les génotypes. Cette étude justifie le fait de comparer les TSS des variétés à une somme de température fixe après la véraison.

Dans un deuxième temps, j'ai essayé d'expliquer les différences observées entre RI et GW au prélèvement S2, 230 °C.d HS_Tmean, après véraison. J'ai développé une méthode basée sur les images numériques permettant de rapidement évaluer les surfaces foliaires. J'ai montré que les TSS à S2 sont bien expliquées par le rapport fruit/feuille au cours de la maturation des raisins (Figure 4 de l'article). Plus intéressant, la pente de la droite ($-1^\circ\text{Brix.kg}^{-1}.\text{m}^2$) est dans ces données indépendante de l'année et du génotype. L'écart de TSS entre RI et GW à la vendange, de l'ordre de 3 °Brix de plus pour le GW, est donc d'abord expliqué par les dates de véraison (2 °Brix) puis par la rapport fruit/feuille en général défavorable du RI (1 °Brix).

La deuxième partie du travail a consisté à décrire la variabilité génétique selon le protocole proposé pour les parents. Nous avons donc mesuré pour chaque génotype de la descendance les teneurs en sucres à la véraison (S1), à S2 (230 °C.d HS_Tmean après véraison), et à la récolte, qui a eu lieu le même jour pour toutes les parcelles (S3). Parallèlement nous avons enregistré les dates de véraison, les rendements et les surfaces foliaires. La variabilité des TSS à S3 dans la descendance est de l'ordre de 8-9 °Brix mais se réduit à 5-6 °Brix à S2. J'ai montré, comme pour les parents, l'existence dans

la population RlxGW d'un effet négatif du rapport fruit/feuille sur les teneurs en sucres à S2. Sous l'hypothèse que tous les génotypes aient le même rapport fruit/feuille, il reste malgré tout une variabilité génétique significative à S2 (Tableau 6 de l'article).

Cette étude a permis de montrer que les échelles en sommes de températures, surtout avec les températures maximales, étaient plus pertinentes que des échelles en jour pour décrire les cinétiques d'évolution des teneurs en sucres des raisins. La solidité de ce résultat reste à confirmer en étendant la gamme de situations: variétés, années, vignobles.

Prélever des baies après un cumul donné de températures depuis la véraison permet de comparer les variétés indépendamment de leur précocité de véraison. Effectuer des prélèvements N jours après véraison ne permet pas d'obtenir une comparaison fiable car, pour des véraisons tardives, les conditions climatiques pendant ces N jours seront en général moins favorables que pour les variétés précoces. De plus, cette méthode de prélèvement permet d'évaluer plus précisément l'effet du rapport fruit/feuille sur l'accumulation des sucres. Cette étude montre qu'en plus d'une variabilité génétique pour les dates de véraison, pour les rendements et pour les surfaces foliaires, il y a vraisemblablement une variabilité génétique pour le métabolisme des sucres au sein même des baies.

Deciphering the ability of different grapevine genotypes to accumulate sugar in berries

E. DUCHÊNE, V. DUMAS, N. JAEGLI and D. MERDINOGLU

UMR1131, INRA – University of Strasbourg, 28, rue de Herrlisheim – BP 20507, 68021 Colmar Cedex, France

Corresponding author: Mr Eric Duchêne, fax +33 389 224 933, email duchene@colmar.inra.fr

Abstract

Background and Aims: To analyse the genetic determinants of berry sugar content in grapevine varieties, a method that combined measurements of total soluble solids (TSS) from berries sampled at a fixed stage after veraison with data on the yield and the leaf area was tested.

Methods and Results: Over three seasons, differences in TSS at harvest for Riesling and Gewürztraminer grapes were explained by differences in the veraison dates and in the fruit-to-leaf ratios. TSS, yield and leaf area were also evaluated for 120 genotypes, which were progeny from a cross between Riesling and Gewürztraminer. Thermal timescales (degree-days) proved relevant for describing sugar accumulation in the parent varieties, and when berries were sampled at a fixed heat sum after veraison in the progeny, the genotypic variability of sugar content was considerably reduced compared with the measurements on the same date at the end of the season. A negative relationship between the fruit-to-leaf ratio and the sugar content was also detected in the progeny.

Conclusions: The evolution of TSS during berry ripening can be described using thermal timescales. Additionally, information on the yield and the leaf area needs to be integrated to analyse the behaviour of genotypes.

Significance of the Study: A method to characterize the genotypic effect on fruit sugar accumulation after eliminating the contribution of veraison dates and crop load was proposed.

Abbreviations

DAV days after veraison; DOY day of year; DMC dry matter content; ELA exposed leaf area; FC foliage coverage; FLR fruit-to-leaf ratio; GW Gewürztraminer; HS_Tmax cumulative heat sum since veraison calculated with daily maximum temperature, base 10°C; HS_Tmean cumulative heat sum since veraison calculated with daily mean temperature, base 10°C; RI Riesling; Tmax daily maximum temperature; Tmean daily mean temperature; TSS total soluble solids.

Keywords: degree-days, grapevine, sugar accumulation, yield, leaf area

Introduction

An increasing interest in sustainable viticulture and concerns about climate change have generated research programs worldwide that aim to breed new grapevine varieties that would require less pesticide use for their protection and that would be adapted to future climatic conditions. Modern molecular tools increase, on the one hand, our capacity to understand the genetic determinants of traits of interest and on the other hand the efficiency of breeding programs, with the use of marker assisted selection. Moreover, the availability of the grapevine whole genome sequence facilitates the identification of the genes underlying quantitative trait loci (QTL) and the testing of hypotheses about the molecular determinism of traits of interest. For example, QTL have already been detected for resistance to fungal diseases (Bellin et al. 2009, Marguerit et al. 2009, Blasi et al. 2011), for the developmental stages (Costantini et al. 2008, Duchêne et al. 2012), for terpenol content (Battilana et al. 2009, Duchêne et al. 2009) and for anthocyanin content (Fournier-Level et al. 2009) of berries. However, little is known about the genetic determinants of sugar and acids concentrations in grapevine berries. There is a large genetic variability among grapevine varieties and clones in terms of sugar content and acidity (Huglin and

Schneider 1998, Mercado-Martin et al. 2006, Dai et al. 2011); however, these parameters are generally measured at harvest, and they depend heavily on harvest dates, climatic conditions, fruit-to-leaf ratios (FLRs), and, more generally, training systems and canopy management (review in Jackson and Lombard (1993) and Dai et al. (2011)). Jackson and Lombard (1993) noted that 'Perhaps the most important feature to investigate is to find a common measure of maturity which is acceptable to most workers'. The same applies when comparing genotypes. When analysing the genetic variability of berry sugar content at harvest, it is necessary to consider the influence of phenology, crop load and leaf area before attempting to identify either QTL or genes specifically linked to sugar metabolism in the berry.

To analyse the effects of phenology on sugar accumulation, the veraison date (onset of ripening) is the most straightforward starting point. Currently, there are no consensus models for describing the ripening process and the kinetics of sugar accumulation. 'Calendar days' is the scale most commonly used to describe sugar accumulation in berries. However, Garcia de Cortazar-Atauri et al. (2009b) demonstrated that the dynamics of dry matter accumulation and the berry water content evolution in grapevine berries could be well described for different

genotypes using a thermal timescale expressed in 'degree-days'. Williams et al. (1985) and Sadras and Petrie (2011) also used thermal timescales to represent the evolution of berry ripening. In the present study, we compared different scales for describing the evolution of dry matter accumulation and TSS for two varieties over 3 years. We also sought to quantify the effects of different FLRs that resulted from variations in crop loads and leaf areas.

Riesling (RI) and Gewurztraminer (GW) are the two main varieties of grape cultivated in the Rhine valley. They differ not only in sugar content and acidity of the berries at harvest (Huglin and Schneider 1998) but also in phenology (Duchêne et al. 2010) and productivity (Huglin and Schneider 1998). In this study, we demonstrate that, over three growing seasons, the different veraison dates and FLRs of RI and GW explained the differences of sugar content observed on the same harvest date for a given vintage. Using the progeny from a RI × GW cross, we also show that the high genetic variability of sugar content observed on the same harvest date is reduced when the phenology and FLR are integrated in the analysis. Finally, we propose that the search for QTL related to sugar metabolism should be performed only after the effects of the phenology, yield level and leaf area have been eliminated.

Material and methods

Experimental conditions and meteorological data

In this study, we used a previously described vineyard experiment (Duchêne et al. 2010). Briefly, this experiment included 120 genotypes, progeny from a RI × GW cross, in a randomized five-block design (individual plots of two plants). Three plots of RI clone 49 and GW clone 643 were also planted within each block. These plots will be referred to as 'progeny experiment' plots. The two parent varieties were also present in the 'buffer rows' on each side of the experiment, which were planted to isolate the progeny from the neighbouring vineyards. The structure of the five-block design was reproduced in the buffer rows; at each side of the main experiment, six plants of each parent variety were available for each block.

A meteorological station next to the experiment provided temperature data. In the following text, we abbreviated daily mean temperature and daily maximum temperature as T_{mean} and T_{max} , respectively. Heat sums were calculated with T_{mean} and T_{max} using 10°C as base temperature and expressed in degree-days (°C.d). Although different base temperatures have been proposed in the literature (Moncur et al. 1989, Duchêne et al. 2010), our dataset was not appropriate for a reliable investigation of an optimal new value. Thus, we kept the threshold used in previous studies (Williams et al. 1985, Garcia de Cortazar-Atauri et al. 2009b, Sadras and Petrie 2011).

We introduced T_{max} as we had shown that this parameter was relevant for predicting grapevine developmental stages in our conditions (Duchêne et al. 2010). The minimum tempera-

ture was not tested because we were not aware of any model of plant growth or development using cumulative degree-days calculated with the minimum temperature above a threshold. Additionally, the average minimum temperature during ripening in our conditions is too close to the 10°C threshold to allow for significant heat summations (data in Duchêne et al. 2010).

Determination of the veraison dates

The veraison dates were calculated for each individual plot, after successive scorings, as the dates when 50% of the berries softened.

Yield level and leaf area assessment

The crop weight was recorded on three blocks for each individual plot on the following days: September 13 and 14, 2007; October 7, 2008; and September 17 and 21, 2009.

The exposed leaf areas (ELAs) were estimated according to the method of Carbonneau (1989). The training system used was a double Guyot with vertical trellising, with 1.65 m between the rows and 1.25 m between the plants. We considered that the geometry of the canopy was identical for all of the genotypes (1.4 m high, 0.3 m wide). We then estimated the porosity of the foliage curtain by taking digital pictures of the individual plots on a blue background and by calculating the proportion of foliage coverage (FC) using the public image analysis software ImageJ (<http://imagej.nih.gov/ij/>). Figure 1 contains an example of this analysis. ELA, expressed in m² per plant, was calculated as $\text{ELA} = 1.25 \times \text{FC} \times S$, where S is a constant calculated with the parameters of the canopy geometry, which is $S = 2.05$ in the present study. ELA were estimated on two blocks on the following dates: August 23 and 30, 2007; July 30, 2008; and July 30, 2009. In each year, only the genotypes with two fruiting arms per plant on two blocks were considered. Consequently, the number of genotypes of the progeny used in this work varied from year to year.

Berry sampling and sample preparation

Samples for both the 120 genotypes of the RI × GW progeny and for the parent varieties embedded in the experiment ('progeny experiment' plots) were obtained on at least two blocks at three dates. The first sampling (S1) was performed during the veraison process, and only green and hard berries were picked on grapes where some berries had already softened. The second sampling (S2) was realized independently for each individual plot when a heat sum of 230°C.d after veraison (T_{mean} , base 10°C) was reached. The last sampling (S3) was conducted the day before harvest. The harvest date, which was the same for all the genotypes of a given vintage, was defined according to the ripeness of the parent varieties and to the sanitary state of the grapes.

Two types of samples were used. Before TSS reached approximately 10°Brix, 50 berries were picked. At later ripening stages, a 200-mL box was filled with berries in the field.

For both types of samples, the berries were counted and then weighed in a graduated cylinder. Water was then added to

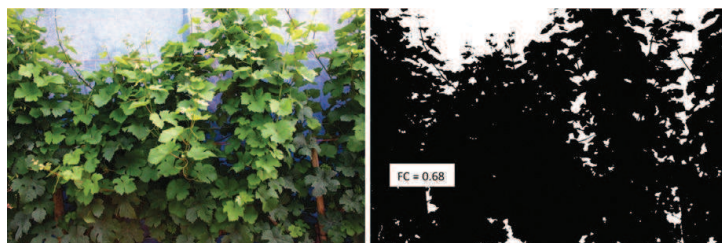


Figure 1. Estimation of foliage cover (FC). Left: original image. Right: original image converted to a binary black and white image with ImageJ and ratio (FC) of black pixels in the analysed surface. A fruit-to-leaf ratio (g/m²) was calculated for each plot as the ratio between yield (g/plant) and exposed leaf area (m²/plant).

the cylinder up to a fixed level (200 mL for example), which depended on the size of the samples. The volume of the berries was calculated as the difference between the chosen fixed volume and the volume of the water added. This later volume was directly read on the balance by considering that 1 mL of water weighed 1 g. The added water was then removed, and the berries were gently dried on absorbing paper.

To avoid organic acid precipitation during freezing, the berry juices had to be diluted. In the samples from early stages, before the grinding of all the berries with an electric blender, four volumes of distilled water equivalent to the volume of the berries were added to obtain a 5× final dilution.

In the later stages, distilled water was added to the juices extracted with an automatic sieve (Robot Coupe C80, Montceau-en-Bourgogne, France). The coefficient of dilution was adapted from 4× to 2× according to the advancement of ripening.

This methodology was used in 2007, 2008 and 2009.

In parallel, a complete survey of the ripening process for the parent varieties was conducted in the buffer rows to avoid bias because of oversampling in the main experiment. Samples were taken from two blocks at each side of the experiment ending a week, starting a few days before mid-veraison and ending at harvest. The samples were analysed as described earlier.

Determination of the glucose and fructose concentrations

In S1 samples, the glucose and fructose concentrations were obtained for green berries using an enzymatic method (Microdom, Taverny, France), performed on a Lisa 300 automatic analyser (Biocode Hycel, Le Rheu, France). Control solutions were included for every ten samples.

Total soluble solids and dry matter content

Total soluble solids were determined using a PAL-1 portable electronic refractometer (ATAGO, Tokyo, Japan). During the 2009 season, a relationship was established between TSS and dry matter content (DMC) of berries. Thirty-two samples from both RI and GW were taken at weekly intervals. The berries were weighed and then dried for 72 h at 80°C. Strong linear relationships were obtained ($R^2 = 0.81$ and $R^2 = 0.94$ for the whole berries of the early stages or pulp only, respectively). Finally, a polynomial relationship was used that included all of the data: $DMC (\%) = 0.0542 \times TSS^2 - 0.6593 \times TSS + 13.166$ ($R^2 = 0.97$). This non-linearity is probably a consequence of the development of the seeds.

Statistical analysis

Analyses of variance and analyses of covariance were performed using R software, version 2.12.2 (©R Foundation for Statistical Computing, 2011, Vienna, Austria). To compare models, the logarithm of the likelihood (logLik), Akaike Information Criterion (AIC) and Bayesian Information Criterion (BIC) were used. The AIC and BIC were calculated with logLik and took into account the number of parameters in the model: the smaller the value of AIC or BIC, the better the model. For the same likelihood, the model using fewer parameters is the preferred model.

Results

Veraison dates

Table 1 indicates that regardless of the year, veraison took place for RI approximately 10 days after the veraison of GW. Some variability in veraison dates between plots of the same variety was observed, and confidence intervals varied from ± 0.5 to 1.5 days according to the variety × year combination. Veraison dates were comparable between 2008 and 2009, but were approximately 2 weeks earlier in 2007.

Table 1. Veraison dates (50% of soft berries) for Riesling (RI) and Gewurztraminer (GW) and their 95% confidence intervals.

Year	Variety	Date	Lower limit	Upper limit
2007	GW	21/7	19/7	22/7
	RI	31/7	30/7	31/7
2008	GW	8/8	8/8	9/8
	RI	18/8	17/8	19/8
2009	GW	5/8	4/8	6/8
	RI	15/8	14/8	16/8

Kinetics of the berry DMC evolution and the sugar accumulation in the parent varieties

To explore ways for describing the ripening, we used all of the available data for DMC and tested the following different X scales: (i) the day of the year (days from 1 January, day of year (DOY)); (ii) the number of days after veraison (DAV); (iii) the heat sums calculated from the veraison with the daily Tmean (HS_Tmean); and (iv) the heat sums calculated from the veraison with the daily Tmax (HS_Tmax). For 2008, a complete graphical comparison of these scales is presented in Figure 2. This year was chosen because differences appeared between the use of HS_Tmean and HS_Tmax. The expected curves were likely to follow a sigmoid model, as proposed by Sadras et al. (2008). However, as our survey began only at the onset of the veraison process and as DMC never reached a clear plateau in our data, we only evaluated quadratic models of the form $Y = aX + bX^2 + c$, to test for linearity, as proposed by Garcia de Cortazar-Atauri et al. (2009b). The curves describing the evolution of DMC were not linear regardless of the scale used ($P(X^2) < 0.0005$ in all the cases), but interactions between the 'Genotype' factor and X^2 were never significant. With DOY, both the intercept and the slopes were different between the two genotypes ($P(\text{Genotype}) < 0.0001$, $P(\text{Genotype} \times \text{DOY}) < 0.0001$). When DMC was plotted against DAV, the intercept and the slopes were still different for the two genotypes ($P(\text{Genotype}) = 0.01$, $P(\text{Genotype} \times \text{DAV}) < 0.0001$). When expressed in degree-days from veraison, the curves for both varieties were identical with HS_Tmean (no significant Genotype effect or $\text{Genotype} \times \text{HS_Tmean}$ interactions at $P = 0.05$) and very close with HS_Tmax ($P(\text{Genotype}) = 0.41$ and $P(\text{Genotype} \times \text{HS_Tmax}) = 0.013$). Figure 3 shows that the degree-days scale was also appropriate for describing the increase of DMC in 2007 and 2009. DOY and HS_Tmean scales are not represented because they do not provide complementary information.

However, DMC is not a commonly used variable to describe sugar accumulation in grapevine, and from a practical point of view, the interest in early stages of berry development is limited. It is possible to demonstrate that the evolution of TSS was linear every year after $HS_Tmax = 200^\circ\text{C.d}$ when thermal time was expressed with Tmax (Table 2), which provides us with a very simple model of sugar accumulation without any interaction term. We propose this result after analyses of covariance performed to compare the models of TSS evolution. The following effects were tested: (i) 'Genotype' and 'Block' as fixed factors; (ii) DAV, HS_Tmean and HS_Tmax as covariables, and also with a quadratic term; and (iii) interactions between the 'Genotype' factor and the covariables (Table 2). The coefficient of determination (R^2) was always above 0.91 with DAV. Except for 2007, the likelihoods were lower with DAV than they were with thermal timescales, and the interactions were often significant. Thus, AIC

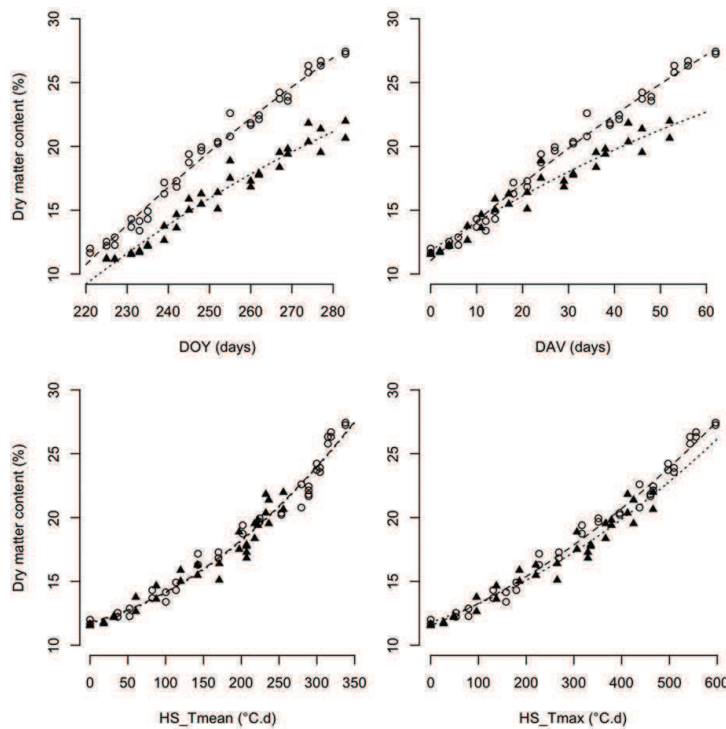


Figure 2. Change in berry dry matter in 2008 according to four scales. Empty circles, Gewurztraminer; filled triangles, Riesling; long-dashed lines, quadratic adjustments to Gewurztraminer data; short-dashed lines, quadratic adjustments to Riesling data. DAV, number of days after veraison; DOY, day of year; HS_Tmax, cumulative heat sums in degree-days base 10 calculated with Tmax since veraison; HS_Tmean, cumulative heat sums in degree-days base 10 calculated with Tmean since veraison.

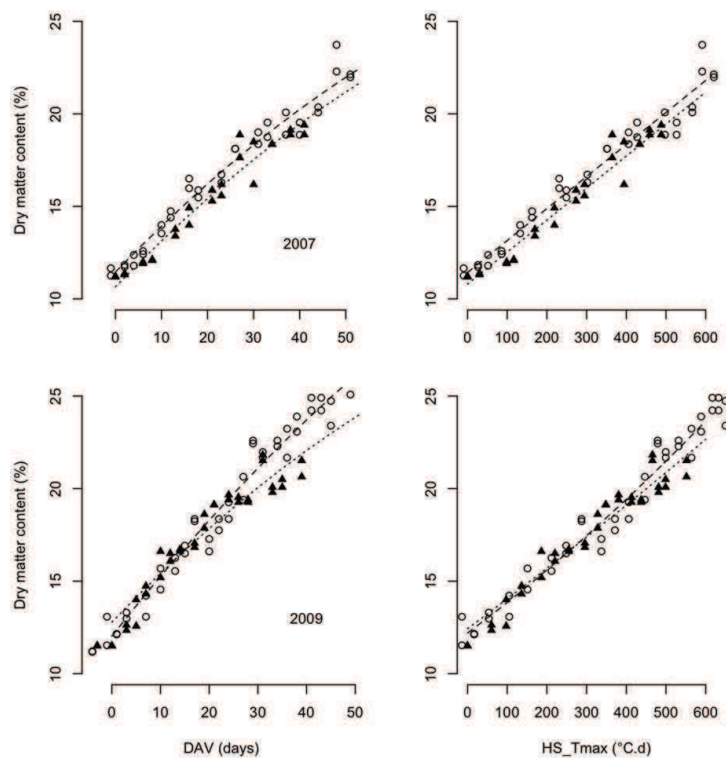


Figure 3. Change in berry dry matter in 2007 (top) and 2009 (bottom) according to two scales. Empty circles, Gewurztraminer; filled triangles, Riesling; long-dashed lines, quadratic adjustments to Gewurztraminer data; short-dashed lines, quadratic adjustments to Riesling data. DAV, number of days after veraison; HS_Tmax, cumulative heat sums in degree-days base 10 calculated with Tmax since veraison.

Table 2. Comparison of models using the number of days after veraison (DAV), cumulative heat sums calculated with mean (HS_Tmean) or maximum (HS_Tmax) temperatures, base 10°C, for describing the evolution of the total soluble solids of berries after HS_Tmax > 200°C.d (buffer rows plots).

Dataset	Statistical parameter	Covariable: X scale		
		DAV	HS_Tmean	HS_Tmax
2007	P-value (X)	0.05	<0.001	<0.001
	P-value (Genotype)	<0.001	0.01	0.04
	P-value (X ²)	0.05	ns	ns
	P-value (Genotype × X)	<0.001	0.04	ns
	P-value (Genotype × X ²)	<0.001	ns	ns
	P-value (Block)	ns	ns	ns
	logLik	-33.9	-34.6	-35.9
	AIC	81.9	79.2	79.7
	BIC	94.1	87.4	86.3
	Coefficient of determination R ²	0.95	0.89	0.88
2008	P-value (X)	<0.001	ns	<0.001
	P-value (Genotype)	0.08	<0.001	<0.001
	P-value (X ²)	<0.001	<0.001	ns
	P-value (Genotype × X)	ns	ns	ns
	P-value (Genotype × X ²)	<0.001	<0.001	ns
	P-value (Block)	0.001	0.004	<0.001
	logLik	-47.4	-36.9	-29.1
	AIC	108.9	85.7	68.2
	BIC	123.0	96.7	77.3
	Coefficient of determination R ²	0.97	0.95	0.96
2009	P-value (X)	<0.001	<0.001	<0.001
	P-value (Genotype)	0.009	ns	ns
	P-value (X ²)	ns	ns	ns
	P-value (Genotype × X)	ns	ns	ns
	P-value (Genotype × X ²)	ns	ns	ns
	P-value (Block)	ns	ns	ns
	logLik	-56.3	-45.5	-46.2
	AIC	120.6	97.1	98.3
	BIC	128.7	102.9	104.2
	Coefficient of determination R ²	0.91	0.90	0.90
3 years	logLik	-137.6	-117.0	-111.2

AIC, Akaike Information Criterion; BIC, Bayesian Information Criterion; logLik, Logarithm of the likelihood; ns, not significant at $P = 0.05$.

and BIC were always higher with DAV than with thermal time-scales, and we can conclude that 'thermal-time' models performed better (same accuracy but fewer parameters) than 'calendar days' models.

In 2007 and 2009, the models using HS_Tmean or HS_Tmax performed similarly. However, there was a clear advantage to the use of the maximum temperature in 2008 (higher likelihood, lower AIC and BIC). The overall logLik calculated by totalling the sum of the logLik of each year was higher for

Table 3. Mean values of berry composition for Riesling (RI) and Gewürztraminer (GW) at three sampling stages S1, S2 and S3 (explanations in the text) in plots within the RI × GW progeny experiment plots.

Year	Genotype	Glucose + fructose at S1 (g/L)	TSS at S2 (°Brix)	TSS calculated for HS_Tmax=350 °C.d (°Brix)	TSS at S3 (°Brix)
2007	RI	18.1	16.0	15.8	17.4
	GW	17.6	17.0*	17.0*	20.8**
2008	RI	13.3	17.2	17.7	19.7
	GW	10.7*	18.2	18.3	22.4**
2009	RI	12.9	18.6	18.7	19.3
	GW	14.6	18.3	18.4	21.9**

*,**Difference between varieties within each year were significant at $P = 0.05$ and $P = 0.001$, respectively. TSS, total soluble solids.

HS_Tmax. Additionally, the interactions with the genotype were never significant, which was not always the case with HS_Tmean (cf. 2007 and 2008). In other words, when HS_Tmax was used, the sugar accumulation rates were not significantly different for the two genotypes.

Differences in sugar accumulation between RI and GW

As expected, the differences between RI and GW for the same harvest date (S3 samples) in the progeny experiment plots were highly significant every year (Table 3) ranging from 2.6°Brix in 2009 to 3.4°Brix in 2007. However, these differences were also partly a consequence of later veraison dates for RI (Table 1).

The data from the S2 samples from the progeny experiment plots (Table 3) were consistent with the data from buffer rows plots in 2007 and 2009. In 2007, significant differences were detected, with RI having a lower TSS at S2 than GW (Tables 2, Table 3 and Figure 3). In 2009, differences were not significant neither in progeny experiment plots nor in buffer rows plots when the degree-days based model was used (Table 2, Table 3 and Figure 3). In 2008, the difference in TSS in S2 samples from progeny experiment plots was not significant at $P = 0.05$ ($P = 0.105$) (Table 3). However, a significant 'Genotype' effect was detected in buffer rows plots (Table 2). As HS_Tmax performed better in 2008 than HS_Tmean, we hypothesized that this lack of significance could be the result of a bias in the S2 sampling dates that were based on HS_Tmean=230°C.d. Using the models obtained from the buffer rows plots, we estimated the TSS adjusted at HS_Tmax=350°C.d for each individual plot. However, no significant statistical improvement was observed (Table 3).

These results indicate that the shift in the veraison dates caused a large part of the difference in the TSS of RI and GW at harvest. For example, in 2007, there was a 3.4°Brix difference measured at harvest, and a 1°Brix difference could already be observed at S2 (Table 3); thus, we can estimate that 2.4°Brix are due to the shift of the veraison dates. Accordingly, we can estimate this effect to be 1.7°Brix and 2.9°Brix in 2008 and 2009, respectively.

In green berries around veraison time (S1 samples), a significantly higher glucose + fructose concentration was measured in RI than was measured in GW in 2008. However, this small difference (+2.6 g/L) was not related to any subsequent sugar accumulation.

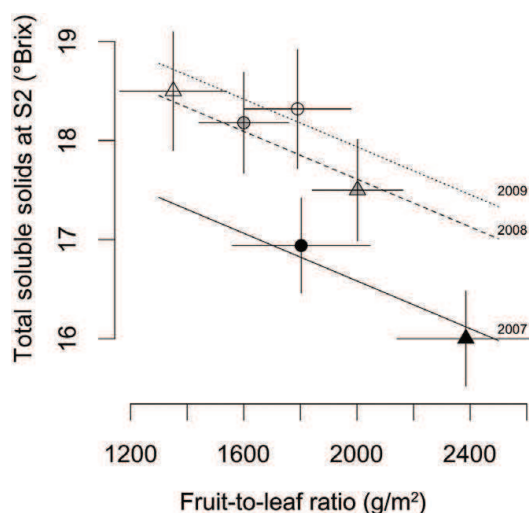
Relationship between the FLR and sugar accumulation

We analysed the differences in TSS and considered the possible effects of the FLR. Except in 2009, RI had a higher yield than GW,

Table 4. Yield, vegetative growth and fruit-to-leaf ratio for Riesling (RI) and Gewurztraminer (GW) (progeny experiment plots).

Year	Variety	Yield (g/plant)	Exposed leaf area (m ² /plant)	Fruit-to-leaf ratio (g/m ²)
2007	RI	5363*	2.24*	2385*
	GW	3765	2.09	1803
2008	RI	3935**	1.98*	2002*
	GW	2779	1.75	1600
2009	RI	2843	2.13*	1351*
	GW	3321	1.83	1790

*,**Difference between varieties within each year are significant at $P = 0.05$ and $P = 0.01$, respectively.

**Figure 4.** Relationship between fruit-to-leaf area ratio and total soluble solids measured 230°C.d (Tmean) after veraison. Triangles, Riesling; circles, Gewurztraminer; vertical and horizontal bars, standard errors. Black, 2007; grey, 2008; white, 2009. Lines represent the predicted values with a statistical model (cf. Table 5).

and RI always had a higher ELA (Table 4). As a result, the FLR was significantly different between the two genotypes every year. The ratio was favourable to sugar accumulation (i.e. lower) for GW in 2007 and 2008 but favourable for RI in 2009.

Figure 4 depicts a negative relationship between the FLRs and TSS values measured at S2. An analysis of covariance indicated that the interaction 'Year $\times$ FLR' was not significant, i.e. the slopes were not significantly different for the 3 years (Table 5). Moreover, no significant 'Genotype' or 'Genotype $\times$ FLR' effects were detected, which indicates that the relationship did not depend on the variety. Total soluble solids at S2 can be fully explained by the FLR and by a 'Year' effect. The differences between years can be the consequence of nonstandardized stages for the assessment of leaf areas, as well as a consequence of variations in the photosynthetic activities (light, temperature and water availability) between growing seasons.

Table 5. Analysis of covariance for the relationship between total soluble solids at S2 and the fruit-to-leaf ratio (FLR).

Effect tested	Df	F-value	P-value	Coefficients $\pm$ standard errors
Year	2	7.4	0.003	2007: 19.0 ± 0.7 2008: 20.0 ± 0.6 2009: 20.3 ± 0.6
FLR	1	13.1	0.001	-1.21 ± 0.33
Genotype	1	0.84	0.37	–
Year $\times$ FLR interaction	2	0.50	0.61	–
Genotype $\times$ FLR interaction	1	0.88	0.36	–

†°Brix. ‡°Brix/kg m². Df, degrees of freedom.

Adjusted for the variations of FLR, differences between the two varieties at S2 would be within the range of the experimental error in the TSS determination (Figure 4). At this point, we can conclude that differences in TSS observed in RI and GW at harvest time were primarily due to differences in the onset of veraison and in the FLR.

Analysis of sugar accumulation in a RI $\times$ GW progeny

The approach used for RI and GW was tested on 120 genotypes from a RI $\times$ GW progeny. The range of genetic variability of TSS at the same harvest date was very high, approximately 8–9°Brix, regardless of the year (Table 6). Sampling the berries at 230°C.d (Tmean) after veraison for each genotype (S2) reduced this range to approximately 5–6°Brix (Table 6, Figure 5). Additionally, this sampling did not inflate the residual standard error, and it led to a lower 'Genotype' effect according to the F -values in the analysis of variance (Table 6). Table 6 also indicates that yield, ELA and FLR segregated every year in this progeny. However, the variations in yields among the genotypes were far more important than variations in ELA. Yield was the primary driver creating differences in the FLR.

In parallel, an analysis of covariance demonstrated that the yield and the FLRs were negatively correlated with the TSS at S2 (Table 7). In 2008, F -values were lower, residual standard errors were higher, and the slopes were different when compared with 2007 and 2009. Interestingly, the coefficients describing the FLR effect on TSS in 2007 and 2009 in the progeny (Table 7) were in the same range as the coefficient calculated for the parents with different growing seasons (Table 5).

Because the variations of TSS at S2 could be explained by differences in FLR of the parent varieties, and because FLR also had a significant effect within the RI $\times$ GW progeny, we were able to use the coefficient observed for RI and GW to calculate the expected shift in TSS at S2 for each plot of the progeny if FLR of this plot was equal to the mean FLR of the progeny, thus leading to a new 'adjusted TSS' value. The objective of this 'adjusted TSS' was to compare TSS between genotypes as if all of them had the same fruit-to-leaf ratio.

The 'Genotype' effects for this adjusted TSS were significant at $P = 0.05$ in every year (Table 6), indicating that a genetic variability for sugar accumulation existed in this progeny, independently from phenological stages and FLRs. However, the 'Genotype' F -value for the adjusted TSS was clearly lower than the F -value calculated for the raw TSS at S2 only in 2007 (Table 6, Figure 5). QTL detection will allow concluding whether calculating an adjusted TSS was relevant for 2008 and 2009.

Table 6. Analysis of variance with the ‘Genotype’ effect in the model for the RI × GW progeny.

Variable explained	Year	Min	Mean	Max	Df	RSE	F-value
Total soluble solids at S3 (°Brix)	2007	15.6	20.4	23.8	74	0.77	11.2***
	2008	17.5	21.5	25.1	90	0.93	6.4***
	2009	17.9	21.8	26.8	98	0.58	13.2***
Total soluble solids at S2 (°Brix)	2007	15.0	17.8	20.5	73	0.70	4.5***
	2008	15.3	18.4	21.3	90	0.88	3.6***
	2009	16.7	19.4	21.7	98	0.87	2.5***
Yield (g/plant)	2007	206.3	2641.1	6556.3	74	599.1	9.4***
	2008	187.5	2134.5	5562.5	91	527.6	8.8***
	2009	300.0	2087.3	4412.5	98	601.8	3.9***
Exposed leaf area (m ² /plant)	2007	1.58	2.13	2.41	74	0.17	1.5*
	2008	1.37	1.83	2.24	90	0.18	1.6*
	2009	1.14	1.77	2.16	98	0.22	1.8**
Fruit-to-leaf ratio (g/m ²)	2007	90.5	1251.9	3082.5	74	267.6	10.8***
	2008	94.8	1232.7	3040.0	91	316.6	8.5***
	2009	155.0	1200.6	2653.0	98	303.2	5.8***
TSS at S2 adjusted for the fruit-to-leaf ratio (°Brix)	2007	15.6	18.1	20.4	73	0.74	2.1***
	2008	15.7	18.3	21.5	90	0.92	3.5***
	2009	17.2	19.3	21.4	98	0.81	2.4***

*, **, ***Significant at $P = 0.05$, $P = 0.01$ and $P = 0.001$, respectively. Df, degrees of freedom of the RSE. RSE, residual standard error.

Table 7. Analysis of covariance for the relationship between total soluble solids at S2 explained by fruit-to-leaf ratio (FLR) or yield in the RI × GW progeny. A ‘Block’ effect was significant at $P = 0.05$ in all the cases.

Year	Effect tested	F-value for the effect tested	Residual standard error (degrees of freedom)	Slope ± standard error
2007	FLR	105.4*	0.90 (183)	$-1.03 \pm 0.10^\dagger$
	Yield	87.2*	0.92 (187)	-0.45 ± 0.05
2008	FLR	11.5*	1.33 (206)	-0.45 ± 0.13
	Yield	11.3*	1.33 (206)	-0.26 ± 0.08
2009	FLR	56.6*	1.08 (214)	-0.94 ± 0.12
	Yield	61.6*	1.07 (214)	-0.59 ± 0.07

† °Brix/kg m² for FLR, °Brix/kg for yield. *Significant at $P = 0.001$.

Discussion

Kinetics of sugar accumulation for RI and GW

The idea that grapevine berry ripeness is under the influence of temperature can be traced back as far as 1939 (Winkler and Williams 1939). Several climatic indices based on temperature have been developed to determine whether an environment is warm enough for grapevine cultivation and which varieties will be better adapted (Winkler et al. 1974, Huglin 1983, Hall and Jones 2009). There is an abundant literature on temperature-based models for the prediction of budbreak, flowering and veraison (Garcia de Cortazar-Atauri et al. 2009a; Duchêne et al. 2010, Parker et al. 2011). However, there have been few attempts to describe the effects of temperature on sugar accumulation presumably because berry ripening is a mixture

of growth and developmental processes. Warm conditions accelerate berry ripening (Jackson and Lombard 1993), and degree-days scales have already been used to describe TSS increase (Williams et al. 1985, Sadras and Petrie 2011). As observed in our case, the evolution of TSS values according to heat sums was linear in these previous studies, and TSS sometimes reached a plateau (Sadras et al. 2008). It is usually accepted that veraison is the starting point for the kinetics of sugar accumulation. With an approximate difference of 10 days in the veraison dates between RI and GW (Table 1, Figure 2), the curves would never be comparable for the two varieties if, for example, the starting point was flowering, which occurs within a 1–2 days range for the two varieties (Duchêne et al. 2010). In agreement with the findings of Sadras and Petrie (2011), our study demonstrated the importance of the ‘onset’ date of sugar accumulation on TSS at harvest. In this study, we confirmed the usefulness of the degree-days concept because models using temperature require fewer parameters and have a higher likelihood (Table 2) than models using days. In particular, we demonstrated that when described with degree-days, evolutions were linear after a certain stage. The availability of sugar for berries during the ripening process is dependent on the photosynthetic activity of the plants and on carbon allocation priorities (Dai et al. 2010). Solar radiation, temperature, water availability and the mineral status of the plants determine the photosynthetic potential, and the observed relationship between heat sums and sugar accumulation can be interpreted as the result of the integration of both temperature and solar radiation effects. We demonstrated that it is more relevant to use the maximum temperature rather than the mean temperature when describing the kinetic of sugar accumulation (Table 2). Using 30 years of daily climatic data for the dates between August 15 and September 15 in Colmar (which is located 15 km south of the present experiment), the coefficient of determination R^2 between solar radiation and Tmean is 0.09, whereas it is equal to 0.34 with Tmax. In our conditions, Tmax

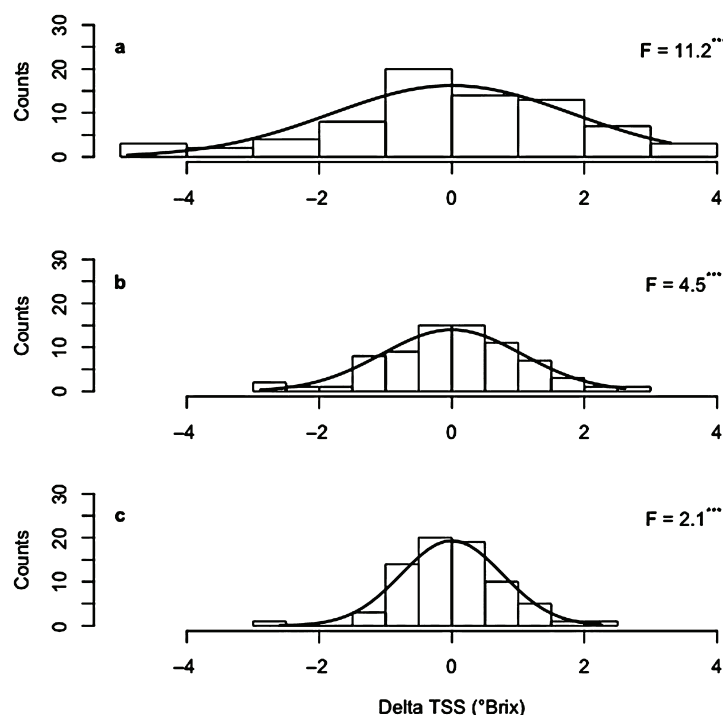


Figure 5. Histograms of the total soluble solids (TSS) distribution in the RI $\times$ GW progeny (120 genotypes, 2007). TSS values were centred on the mean of the population to facilitate comparisons. Lines represent the adjusted normal curves. (a) At harvest; (b) at S2 (HS_Tmean=230°C.d); (c): values at S2 adjusted for a common fruit-to-leaf ratio (mean of the progeny) with the slope observed for Riesling and Gewurztraminer (Table 5).

better reflects the daily potential of photosynthesis than Tmean during the ripening period. Moreover, some ecophysiological models have also given a higher weight to Tmax than to Tmean (Huglin 1983, Bindi et al. 1997). In 2007 and 2009, the likelihoods of models using maximum or mean temperatures were not different, which was not the case in 2008 (Table 2). Figure 6 indicates that HS_Tmean and HS_Tmax were not correlated after a certain date in 2008. The shift appeared between September 14 and October 5, when the minimum temperatures varied between 2.1 and 9.5°C, the mean temperatures varied between 8.9 and 13.3°C and the maximum temperatures varied between 12.4 and 18.4°C. The very low accumulation of degree-days calculated with mean temperatures during this period presumably did not reflect the potential photosynthetic activity. Such a cool period was not observed in 2007 and 2009.

Compared with the mean temperatures, the maximum temperatures better reflect diurnal temperatures and solar radiation, but the TSS evolution during ripening should be ultimately described by physiological models that integrate photosynthetic activity, carbon allocation and berry growth on a daily basis. Such models are currently under development (Dai et al. 2009). Our goal in this study was not to fit such a model but to find a convenient way to compare sugar accumulation of plants of different genotypes. Finally, we propose that when comparing the sugar content of different genotypes, the most appropriate samples are berries picked after a fixed heat sum after veraison, such as 350°C.d calculated with Tmax with a 10°C base temperature.

FLR

In addition to the phenological stages, FLR was another important determinant of final TSS; this has already been demonstrated in previous studies (Carbonneau et al. 1977, Murisier

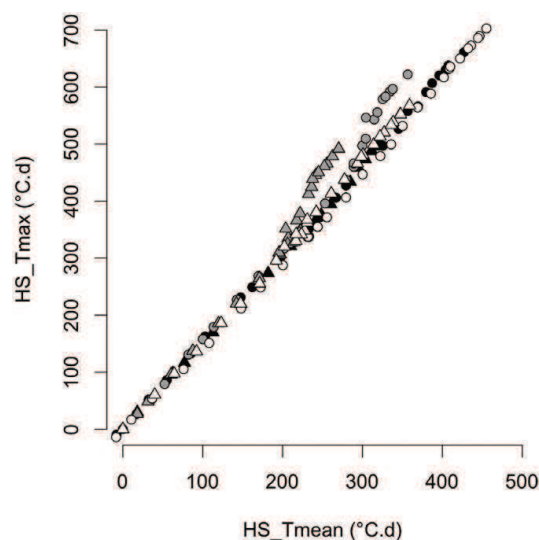


Figure 6. Relationship between heat sums calculated with mean (HS_Tmean) and maximum (HS_Tmax) temperatures (start at veraison, base 10°C). Triangles, Riesling; circles, Gewurztraminer; black, 2007; grey, 2008; white, 2009. (●) Gw-07; (▲) Ri-07; (○) Gw-08; (△) Ri-08; (○) Gw-09; (△) Ri-09.

and Zufferey 1997, Kliewer and Dokoozlian 2005, Petrie and Clingeleffer 2006, Dai et al. 2009). However, to our knowledge, in the present study, we provide the first example where the effects of different FLRs are explicitly reported for the same stage

after veraison. This method allowed us to distinguish between differences because of phenology and differences because of FLR. Significant differences in TSS during ripening were detected in RI and GW when sampling was conducted using a degree-days approach in both progeny experiment and buffer rows plots in 2007 (Tables 2,3) and in buffer rows plots in 2008 (Table 2). In 2008, no significant genotype effect was detected in the progeny experiment plots (Table 3). Nonetheless, we know that in 2008, a sampling procedure based on HS_Tmean was less appropriate than a procedure based on HS_Tmax. In this study, we showed that TSS at S2 was negatively correlated with FLR, with a slope independent of both the year and the genotype (Table 5).

A decrease of $-1^{\circ}\text{Brix/kg m}^2$ (Tables 5, 7) appears to be a reasonable figure to estimate the effect of the FLR on TSS at S2. To observe a significant difference on TSS, i.e. approximately 1°Brix in our experiment, the crop load for 2 m^2 of ELA has to vary from 2 to 4 kg. In other words, although the FLR undoubtedly affects sugar accumulation, the variations in crop load must be important in leading to significant effects on TSS. This finding could explain why the results of experiments manipulating the FLR are not always consistent (Dai et al. 2011).

From the data on RI and GW, we concluded that lower TSS values at harvest for RI (Table 3) were due to later veraison dates, which led to berry ripening under less favourable conditions than for GW. However, in 2007 and 2008, the lower TSS values at harvest for RI were also due to a higher fruit load compared with the leaf area.

Genetic variability

The genetic variability of TSS at harvest is well documented for varieties (Huglin and Schneider 1998) and clones (Mercado-Martin et al. 2006), and such variability has also been observed in segregating progenies (Liu et al. 2007). A portion of this variability is related to differences in developmental stages. Indeed, genotypes with late veraison dates, such as Grenache or Ugni Blanc (Duchêne et al. 2010), never reach satisfactory ripeness levels in our conditions (Huglin and Schneider 1998). In this study, we demonstrated that sampling at a fixed heat sum after veraison considerably reduced the genetic variability observed in a progeny (Table 6, Figure 5). Using the 3 years of data, we also demonstrated that the variability of TSS at S2 was related to variations in the FLRs among offspring (Table 7). A relationship between TSS and the crop load was also found among different clones of Pinot noir (Mercado-Martin et al. 2006). However, the slope of response in the progeny was different in 2008 when compared with 2007 and 2009. This difference presumably occurred because of the limited correlation between HS_Tmean and HS_Tmax in 2008, which was previously discussed for the parent varieties. The stability of the rate of decrease of TSS at S2 in response to increasing FLRs (approximately $-1^{\circ}\text{Brix/kg m}^2$ for the parents over 3 years and for the progeny in 2007 and 2009) should be further investigated.

However, the genetic differences in sugar accumulation may not only be due to the phenology, crop load or leaf area. Dai et al. (2009), using a dynamic model to describe the hexose concentration in ripening berries, showed that a k coefficient, related to the noncarbohydrate use of carbon imported in berries, was significantly different between Merlot and Cabernet Sauvignon. The feasibility of determining such parameters for a complete progeny is under assessment.

The final validation of our approach on a progeny will be QTL detection. We expect that searching for QTL for TSS at S2 or TSS at S2 adjusted for the FLR will provide us with QTL independent from phenology, yield component or vegetative

development yet closely related to the sugar metabolism of the berries.

Conclusion

This study demonstrated that thermal timescales, especially when calculated with maximum temperatures, are relevant for comparing the kinetics of sugar accumulation in berries between genotypes, providing that heat summations start at veraison. Additional studies are needed to determine the usefulness of such an approach for comparing different plots or different years. Sampling berries at a determined heat sum after veraison is a strategy that allows the comparison of sugar concentrations in the berries independently of the timing of veraison as well as a better detection of the effects of varying FLRs. This approach can be considered as a step towards a better understanding of the relationships between FLR and sugar content, as well as a useful way to study the genetic determinants of sugar accumulation in segregating progeny. Integrating the effects of phenology, crop load and leaf area provides a new method for detecting chromosome regions that are directly related to sugar metabolism of grapevine berries.

Acknowledgements

We thank Christophe Schneider for critical reading of the manuscript. This work was partially financed by FranceAgrimer.

References

- Battilana, J., Costantini, L., Emanuelli, F., Sevinci, E., Segala, C., Moser, S., Velasco, R., Versini, G. and Grando, M.S. (2009) The 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate synthase gene co-localizes with a major QTL affecting monoterpene content in grapevine. *Theoretical and Applied Genetics* **118**, 653–669.
- Bellin, D., Peressotti, E., Merdinoglu, D., Wiedemann-Merdinoglu, S., Adam-Blondon, A.F., Cipriani, G., Morgante, M., Testolin, R. and Di Gasparo, G. (2009) Resistance to *Plasmopara viticola* in grapevine 'Bianca' is controlled by a major dominant gene causing localised necrosis at the infection site. *Theoretical and Applied Genetics* **120**, 163–176.
- Bindi, M., Miglietta, F., Gozzini, B., Orlandini, S. and Seghi, L. (1997) A simple model for simulation of growth and development in grapevine (*Vitis vinifera* L.). I. Model description. *Vitis* **36**, 67–71.
- Blasi, P., Blanc, S., Wiedemann-Merdinoglu, S., Prado, E., Rühl, E., Mestre, P. and Merdinoglu, D. (2011) Construction of a reference linkage map of *Vitis amurensis* and genetic mapping of Rpv8 a locus conferring resistance to grapevine downy mildew. *Theoretical and Applied Genetics* **123**, 43–53.
- Carbonneau, A. (1989) L'exposition utile du feuillage : définition du potentiel du système de conduite. In: *Systèmes de conduite de la vigne et mécanisation*. OIV: Paris, pp. 13–33.
- Carbonneau, A., Leclair, P., Dumartin, P., Cordeau, J. and Roussel, C. (1977) Etude de l'influence chez la vigne du rapport partie végétative/partie productrice sur la production et la qualité des raisins. *Connaissance Vigne et Vin* **11**, 105–130.
- Costantini, L., Battilana, J., Lamaj, F., Fanizza, G. and Grando, M.S. (2008) Berry and phenology-related traits in grapevine (*Vitis vinifera* L.): from quantitative trait loci to underlying genes. *BMC Plant Biology* **8**, 38.
- Dai, Z.W., Vivin, P., Robert, T., Milin, S., Li, S.H. and Genard, 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**, 527–540.
- Dai, Z.W., Vivin, P., Barrieu, F., Ollat, N. and Delrot, S. (2010) Physiological and modelling approaches to understand water and carbon fluxes during grape berry growth and quality development: a review. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **16**, 70–85.
- Dai, Z.W., Ollat, N., Gomes, E., Decroocq, S., Tandonnet, J.P., Bordenave, L., Pieri, P., Hilbert, G., Kappel, C., Van Leeuwen, C., Vivin, P. and Delrot, S. (2011) Ecophysiological, genetic and molecular causes of variation in grape berry weight and composition: a review. *American Journal of Enology and Viticulture* **62**, 413–425.
- Duchêne, E., Butterlin, G., Claudel, P., Dumas, V., Jaegli, N. and Merdinoglu, D. (2009) A grapevine (*Vitis vinifera* L.) deoxy-d-xylulose synthase gene colocalizes with a major quantitative trait loci for terpenol content. *Theoretical and Applied Genetics* **118**, 541–552.

- Duchêne, E., Huard, F., Dumas, V., Schneider, C. and Merdinoglu, D. (2010) The challenge of adapting grapevine varieties to climate change. *Climate Research* **41**, 193–204.
- Duchêne, E., Butterlin, G., Dumas, V. and Merdinoglu, D. (2012) Towards the adaptation of grapevine varieties to climate change: QTLs and candidate genes for developmental stages. *Theoretical and Applied Genetics* **124**, 623–635.
- Fournier-Level, A., Le Cunff, L., Gomez, C., Doligez, A., Ageorges, A., Roux, C., Bertrand, Y., Souquet, J.M., Cheynier, V. and This, P. (2009) Quantitative genetic bases of anthocyanin variation in grape (*Vitis vinifera* L. ssp. sativa) berry: a quantitative trait locus to quantitative trait nucleotide integrated study. *Genetics* **183**, 1127–1139.
- García de Cortazar-Atauri, I., Brisson, N. and Gaudillere, J.P. (2009a) Performance of several models for predicting budburst date of grapevine (*Vitis vinifera* L.). *International Journal of Biometeorology* **53**, 317–326.
- García de Cortazar-Atauri, I., Brisson, N., Ollat, N., Jacquet, O. and Payan, J.C. (2009b) Asynchronous dynamics of grapevine (*Vitis vinifera*) maturation: experimental study for a modelling approach. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin* **43**, 83–97.
- Hall, A. and Jones, G.V. (2009) Effect of potential atmospheric warming on temperature-based indices describing Australian winegrape growing conditions. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **15**, 97–119.
- Huglin, P. (1983) Possibilités d'appréciation objective du milieu viticole. *Bulletin de l'OIV* **634**, 823–833.
- Huglin, P. and Schneider, C. (1998) *Biologie et écologie de la vigne* (Lavoisier: Paris).
- Jackson, D.I. and Lombard, P.B. (1993) Environmental and management practices affecting grape composition and wine quality – a review. *American Journal of Enology and Viticulture* **44**, 409–430.
- Kliewer, W.M. and Dokoozlian, N.K. (2005) Leaf area/crop weight ratios of grapevines: influence on fruit composition and wine quality. *American Journal of Enology and Viticulture* **56**, 170–181.
- Liu, H., Wu, B., Fan, P., Xu, H. and Li, S. (2007) Inheritance of sugars and acids in berries of grape (*Vitis vinifera* L.). *Euphytica* **153**, 99–107.
- Marguerit, E., Boury, C., Manicki, A., Donnat, M., Butterlin, G., Nemorin, A., Wiedemann-Merdinoglu, S., Merdinoglu, D., Ollat, N. and Decroocq, S. (2009) Genetic dissection of sex determinism, inflorescence morphology and downy mildew resistance in grapevine. *Theoretical and Applied Genetics* **118**, 1261–1278.
- Mercado-Martin, G.I., Wolpert, J.A. and Smith, R.J. (2006) Viticultural evaluation of eleven clones and two field selections of Pinot noir grown for production of sparkling wine in Los Carneros, California. *American Journal of Enology and Viticulture* **57**, 371–376.
- Moncur, M.W., Rattigan, K., Mackenzie, D.H. and McIntyre, G.N. (1989) Base temperatures for budbreak and leaf appearance of grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture* **40**, 21–27.
- Murisier, F. and Zufferey, V. (1997) Rapport feuille-fruit de la vigne et qualité du raisin. *Revue Suisse de Viticulture, Arboriculture et Horticulture* **29**, 355–362.
- Parker, A.K., García de Cortazar-Atauri, I., van Leeuwen, C. and Chuine, I. (2011) General phenological model to characterise the timing of flowering and veraison of *Vitis vinifera* L. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **17**, 206–216.
- Petrie, P.R. and Clingeleffer, P.R. (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.
- Sadras, V.O. and Petrie, P.R. (2011) 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.
- Sadras, V.O., Collins, M. and Soar, C.J. (2008) Modelling variety-dependent dynamics of soluble solids and water in berries of *Vitis vinifera*. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **14**, 250–259.
- Williams, D.W., Williams, L.E., Barnett, W.W., Kelley, K.M. and Mckenry, M.V. (1985) Validation of a model for the growth and development of the Thompson seedless grapevine. II. Phenology. *American Journal of Enology and Viticulture* **36**, 283–289.
- Winkler, A.J. and Williams, W.O. (1939) The heat required to bring Tokay grapes to maturity. *Proceedings of the American Society of Horticultural Science* **37**, 650–652.
- Winkler, A.J., Cook, J.A., Kliewer, W.M. and Lider, L.A. (1974) *General viticulture* (University of California Press: Berkeley).

Manuscript received: 18 November 2011

Revised manuscript received: 22 March 2012

Accepted: 18 April 2012

3. Actualisation

a) Cinétique d'accumulation des sucres et effets du rapport fruit/feuille

Depuis la publication de cet article en 2012, il n'y a pas eu d'avancées marquantes dans la modélisation de l'accumulation des sucres dans les baies de raisin. L'utilisation des sommes de températures comme échelle de temps ne se généralise pas. Pourtant, elles permettent des comparaisons pertinentes. Ainsi, Sadras et Moran (2013) étudient l'effet de deux régimes de températures au vignoble sur la phénologie de la vigne et l'accumulation des sucres grâce à un dispositif « open top chambers ». Le dispositif comprenait plusieurs variétés, régimes hydriques, niveaux de rapport fruit/feuille. Avec une échelle en jours calendaires, les courbes d'accumulation des sucres « control » et « heated » ne se superposent pas: l'accumulation est plus rapide quand il fait chaud. Par contre, avec une échelle en sommes de températures, les courbes se confondent et ne sont pas statistiquement différentes dans 14 situations sur 16. Une telle analyse permet de bien mettre en évidence les situations où l'augmentation de la température a eu des effets autres que la seule accélération de l'accumulation des sucres.

L'augmentation des teneurs en alcool des vins suite au réchauffement climatique conduit à un regain d'intérêt pour des études de l'effet du rapport fruit/feuille sur l'accumulation des sucres. Les résultats ne sont pas surprenant: en augmentant le rapport fruit/feuille, on diminue les teneurs en sucres à la récolte (Filippetti et al. 2015; Gatti et al. 2015; Palliotti et al. 2013; Stoll et al. 2010). Ces résultats sont cependant relativement décevants car ils sont toujours descriptifs et ne cherchent pas à établir des lois permettant de prédire quantitativement les conséquences d'effeuillage ou de suppression des grappes. On notera également dans ces publications qu'il faut appliquer des réductions de feuillage conséquentes pour mettre en évidence des effets sur les teneurs en sucres.

b) Variabilité génétique et recherche de QTLs

En matière de description de la variabilité génétique pour l'accumulation des sucres, Chen et al. (2015) montrent une ségrégation pour les teneurs en sucres dans une descendance de croisement mais leur méthodologie de prélèvement est peu explicite (maturité déterminée par la couleur des pépins?) et ils n'intègrent pas d'éventuels effets de la date de véraison ou du rapport fruit/feuille. Mes travaux restent donc originaux à ce jour.

Mon objectif initial était de proposer une méthode permettant d'identifier des QTLs de processus élémentaires pour l'accumulation des sucres. J'ai montré l'importance de la date de véraison, et j'ai identifié des QTLs et des gènes candidats pour la phénologie (Duchêne et al. 2012b). Nous savons qu'il est également possible de détecter des QTLs pour les composantes du rendement telles que le nombre d'inflorescences par rameau (Doligez et al. 2010; Fanizza et al. 2005; Grzeskowiak et al. 2013) ou

le poids d'une baie (Doligez et al. 2013; Doligez et al. 2002). La démarche utilisée ne sera effectivement validée que si des QTLs qui ne soient liés ni aux stades de développement, ni aux composantes du rendement sont mis en évidence. L'analyse génétique de ces données et la recherche de QTLs seront donc déterminantes pour valider la pertinence de l'approche proposée.

J'ai donc procédé à cet exercice en utilisant la carte génétique consensus construite avec les marqueurs microsatellites. La figure IV.1 montre les résultats de détection de QTLs pour les TSS évaluées selon trois méthodes pour l'ensemble du jeu de données des trois années. Les groupes de liaison 7, 14, 16 et 18 sont représentés car nous y avons identifié des QTLs pour les durées débourrement-floraison et floraison-véraison. Quand on considère les TSS à S₃, un QTL significatif est mis en évidence sur LG 14, qui porte un QTL pour la durée débourrement-floraison (voir chapitre III.B). Si l'on prend les TSS à S₂, mesurées 230 °Cd après véraison, ce QTL disparaît mais un QTL sur LG 8 apparaît. En tenant compte du rapport fruit/feuille (S₂ ajusté), ce QTL est renforcé. Ce résultat valide donc mon approche et montre que l'on peut mettre en évidence des déterminants génétiques de l'accumulation des sucres qui soient indépendants des stades et du rapport fruit/feuille. Le QTL détecté sur le LG 8 n'explique toutefois que 19 % de la variance totale et l'effet des différentes combinaisons alléliques est limité à 1 °Brix (0,7 % v/v d'alcool), ce qui est insuffisant pour maîtriser les teneurs en alcool des vins dans le futur. Ce travail doit être poursuivi notamment en utilisant les cartes génétiques construites à partir des données de SNPs de la puce Illumina® Infinium (Le Paslier 2013), qui sont disponibles pour la population étudiée.

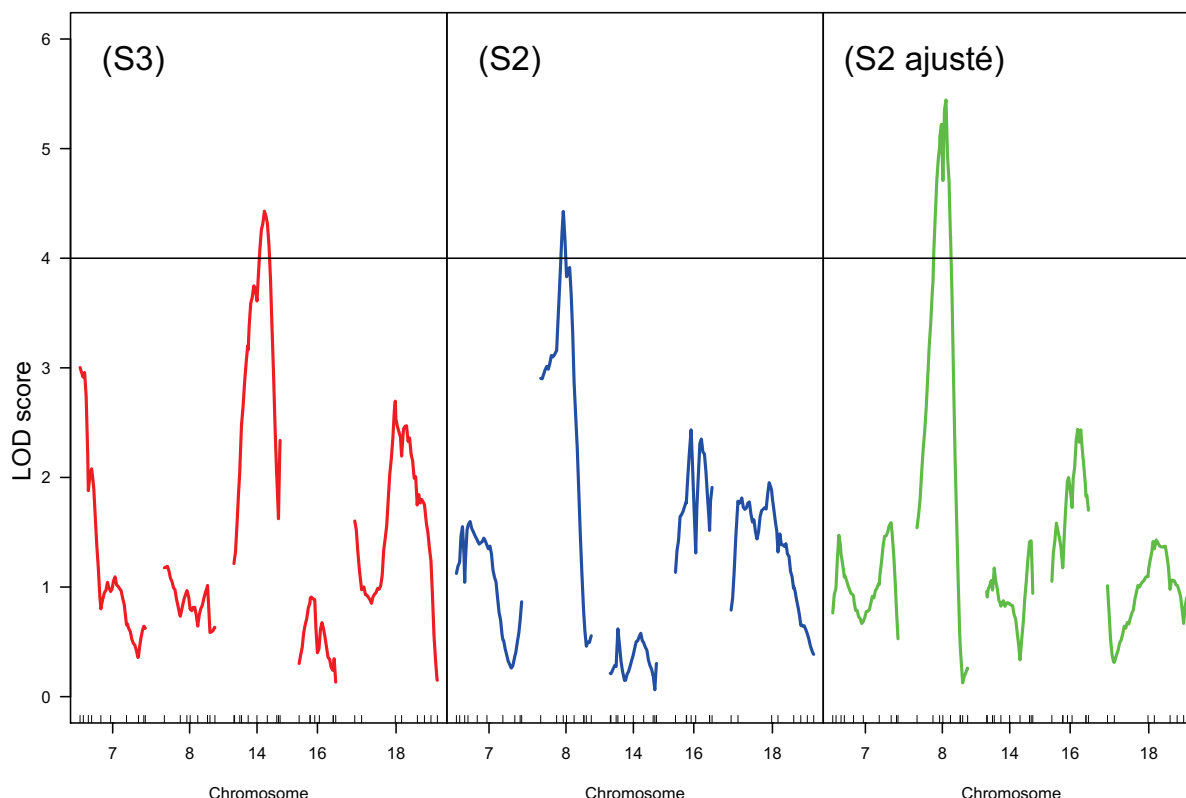


Figure IV.1: Courbes de LOD score pour les teneurs en sucres moyennes sur trois années selon trois méthodes d'évaluation: (S3) à la récolte, même date pour tous les génotypes, (S2) 230 °C.d après véraison, (S2 ajusté) 230 °C.d après véraison mais ajusté pour le rapport fruit/feuille. Le trait horizontal correspond au LOD seuil au niveau $p = 0,05$ pour le génome entier. Les petits traits verticaux sur l'axe des abscisses donnent la position des marqueurs moléculaires sur la carte génétique.

Il existe une variabilité génétique propre au métabolisme des baies pour la capacité à accumuler des sucres. Cela a déjà été montré en comparant l'accumulation des sucres chez le Cabernet-Sauvignon et le Merlot (Dai et al. 2009). Les deux variétés diffèrent par leur aptitude à stocker les sucres importés dans les baies sous forme d'hexoses fermentescibles (glucose et fructose). Cette propriété est caractérisée par un coefficient k qui peut être calculé si l'on dispose de cinétiques d'accumulation des sucres, du poids et du volume des baies. En 2012 nous avons prélevé des baies pour sept génotypes de la population ainsi que les parents à huit reprises pendant la maturation des raisins, avec trois échantillons à chaque date. Zhanwu Dai, de l'INRA de Bordeaux a estimé le coefficient k pour chacun des génotypes à partir de ces données. La figure IV.2 montre que l'on peut mettre en évidence de la variabilité génétique pour ce coefficient k , non seulement entre RI et GW mais aussi parmi les descendants. Plus ce coefficient est bas, plus les sucres importés dans les baies sont effectivement stockés sous forme d'hexoses. Le Riesling valorise donc mieux les sucres importés que le

Gewurztraminer. L'obtention de valeurs fiables du coefficient k pour les 120 génotypes de la population représente un travail considérable. La faisabilité de travailler avec des cinétiques plus légères est en cours d'évaluation. Une étude de l'impact des variations observées du coefficient k sur les teneurs en sucres finales reste à réaliser.

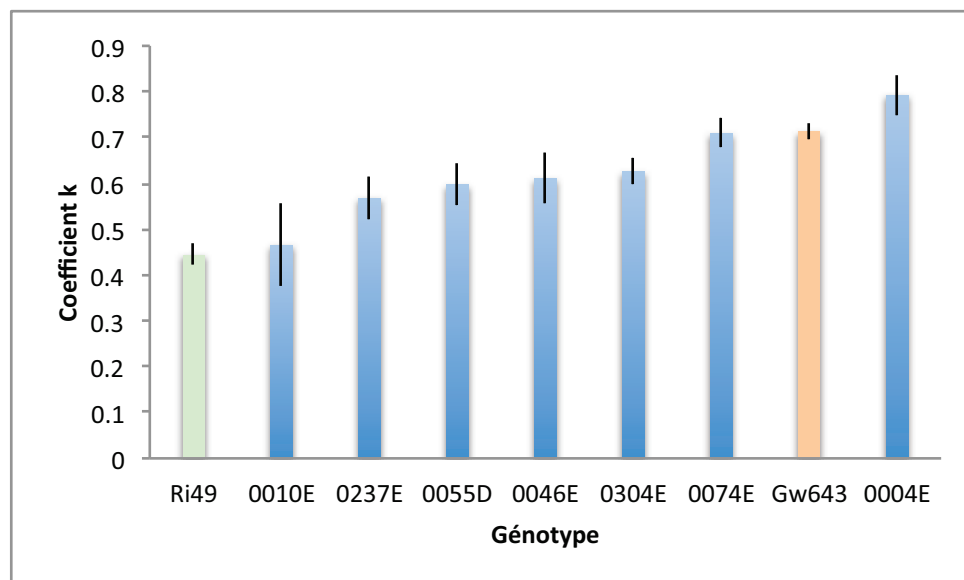


Figure IV.2: Coefficient k de métabolisme (non stockage) des sucres importés dans les baies évalué en 2012 pour neuf génotypes à Bergheim (68). Les barres verticales sont des erreurs-standard. Calculs de Zhanwu Dai, INRA Bordeaux.

c) Conclusion

Le Riesling est une variété systématiquement moins riche en sucres que le Gewurztraminer à la récolte (voir page 165). La description des cinétiques d'accumulation des sucres en fonction des sommes de températures et la prise en compte du rapport fruit/feuille montrent que les deux cépages ont intrinsèquement des capacités similaires. Le Riesling a des raisins moins sucrés à la récolte d'une part car leur maturation, commençant plus tard, se fait dans des conditions moins favorables que pour le Gewurztraminer et d'autre part car sa charge en raisin comparée à sa surface foliaire est plus élevée. La modélisation des cinétiques d'accumulation des sucres met en évidence que le Riesling a en réalité une meilleure capacité à stocker les sucres importés que le Gewurztraminer.

Le protocole original de prélèvement des raisins selon une somme de températures fixe après véraison est validé par la détection dans la population RlxGW d'un QTL sur le chromosome 8, sans relation avec les stades de développement. L'analyse des données doit se poursuivre en utilisant le génotypage SNPs maintenant disponible pour la population étudiée et en testant l'hypothèse que les variations de teneurs en sucres liées au QTL du chromosome 8 sont en relation avec des variations génétiques du coefficient k.

J'ai exploré la diversité génétique pour l'accumulation des sucres seulement pour deux variétés et leur descendance. Afin d'avoir une vision plus globale, l'approche proposée ici devrait également être mise en œuvre dans des populations de génotypes de *Vitis vinifera* non-apparentés, voire dans des populations d'espèces de *Vitis* ou de *Muscadinia*. Des variétés de vigne à faible teneur en sucres ont été proposées au catalogue français (Escudier 2009), il serait utile de chercher les déterminants génétiques sous-jacents des caractéristiques de ces obtentions.

V. L'acidité: « Genetic variability of descriptors for grapevine berry acidity in Riesling, Gewürztraminer and their progeny »

1. Résumé de l'article

Après l'exploration de la variabilité génétique pour les stades de développement et l'accumulation des sucres, j'ai utilisé le même matériel végétal d'une part pour étudier les cinétiques d'évolution de l'acidité des raisins et d'autre part pour caractériser la variabilité génétique pour les paramètres de l'acidité. Comme dans le cas des teneurs en sucres, l'article est composé de deux parties correspondant à ces thèmes.

L'acidité est un élément de base de la qualité des vins. Avec une acidité trop basse les vins vont être jugés plats, manquant de fraîcheur et de relief tandis qu'une acidité excessive va conférer aux vins un caractère agressif et désagréable. L'acidité participe de plus à la stabilité microbiologique et au potentiel de vieillissement des vins. Acidité est un terme très générique pouvant correspondre à plusieurs grandeurs physiques. En viticulture/œnologie, on peut caractériser l'acidité d'un jus de raisin ou d'un vin par son pH ou par une acidité de titration. Le pH dépend des teneurs en acides organiques, essentiellement de l'acide malique et de l'acide tartrique chez la vigne, et des teneurs en cations, surtout représentés par le potassium.

Les données recueillies deux fois par semaine pour les parents RI et GW pendant trois campagnes confirment que les quantités d'acide tartrique par baie sont stables après la véraison. La diminution des teneurs qui est observée est uniquement due au grossissement des baies et donc à une dilution de l'acide.

Pour l'acide malique par contre, il y a bien diminution des quantités par baie au cours de la maturation et donc dégradation de cet acide. Cette première observation confirme que dans le cadre du changement climatique, il faut privilégier les variétés à forte production d'acide tartrique. La cinétique de dégradation de l'acide malique a pu être modélisée à partir de l'hypothèse que sur un petit pas de temps $t_2 - t_1$, la quantité d'acide malique dégradée était proportionnelle à la quantité présente à t_1 . Les ajustements obtenus sont très bons, avec des coefficients de détermination R^2 entre données observées et données simulées toujours supérieurs à 0,94 (Tableau 1 de l'article). La comparaison de différentes échelles de temps est en faveur de l'utilisation des sommes de températures journalières moyennes base 10 °C (HS_Tmean). Le modèle testé inclut une vitesse de dégradation de l'acide malique (paramètre $dmal$). J'ai montré que ce paramètre dépend de l'année étudiée lorsque l'on utilise une échelle en jours, mais qu'il est indépendant de l'année avec une échelle en sommes de températures.

Autrement dit, et c'est un résultat majeur de ce travail, la vitesse de dégradation de l'acide malique ne dépend apparemment que de la température. Le test du modèle dans des situations contrastées permettra de confirmer ce résultat. Aucune règle, aucune logique, ne permet d'interpréter le niveau des teneurs en acide malique à la véraison (Mal_0): il y a une forte interaction génotype x année. Cette interaction n'est pas significative pour la valeur asymptotique Mal_{min} vers laquelle tendent les teneurs ou les quantités d'acide malique, sauf avec l'échelle HS_Tmean. Cette valeur asymptotique est toujours plus élevée pour le Riesling que pour le Gewurztraminer. En utilisant ce modèle de dégradation de l'acide malique en fonction des sommes de températures, j'ai montré que des prélèvements à un nombre de jours fixe après véraison conduisent à des biais dans la comparaison des variétés. Je conclus donc qu'il est pertinent de faire ces comparaisons à partir de prélèvements effectués à une somme de température fixe après véraison (S_2). Pour les parents RI et GW, un prélèvement S_2 met tous les ans en évidence des différences significatives pour le pH, l'acidité de titration, les teneurs en acide malique et en acide tartrique. Tous ces paramètres conduisent à une plus grande acidité des baies de RI.

Dans la population RIxGW, tous les paramètres de l'acidité des raisins, que ce soit pour les baies vertes (S_1) ou les baies en cours de maturation (S_2) sont en ségrégation. Toute la gamme des combinaisons $[malique] \times [tartrique]^2$ est couverte à S_2 mais les concentrations en acide malique ne sont jamais supérieures à celle d'acide tartrique. Il n'y a pas non plus de génotype dont la somme des deux acides soit significativement supérieure à celle du RI.

Cette étude a permis de bien caractériser les variétés parents pour les composantes de l'acidité des raisins. Contrairement à ce que nous avons observé pour l'accumulation des sucres, les différences entre les deux cépages sont très marquées: les baies de Riesling ont toujours en cours de maturation un pH plus faible et des teneurs en acide malique et en acide tartrique plus élevées que celles de Gewurztraminer. De même, il y a dans la descendance RIxGW, indépendamment des dates de véraison, une forte variabilité: on peut trouver des génotypes avec des teneurs en acide tartrique supérieures à celles du RI 230 °C.d après véraison. L'acide tartrique n'étant pas dégradé à fortes températures, il existe donc dans cette descendance des ressources pour l'adaptation au réchauffement climatique. La recherche de QTLs à partir de ce jeu de données nous dira si cette variabilité peut être expliquée par des variations alléliques.

Nous proposons également pour la première fois chez la vigne un modèle de dégradation de l'acide malique. La stabilité des paramètres de ce modèle doit être explorée dans différents environnements et pour différents génotypes. Une fois ce travail effectué, une étude de l'impact des conditions climatiques du futur sur les teneurs en acide malique des raisins pourra être envisagée, de même que le test de génotypes virtuels dans ces conditions.

² [malique]: teneurs en acide malique, [tartrique]: teneurs en acide tartrique

Genetic variability of descriptors for grapevine berry acidity in Riesling, Gewürztraminer and their progeny

E. DUCHÊNE^{1,2}, V. DUMAS^{1,2}, N. JAEGLI^{1,2} and D. MERDINOGLU^{1,2}

¹UMR 1131, INRA, 28, rue de Herrlisheim – BP 20507, 68021 Colmar Cedex, France

²UMR 1131, University of Strasbourg, 28, rue de Herrlisheim – BP 20507, 68021 Colmar Cedex, France

Corresponding author: Mr Eric Duchêne, email duchene@colmar.inra.fr

Abstract

Background and Aims: The acidity of harvested grapevine berries is likely to decrease in the future because of increasing temperature during grape ripening. The aim of the study was to evaluate the genetic variability of berry acidity descriptors in progeny from a Riesling × Gewürztraminer cross.

Methods and Results: The ripening process for the parent cultivars was monitored over three growing seasons; berries from Riesling had a higher tartaric acid concentration than that from Gewürztraminer, and a similar difference was observed for malic acid. A statistical model describing the decline in malic acid concentration over time was fitted to the data. With this model, the parameter that best characterised the two genotypes was the asymptotic minimum value of malic acid concentration per g of berry dry matter. In addition, the rate of decrease of malic acid was constant across years when thermal-time scales were used. Using samples of green berries at veraison and samples picked 230 degree days after veraison (mean temperature, base 10°C), 120 genotypes from a Riesling × Gewürztraminer progeny were compared over 3 years in the vineyard and segregations for all the berry acidity descriptors were described.

Conclusions: A significant genotypic variability was observed for the concentration of malic and tartaric acids but also for the estimated cationic content of the berries for the same developmental stage. No genotypes, however, were detected, with a concentration of total malic and tartaric acid significantly higher than that of Riesling.

Significance of the Study: These results show that berry acidity descriptors are heritable traits that can be manipulated in breeding programs.

Keywords: acidity evolution, degree day, grapevine, malic acid, tartaric acid

Introduction

Recent progress in molecular biology and the availability of the grapevine whole genome sequence (Jaillon et al. 2007) offer new possibilities for rapidly breeding new cultivars that are adapted better to the expectations of winegrowers and consumers, and also to warmer climates. Knowledge of the genetic determinism of numerous agronomical traits is steadily increasing. Quantitative Trait Loci (QTLs) have been detected for numerous traits (Martinez-Zapater et al. 2010) including resistance to fungal diseases (Bellin et al. 2009, Blasi et al. 2011), aroma content of berries (Duchêne et al. 2009, Battilana et al. 2011) and the timing of developmental stages (Duchêne et al. 2012a). Currently, QTLs and markers related to resistance to fungal disease are routinely used in Marker Assisted Breeding (MAB) programs (Wiedemann-Merdinoglu et al. 2006, Eibach et al. 2007, Riaz et al. 2009).

Although combining QTLs for improving disease resistance is a major focus of current breeding programs, knowing the genetic determinism of berry quality traits is the next important step for improvement. To date, berry colour and terpenol content are the berry traits most studied (Duchêne et al. 2009, Fournier-Level et al. 2009, Battilana et al. 2011). Paradoxically, simply measured traits, such as acidity and sugar content of the berries, are more difficult to study as they heavily depend on environmental conditions and management practices (Jackson and Lombard 1993, Dai et al. 2011). We have already proposed a method to characterise the ability of grapevine genotypes to

accumulate sugars in berries that accounts for the effect of the genetic variability of developmental stages, fruit load and leaf area (Duchêne et al. 2012b). In this previous work, we sampled berries at a fixed heat sum after veraison and applied a correction to the measured sugar content that took into account crop load and leaf area of the plants. This method was applied to the progeny from a Riesling × Gewürztraminer cross before looking for QTLs for sugar content. The objective of the present work was to evaluate the relevance of this approach for describing the genetic variability of berry acidity traits.

Acidity is an important trait not only for the sensory properties of wines but also for its role in the chemical and microbiological stability of wine, as well as its aging potential. Acidity of wines depends on the acidity of grapes but also on the fermentation process, especially during the malolactic fermentation when malic acid is transformed into lactic acid.

Malic and tartaric acids make up to 90% of the organic acids found in grapes (Ruffner 1982). The quantity of tartaric acid per berry is stable after veraison (Hale 1977, Iland and Coombe 1988, DeBolt et al. 2008), and the decrease in concentration during ripening is mainly the result of the increase of berry volume. In contrast, the decrease of malic acid concentration is the consequence of both a dilution effect and of a degradation process. High temperature induces a greater decrease of malic acid concentration when compared to that of tartaric acid concentration (Buttrose et al. 1971, Kliewer 1971, Parra et al. 2010). Since temperature during the ripening process is

expected to increase because of climate change (Duchêne et al. 2010), cultivars with high tartaric acid content should be better adapted to future changing climatic conditions (Shiraishi 1995).

The concentration of tartaric and malic acids is a heritable trait that segregates in progenies (Liu et al. 2007, Bayo-Canha et al. 2012). In order to understand better the genetic determinism of berry acidity, 120 genotypes, progeny from a cross between Riesling and Gewürztraminer were compared. These parent cultivars were chosen since they are the two main cultivars of the Rhine Valley, and because they differ in numerous traits including developmental stages, yield potential, berry colour, aroma content, acidity and sugar content (Huglin and Schneider 1998). Samples of berries from the progeny were collected over three growing seasons at the same heat sum after veraison, and pH, malic and tartaric acid concentration were measured. At the same time, berry acidity descriptors were evaluated twice a week for the parent cultivars Riesling and Gewürztraminer in order to assess the relevance of the sampling procedure used for the progeny. The data obtained from this monitoring were used to develop a model describing the development of malic acid concentration in berries.

Material and methods

Experimental design and meteorological data

The experiment included 120 genotypes, progeny from a Riesling × Gewürztraminer cross, in a randomised five-block design, with individual plots of two plants. Three plots of Riesling clone 49 (RI) and Gewürztraminer clone 643 (GW) were also planted within each block. These plots will be referred to as 'Progeny experiment' plots. The two parent cultivars were also present in 'Buffer rows' on each side of the experiment, which were planted to isolate the progeny from the neighbouring vineyards. The structure of the five-block design was reproduced in the buffer rows: six plants of each parent cultivar were planted on each side of the progeny experiment for all the blocks.

Temperature was measured using an automated weather station nearby the experiment. In the following text, we abbreviated daily mean temperature and daily maximum temperature as Tmean and Tmax, respectively. Heat sums (HS) were calculated with Tmean (HS_Tmean) and Tmax (HS_Tmax) using 10°C as base temperature, and expressed in degree days (°C.d). We used Tmax as we had shown that this parameter was relevant for predicting, not only grapevine developmental stages in our conditions (Duchêne et al. 2010) but also sugar accumulation kinetics (Duchêne et al. 2012b).

Determination of the veraison dates

The veraison date was calculated for each individual plot, after successive scorings, as the date when 50% of the berries were soft, i.e. were entering the ripening process. The number of days after veraison (DAV) was one of the time scales used.

Berry sampling and sample preparation

Samples for both the 120 genotypes of the RIxGW progeny and for the parent cultivars embedded in the experiment ('Progeny experiment' plots) were obtained from at least two blocks on three dates. The first sampling (S1) was made during veraison with only hard, green berries selected from bunches where some berries were already soft. The second sampling (S2) was carried out independently for each individual plot when a heat

sum of 230°C.d after veraison (Tmean, base 10°C) was reached. The last sampling (S3) was made the day before harvest. The harvest date, which was the same for all the genotypes of a given vintage, was defined according to the maturity of the parent cultivars, being at least 17°Brix for RI, and ensuring that fruit was disease free.

Two sampling procedures were used (i) before the total soluble solids (TSS) reached approximately 10°Brix, 50 berries were picked; and (ii) at later ripening stages, a 200 mL box was filled with berries in the field (approximately 100 berries). At S1, entire berries (with skin) were used, whereas at S2 and S3 only the berry juice (pulp) was analysed.

Berry mass, berry volume and total soluble solids of the samples were measured. The dry matter content (DMC) of the berries was calculated with the TSS according to Duchêne et al. (2012b) as $DMC (\%) = 0.0542 \times TSS^2 - 0.6593 \times TSS + 13.166$ ($R^2 = 0.97$). Berry juices were diluted before freezing and subsequently analysed in order to avoid precipitation of organic acids. Berry dry mass (BDM) was calculated with berry fresh mass and DMC.

At the same time, the complete ripening process for the parent cultivars was monitored in the buffer rows to avoid bias because of oversampling in the progeny experiment. Samples were taken from two blocks on each side of the experiment twice a week, starting a few days before mid-veraison and ending at harvest. The samples were analysed as described above. The same method was followed in 2007, 2008 and 2009.

Determination of pH and titratable acidity

The pH of berry juice was measured with a 340i pH-meter (WTW, Weilheim, Germany) calibrated daily. Titratable acidity (TA) was determined by titrating 5 mL of berry juice with a N/20 solution of sodium hydroxyde to a pH 7 end point, corresponding to the colour change of bromothymol blue. Titratable acidity was expressed in g/L H₂SO₄ equivalent. Although pH and TA were determined in all the samples data only for the progeny experiment are presented here.

Determination of the concentration of malic and tartaric acids

Malic acid was determined with an enzymatic method and tartaric acid with a colorimetric method using ammonium metavanadate (Microdom, Taverny, France). Both acids were analysed in duplicate on a Lisa 300 automatic analyser (Biocode Hycel, Le Rheu, France). Control solutions were included in every ten samples.

Trossais and Asselin (1985) have shown that malic acid interferes in the determination of tartaric acid concentration with the 'metavanadate' method. By adding a range of malic acid amounts to Gewürztraminer and Riesling musts, we calculated the same correction factor as proposed by Trossais and Asselin (1985) and also verified that it was consistent for the two genotypes. Consequently, we calculated the actual tartaric acid concentration [Tart] as $[Tart] = 0.08 \times [Mal] + [TartC]$ where [Mal] is the concentration of malic acid in the sample determined by the enzymatic method and [TartC] the concentration of tartaric acid as determined by the 'metavanadate' method. This correction was applied to all data sets.

The concentration of malic and tartaric acids was not evaluated at S3, as the substantial difference in veraison dates in the progeny, of around 3 weeks, would have prevented any meaningful comparison of measures obtained on the same day. The

malic acid content per berry (Qmal) was calculated as the product of berry volume and malic acid concentration.

Estimation of the inorganic cations content

The pH of grape juices and wines is a function of the concentration of organic acids and also the overall balance between anions and cations. Monovalent cations, such as potassium, form salts with organic acids, and consequently the observed pH in berry juice is higher than the pH expected from its organic acids concentration alone.

There are two ways to estimate the amount of inorganic cations in juice. The first one is to consider that at pH 7, organic acids are completely under their salified form, i.e. that the acidic form is negligible. The TA is the amount of cations required to reach pH 7. If we consider that the concentration of the other organic acids is negligible, we can write that:

$$[\text{inorganic cations}] = [\text{Malic acid}] + [\text{Tartaric acid}] - [\text{TA}]$$

where concentration is expressed in meq/L (Boulton 1980). The second method is based on the observed pH. Following the approach of Lobit et al. (2002) for peach, we developed scripts under R software version 2.12.2 (R Core Team 2011) to calculate pH value according to concentration of malic and tartaric acids, the pKa of these acids, the inorganic cation content and calculations of the ionic strength of the solution. With measured values of pH, and the concentration of malic and tartaric acids, we were able to estimate the inorganic cation content by iterative adjustments. These scripts are available upon request. Only the inorganic cation concentration estimated using the pH value is presented here, as statistical analysis (*F* tests) were more powerful than with inorganic cation content estimated using TA (data not shown).

Statistical analyses

Statistical analyses were undertaken with the R software version 2.12.2 (R Core Team 2011). Smoothing of the curves in the figures was performed with the *lowess* function with $f = 2/3$. Adjusting the data for malic acid to the different time scales and calculations of the characteristics of the models was performed with the *gmls* function of the *nlme* package (Pinheiro et al. 2013). Factors 'Genotype' and 'Year' and interactions finally included in the models were determined after an iterative process where the significance at $P = 0.05$ of an effect or an interaction was tested by a likelihood ratio test (*anova.lme* function). To compare models, the logarithm of the likelihood (logLik), Akaike Information Criterion (AIC) and Bayesian Information Criterion (BIC) were used. The AIC and BIC were calculated with logLik and took into account the number of parameters in the model: the smaller the value of AIC or BIC, the better the model. For the same likelihood, the model using fewer parameters is the preferred model. We also used the coefficient of determination (R^2) between the simulated and observed data to compare the models.

The *lm* and *anova* functions were used for year-by-year analyses of variance to test the 'Genotype' effect. When analysing the data of the 3 years together, the 'Year' factor was added as a random effect in a mixed model of analysis of variance [*lmer* function of *lme4* package (Bates et al. 2013)], and the significance of the 'Genotype' effect and of the 'Genotype x Year' interaction (as a random effect) was tested by a likelihood ratio test (Pinheiro and Bates 2000). The 'Year' effects were considered random because they are not repeatable, and they are drawn at random from a population.

Heritabilities of the inter-annual genotypic means were calculated as

$$H = \frac{\sigma_G^2}{\sigma_G^2 + \frac{\sigma_{GY}^2}{3} + \frac{\sigma_E^2}{6}}$$

where σ_G^2 is the genotypic variance, σ_{GY}^2 is the genotype x year interaction variance and σ_E^2 is the residual variance.

Results

Tartaric acid concentration

The concentration of tartaric acid in Riesling berries was always higher than that for Gewürztraminer in the 3 years of the study (Figure 1). Beyond 30 days after veraison, the decrease in the concentration was slow. As expected, the tartaric acid content per berry was stable after veraison, which confirmed that dilution because of sugar and water import into the berries was the main source of the variation of tartaric acid concentration during ripening.

Malic acid concentration

The decrease in malic acid concentration was more pronounced than that for tartaric acid: in addition to dilution, degradation of malic acid occurred at a constant rate (Figure 1). Malic acid concentration was always higher in Riesling than in Gewürztraminer in the later samplings, i.e. approximately 30 days after veraison.

Malic acid concentration was fitted to mathematical models: the rate of malic acid degradation was hypothesised to be proportional to the concentration of malic acid available in the cell ([Mal]) as follows:

$$d[\text{Mal}]/dT = -d\text{mal} \cdot [\text{Mal}]$$

where T is a time scale.

The integration of this equation leads to the following solution: $[\text{Mal}] = \text{Mal}_{\min} + \text{Mal}_0 \cdot e^{-d\text{mal} \cdot T}$ where $\text{Mal}_{\min}$ is the theoretical minimum concentration that can be reached, Mal_0 is a value such that $\text{Mal}_{\min} + \text{Mal}_0$ is the concentration observed at $T = 0$, i.e. at veraison. The degradation rate is described as dmal.

Models using DAV, HS_Tmean and HS_Tmax were tested for fitting to the concentration of malic acid per L and to the quantity of malic acid per g of dry mass (Qmal/BDM).

The coefficients of determination (R^2) between simulated and observed were slightly better with models using the raw concentration than with models using Qmal/BDM (Table 1). Models using HS_Tmean performed significantly better (higher likelihood) than models using other time scales for the raw concentration but required more parameters than HS_Tmax. Figure 2 shows the adjustments with this model. With respect to the effects of the 'Year' or 'Genotype' factors on the parameters, interactions were detected in all the cases for Mal_0 (Table 1), which meant that the differences between the two genotypes for Mal_0 were not stable according to the season. For the asymptote $\text{Mal}_{\min}$, there was always a 'Year' effect and a 'Genotype' effect, but also a 'Genotype x Year' interaction when HS_Tmean was used. The asymptotic value of Qmal/BDM was significantly higher for Riesling than for Gewürztraminer (Figure 3)

For the degradation rate dmal, a 'Year' effect was detected for the DAV time scale, and this degradation rate was higher in 2009 season when degree days accumulated faster than in 2007 and 2008 (Figure 4). Conversely, the degradation rate was independent of the season when a thermal time scale was used

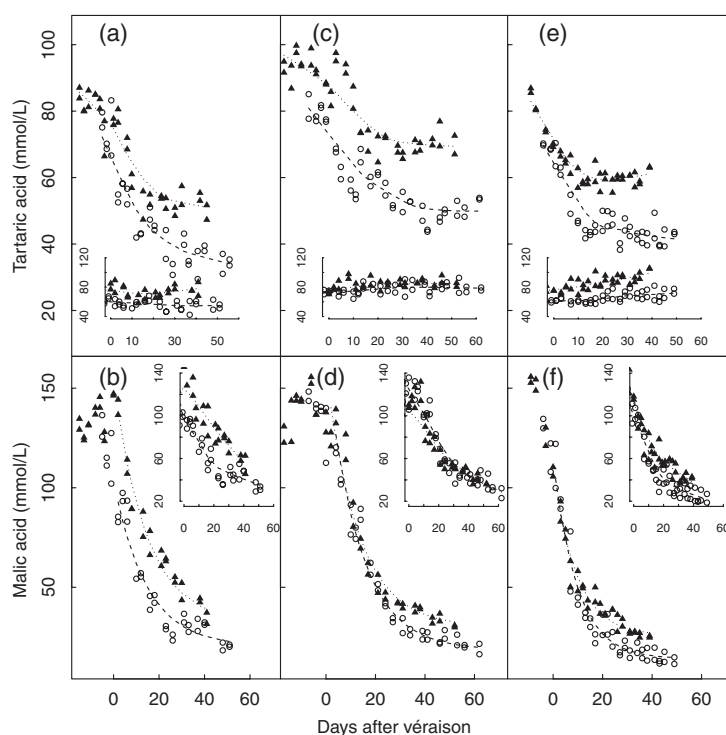


Figure 1. Evolution of (a,c,e) tartaric acid and (b,d,f) malic acid concentrations in Riesling (▲) and Gewürztraminer (○) as a function of the number of days after veraison in (a,b) 2007, (c,d) 2008 and (e,f) 2009. The small plots represent the evolution of the tartaric or malic acid content of the berry in μmol/berry. In the small figures and in figures for tartaric acid, dotted lines represent local adjustments (lowess function in R). For malic acid, dotted lines represent adjustments to exponential curves (see text).

Table 1. Parameters of the models tested for describing the accumulation of malic acid in grapevine berries for two different units and three different time-scales (Riesling and Gewürztraminer in buffer rows).

Feature		Malic acid (mmol/L)			Malic acid (mmol/kg dry mass)		
		DAV	HS_Tmean	HS_Tmax	DAV	HS_Tmean	HS_Tmax
<i>F</i> -value for . . .	Mal ₀ .Genotype	25.7***	17.7***	39.0***	32.4***	33.2***	51.9***
	Mal ₀ .Year	21.0***	34.3***	37.3***	14.9***	32.2***	36.6***
	Mal ₀ .Genotype:Year	20.1***	9.3**	22.8***	20.2***	11.5***	23.1***
	Mal _{min} .Genotype	124.5***	0.007	55.1***	134.4***	8.9**	49.9***
	Mal _{min} .Year	5.9**	18.9***	23.4***	10.2***	24.3***	23.8***
	Mal _{min} .Genotype:Year	ns	4.7**	ns	ns	3.7*	ns
	dmal.Genotype	ns	6.0*	ns	ns	ns	ns
	dmal.Year	6.5**	ns	ns	4.5*	ns	ns
	dmal.Genotype:Year	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Number of parameters		13	14	11	13	13	11
R ² (simulated-observed)		0.95	0.96	0.95	0.94	0.94	0.94
Residual standard error		13.1	12.2	13.2	50.1	46.9	49.0
AIC		1469.1	1453.5	1464.6	1902.6	1894.7	1893.0
BIC		1517.7	1505.3	1506.8	1951.2	1943.3	1935.2
logLik		-719.6	-710.7***†	-719.3	-936.3	-932.3	-933.5

*, **, ****F*-value significant at $P = 0.05$, $P = 0.01$ and $P = 0.001$, respectively. ns: not significant at $P = 0.05$. †Loglikelihood test significant at $P = 0.001$ when compared to the two other time scales. AIC, Akaike Information Criterion; BIC, Bayesian, Information Criterion; DAV, days after veraison.

(Table 1). Under the assumption that the evolution of malic acid concentration is driven by cumulative degree days, we compared the evolution of malic acid concentration for the extreme veraison dates observed in the progeny for the same genotypic features, taken from Riesling in this case (Figure 5). For the

three seasons, a sampling of berries at a given number of days after veraison would lead to a bias on the characterisation of malic acid concentration if measured beyond 20 days post-veraison. This is especially true in 2008, when the end of the season was cooler than in 2007 and 2009. This result

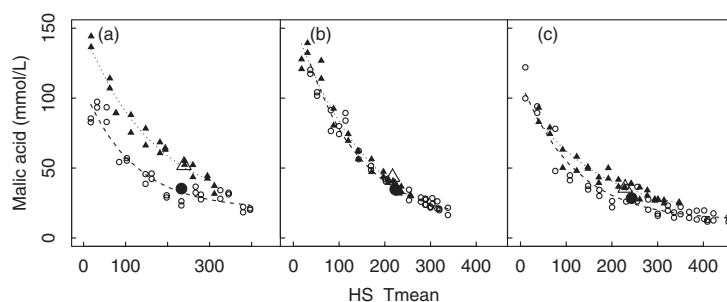


Figure 2. Evolution of malic acid concentration for Riesling (▲) and Gewürztraminer (○) as a function of the heat sum calculated with daily mean temperature, base 10°C (HS_Tmean), in (a) 2007, (b) 2008 and (c) 2009. Dotted lines represent adjustments to exponential curves (see text). The value of malic acid concentration in each year measured at a heat sum of 230°C.d after veraison (S2) in the 'Progeny experiment' plots is shown for Riesling (▲) and Gewürztraminer (●).

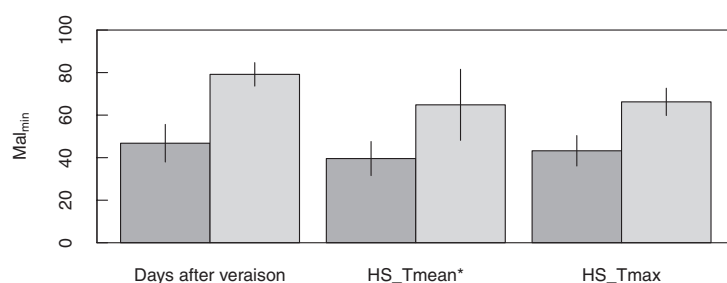


Figure 3. Values of the asymptote 'Mal_{min}' in the relationship $[Mal]_{DM} = Mal_{min} + a.e^{(-b \cdot Time)}$ where $[Mal]_{DM}$ is the concentration of malic acid expressed in mmol/kg dry mass, and Time is the number of days after veraison, Heat sums are calculated with daily mean (HS_Tmean) or maximum (HS_Tmax) temperature. Gewürztraminer (■) and Riesling (□). Vertical bars represent 95% approximate confidence intervals. *: a Genotype $\times$ year interaction was significant at $P = 0.01$.

demonstrates that a sampling at a given heat sum after veraison should be preferred to a sampling at a given number of days after veraison.

Descriptors for acidity for the parent cultivars and in the RIxGW progeny

In parallel to the continuous sampling in buffer rows, samples of berries of the parent cultivars RI and GW were picked at three stages S1, S2 and S3 in plots embedded in the RIxGW progeny experiment. Samples of green berries at veraison (S1) did not always provide a significant difference between the two cultivars (Table 2). Berry pH was lower for RI than for GW in 2007 and 2008, but not in 2009. Tartaric acid concentration was different only in 2008, higher for RI. In 2009, the malic acid concentration was surprisingly higher for GW than for RI, but this was consistent with the values of TA and pH. In S2 samples, a significant difference between the two cultivars was detected every year for all the measured variables: RI berries always had the highest acidity, evaluated by TA or pH, because of a higher concentration of malic and tartaric acids. At the final sampling S3, on the same date, pH was always significantly higher for GW than for RI. This result is not surprising since veraison dates for RI were approximately 10 days later than for GW (Duchêne et al. 2012b) leading to a shorter duration for acidity decrease between veraison and S3 for RI.

Descriptors in the RIxGW progeny

A significant variation of acidity descriptors was detected among the 120 genotypes of the RIxGW progeny in both the

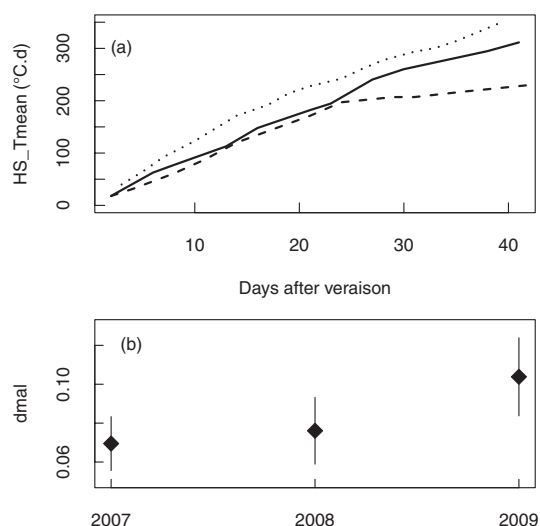


Figure 4. (a) Heat sums calculated after veraison (Riesling) with the daily mean temperature, base 10°C (HS_Tmean) in 2007 (—), 2008 (---) and 2009 (····). (b) Values and approximate 95% confidence intervals for the decrease rate 'dmal' in the relationship $[Mal] = Mal_{min} + Mal_0.e^{(-dmal \cdot DAV)}$ where $[Mal]$ is the concentration of malic acid expressed in mmol/L.

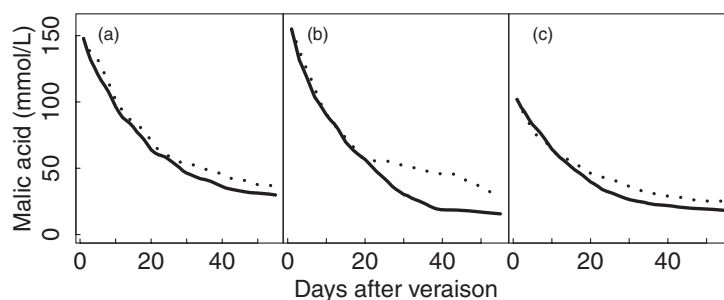


Figure 5. Simulation of the evolution of malic acid concentration in Riesling berries for the latest (---) and earliest (—) veraison dates observed in the progeny with the model using HS_Tmean, for (a) 2007, (b) 2008 and (c) 2009. The latest veraison date observed in the progeny was 6 August 2007, 24 August 2008 and 23 August 2009, and the earliest veraison date observed in the progeny was 18 July 2007, 5 August 2008 and 29 July 2009.

Table 2. Descriptors for acidity of Riesling and Gewürztraminer berries from the 'Progeny experiment' at three sampling times: at veraison (S1), at a heat sum of 230°C.d after veraison (S2) and the day before harvest (S3). Values that differ significantly between genotypes are bolded.

Sampling time	Variable	2007		2008		2009	
		GW	RI	GW	RI	GW	RI
S1	pH	2.91	2.82***	2.9	2.84*	2.87	2.9
	Titrateable acidity (g/L equiv. H ₂ SO ₄)	—	—	19.2	19.9	20.7	18.9**
	Malic acid (mmol/L)	148.4	146.6	137.8	137.6	161.0	137.0**
	Tartaric acid (mmol/L)	80.3	80.3	73.9	86.1**	81.4	83.3
	[Tart]/([Mal] + [Tart])	0.35	0.35	0.35	0.38**	0.33	0.38***
S2	pH	3.27	2.98***	3.15	2.96***	3.22	3.02***
	Titrateable acidity (g/L equiv. H ₂ SO ₄)	4.74	7.38**	6.53	8.77***	5.8	7.6***
	Malic acid (mmol/L)	35.3	51.9**	34.7	43.4*	28.5	35.7*
	Tartaric acid (mmol/L)	42.6	54.2**	46.3	73.3***	47.2	59.0***
	[Tart]/([Mal] + [Tart])	0.55	0.51	0.57	0.63*	0.63	0.63
S3	pH	3.55	2.99***	3.39	2.94***	3.42	2.99***

*, **, ***Differences between cultivars within each year were significant at $P = 0.05$, $P = 0.01$ and $P = 0.001$, respectively. GW, Gewürztraminer; RI, Riesling.

year-by-year analysis (Supplementary data S1) and in the 3-year analysis (Table 3). For all the variables, the range of observed values was similar between years. A significant 'Genotype $\times$ Year' interaction was detected only for pH at S3 (data not shown). As expected, the concentration of malic and tartaric acids decreased with the progression of ripening (S2 vs S1), while the proportion of tartaric acid increased ([Tart]/([Mal] + [Tart]) ratio). The [Tart]/([Mal] + [Tart]) ratio had in statistical analyses a higher F -value or X^2 value than the β ratio ([Tart]/[Mal]) proposed in the literature (Kliewer et al. 1967, Shiraishi 1995). The lower estimated concentration of inorganic cations at S2 than at S1 was not in accordance with the expected increase of potassium concentration during ripening (Hale 1977, Iland and Coombe 1988), however, since the concentration of potassium is higher in berry skins than in pulp (Iland and Coombe 1988, Gong et al. 2010), the entire berries analysed at S1 cannot be compared with the berry juices analysed at S2.

Genotypic differences were significant for all the descriptors evaluated as soon as the first sampling date of green berries (S1). The proportion of tartaric acid was the most discriminating

descriptor for both sampling dates. It was possible to find in the progeny genotypes with a tartaric acid or malic acid concentration higher than that of RI (Figure 6). Only five genotypes, however, had a higher total concentration of malic and tartaric acids than that of RI, but the difference with the parent cultivar was never statistically significant. Variation of pH at harvest (S3, same date for all the genotypes) was the most statistically significant. They resulted, however, not only from variation of the concentration of malic acid and tartaric acid and of the cationic content but also from different physiological stages, since the range of dates of veraison in the progeny was approximately 3 weeks. Relationships between acidity descriptors and yield were also explored. We can demonstrate that yield level had a significant influence on malic acid at S2 for example ($P < 10^{-4}$ in the 3-year data set). The highest R^2 calculated in these analyses, however, was 0.08, and the highest estimation of the slope for the response of malic acid concentration to yield increase was 2 (mmol/L)/(kg/m²) in 2009. Even though the high number of genotypes in the data set allowed the detection of an effect of yield, this effect was too weak to be integrated in the analysis of the genetic determinism of acidity descriptors.

Table 3. Three-year analysis of variance for the ‘Genotype’ effect in the Riesling x Gewürztraminer progeny and heritability of the inter-annual genotypic means at three sampling times: at veraison (S1), at a heat sum of 230°C.d after veraison (S2) and the day before harvest (S3). The ‘Year’ effect was significant at $P < 0.0001$ for all the variables, but a ‘Genotype × Year’ interaction was significant at $P = 0.05$ only for pH at sampling S3.

Sampling time	Variable	Min	Mean	Max	RSE	df	X ²	Heritability of the means (%)
S1	Malic acid (mmol/L)	102.9	139.1	176.7	13.0	119	475.5***	83.8
	Tartaric acid (mmol/L)	65.7	81.2	103.9	4.9	119	551.1***	90.0
	[Tart]/([Mal] + [Tart])	0.29	0.37	0.52	0.02	119	682.7***	93.6
	Inorganic cations (meq/L)	62.8	74.3	86.7	6.1	119	296.0***	64.5
	pH	2.80	2.90	2.97	0.04	119	336.3***	71.7
S2	Malic acid (mmol/L)	23.8	36.6	57.0	6.2	119	413.8***	77.4
	Tartaric acid (mmol/L)	38.2	52.9	66.0	5.5	120	384.4***	77.1
	[Tart]/([Mal] + [Tart])	0.49	0.59	0.71	0.04	119	422.4***	79.7
	Inorganic cations (meq/L)	41.9	49.8	60.6	5.2	119	245.8***	46.0
	pH	2.95	3.12	3.35	0.06	119	564.9***	87.9
S3	pH	2.91	3.22	3.72	0.08	119	690.8***	92.8

***Differences between cultivars were significant at $P = 0.001$. df, degrees of freedom of RSE; RSE, residual standard error.

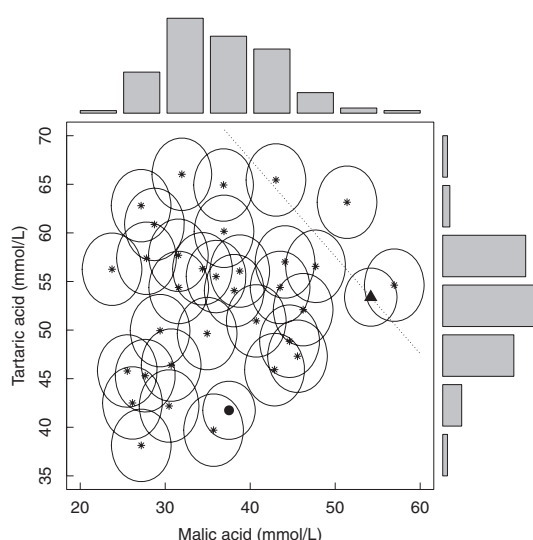


Figure 6. Combined view of the mean concentration of malic and tartaric acids at a heat sum of 230°C.d after veraison (S2) observed over 3 years for the parent cultivars Riesling (▲), Gewürztraminer (●) and an arbitrary selection of 33 genotypes representative of the distribution of their progeny (★). Circles represent the confidence ellipses (radii: one standard error). The dotted line is such that $[Mal] + [Tart]$ equals the value for Riesling (107 mmol/L). The top and right hand side of the figure present histograms of the segregations for the 120 genotypes of the progeny.

Discussion

Kinetics of evolution

The decrease in the concentration of tartaric and malic acids observed in the parent cultivars was consistent with existing knowledge: tartaric acid content per berry can be considered as constant throughout ripening (Hale 1977, Iland and Coombe 1988, DeBolt et al. 2008), whereas malic acid is catabolised

through many metabolic pathways including gluconeogenesis, respiration and fermentation [review in Sweetman et al. (2009)]. The concentration of the acids measured is a consequence of the degradation of acids present in the berry and of water and sugar imports. The difference between GW and RI was not always detected in samples of green berries (S1), but it was always highly significant when samples were taken during the ripening phase (S2) (Table 2).

For malic acid expressed in mmol/g of berry dry mass, the difference of asymptotic concentration Mal_{min} at the end of ripening between RI and GW was more stable than the concentration at veraison $Mal_{min} + Mal_0$. Indeed, whatever the time scale, ‘Genotype x Year’ interactions were always detected for the Mal_0 parameter, whereas this interaction was significant for Mal_{min} only with HS_Tmean (Table 1). The hypothesis that the asymptote Mal_{min} is a good descriptor of the genotypic variability is being tested for a subset of genotypes from the progeny. If confirmed, sampling should be undertaken as late as possible in the season. A rough estimate of the time when the concentration is approximately one residual standard error above Mal_{min} is 43 days after veraison or 600°C.d HS_Tmax .

The second important finding of the modelling process is that the degradation rate depended on the season with the DAV scale, higher in warm years, but the rate was constant across years when thermal scales were used. This result must be confirmed in an extended data set including more years and a panel of environmental conditions. Refining the model describing changes in malic acid with temperature will be important for predicting the effect of climate change on berry acidity. Complex models describing malic acid accumulation in fruits that include the effect of temperature have been proposed for peach (Lobit et al. 2006) and form a basis for similar studies on grapevines.

Genetic variability

Genetic variability for the concentration of tartaric and malic acids, as well as for inorganic cations, has been reported (Kliwer et al. 1967, Shiraishi 1995, Liu et al. 2007, Bayo-Canha et al. 2012). The concentration of tartaric acid that was measured for RI and GW is comparable with results from other data sets (Kliwer et al. 1967, Pavloušek and Kumsta 2011). For malic acid, values for Riesling were observed higher

than were reported by Kliewer et al. (1967) but in the same range as Pavloušek and Kumsta (2011). The classification of Kliewer et al. (1967) that Riesling is a 'low malate' cultivar based on the β ratio was not confirmed in this study. On the contrary, the asymptotic malate concentration in the dry matter was higher for RI than for GW (Figure 3). It would therefore be more appropriate to characterise RI as a 'high tartrate' cultivar.

The novelty of the present study is that descriptors for acidity were evaluated at the same heat sum after veraison, which allows a comparison of genotypes that differ in the timing of veraison. Genotypes with a higher concentration of tartaric and malic acids or with lower pH than the parent cultivars were found in progenies (Bayo-Canha et al. 2012). No genotypes, however, were found with a significantly higher malic + tartaric acid concentration than that of RI. This suggests that RI has a combination of alleles that cannot be found in the progeny. Further evaluation of germplasm collections with the same sampling procedure as in the present study will allow a more substantial evaluation of the genetic variability of total malic + tartaric acid concentration.

These findings suggest that, independently of phenology, berry acidity descriptors can be manipulated in grapevine progenies. It is likely that QTLs will be identified for these traits and that molecular markers will assist in breeding new genotypes better adapted to warmer climates.

Conclusion

This study characterised the genetic variability for berry acidity descriptors in grapevine genotypes. Berries from Riesling had a higher tartaric acid concentration than berries from Gewürztraminer. A difference for malic acid content was also detected, and equations based on the hypothesis that the rate of malic acid degradation was proportional to the concentration of accessible malic acid provided good statistical adjustments. In the model used, the minimal value of malic acid concentration in the dry matter of the berries was the parameter that best characterised the two genotypes.

Using samples of green berries at veraison and samples picked 230°C.d after veraison (Tmean, base 10°C), 120 genotypes from a Riesling x Gewürztraminer progeny were compared over 3 years in the vineyard. A significant genotypic variability was observed for the concentration of malic and tartaric acids, but also for the estimated cationic content of the berries for both sampling stages. These results will be used for QTL detection in this progeny with the objective of identifying molecular markers suitable for marker-assisted breeding.

If the modelling of acidity evolution proposed in this work is validated, it will allow novel opportunities to characterise the genetic variability of acidity-related traits. A search for QTLs performed on parameters of models rather than on raw data is likely to lead to QTLs closer to physiological determinants and more stable across different environments. A validated model relating acidity to temperature could also provide a tool for quantifying the effect of expected climate change and for testing the behaviour of grapevine genotypes in predicted future conditions.

Acknowledgements

This work was partially financed by FranceAgrimer. We thank Charles Romieu for valuable discussions.

References

Bates, D., Maechler, M. and Bolker, B. (2013) lme4: linear mixed-effects models using Eigen and R syntax. R package version 0.999999-2. <http://CRAN.R-project.org/package=lme4>

- Battilana, J., Emanuelli, F., Gambino, G., Gribaudo, I., Gasperi, F., Boss, P.K. and Grando, M.S. (2011) Functional effect of grapevine 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate synthase substitution K284N on Muscat flavour formation. *Journal of Experimental Botany* **62**, 5497–5508.
- Bayo-Canha, A., Fernandez-Fernandez, J.I., Martinez-Cutillas, A. and Ruiz-Garcia, L. (2012) Phenotypic segregation and relationships of agronomic traits in Monastrell x Syrah wine grape progeny. *Euphytica* **186**, 393–407.
- Bellin, D., Peressotti, E., Merdinoglu, D., Wiedemann-Merdinoglu, S., Adam-Blondon, A.F., Cipriani, G., Morgante, M., Testolin, R. and Di Gasparo, G. (2009) Resistance to *Plasmopara viticola* in grapevine 'Bianca' is controlled by a major dominant gene causing localised necrosis at the infection site. *Theoretical and Applied Genetics* **120**, 163–176.
- Blasi, P., Blanc, S., Wiedemann-Merdinoglu, S., Prado, E., Rühl, E., Mestre, P. and Merdinoglu, D. (2011) Construction of a reference linkage map of *Vitis amurensis* and genetic mapping of *Rpv8* a locus conferring resistance to grapevine downy mildew. *Theoretical and Applied Genetics* **123**, 43–53.
- Boulton, R. (1980) The relationships between total acidity, titratable acidity and pH in grape tissue. *Vitis* **19**, 113–120.
- Buttrose, M.S., Hale, C.R. and Kliewer, W.M. (1971) Effect of temperature on the composition of 'Cabernet-Sauvignon' berries. *American Journal of Enology and Viticulture* **22**, 71–75.
- Dai, Z.W., Ollat, N., Gomes, E., Decroocq, S., Tandonnet, J.P., Bordenave, L., Pieri, P., Hilbert, G., Kappel, C., Van Leeuwen, C., Vivin, P. and Delrot, S. (2011) Ecophysiological, genetic and molecular causes of variation in grape berry weight and composition: a review. *American Journal of Enology and Viticulture* **62**, 413–425.
- DeBolt, S., Ristic, R., Iland, P.G. and Ford, C.M. (2008) Altered light interception reduces grape berry weight and modulates organic acid biosynthesis during development. *HortScience* **43**, 957–961.
- Duchêne, E., Butterlin, G., Claudel, P., Dumas, V., Jaegli, N. and Merdinoglu, D. (2009) A grapevine (*Vitis vinifera* L.) deoxy-d-xylulose synthase gene colocalizes with a major quantitative trait loci for terpenol content. *Theoretical and Applied Genetics* **118**, 541–552.
- Duchêne, E., Huard, F., Dumas, V., Schneider, C. and Merdinoglu, D. (2010) The challenge of adapting grapevine varieties to climate change. *Climate Research* **41**, 193–204.
- Duchêne, E., Butterlin, G., Dumas, V. and Merdinoglu, D. (2012a) Towards the adaptation of grapevine varieties to climate change: QTLs and candidate genes for developmental stages. *Theoretical and Applied Genetics* **124**, 623–635.
- Duchêne, E., Dumas, V., Jaegli, N. and Merdinoglu, D. (2012b) Deciphering the ability of different grapevine genotypes to accumulate sugar in berries. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **18**, 319–328.
- Eibach, R., Zyprian, E., Welter, L. and Töpfer, R. (2007) The use of molecular markers for pyramiding resistance genes in grapevine breeding. *Vitis* **46**, 120–124.
- Fournier-Level, A., Le Cunff, L., Gomez, C., Doligez, A., Ageorges, A., Roux, C., Bertrand, Y., Souquet, J.M., Cheynier, V. and This, P. (2009) Quantitative genetic bases of anthocyanin variation in grape (*Vitis vinifera* L. ssp. *sativa*) berry: a quantitative trait locus to quantitative trait nucleotide integrated study. *Genetics* **183**, 1127–1139.
- Gong, H., Blackmore, D.H. and Walker, R.R. (2010) Organic and inorganic anions in Shiraz and Chardonnay grape berries and wine as affected by rootstock under saline conditions. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **16**, 227–236.
- Hale, C.R. (1977) Relation between potassium and the malate and tartrate contents of grape berries. *Vitis* **16**, 9–19.
- Huglin, P. and Schneider, C. (1998) *Biologie et écologie de la vigne* (Lavoisier: Paris, France).
- Iland, P.G. and Coombe, B.G. (1988) Malate, tartrate, potassium, and sodium in flesh and skin of Shiraz grapes during ripening – concentration and compartmentation. *American Journal of Enology and Viticulture* **39**, 71–76.
- Jackson, D.I. and Lombard, P.B. (1993) Environmental and management practices affecting grape composition and wine quality – a review. *American Journal of Enology and Viticulture* **44**, 409–430.
- Jaillon, O., Aury, J., Noel, B., Polcristi, A., Clepet, C., Casagrande, A., Choise, N., Aubourg, S., Vitulo, N., Jubin, C., Vezzi, A., Legeai, F., Huguency, P., Dasilva, C., Horner, D., Mica, E., Jublot, D., Poulain, J., Bruyere, C., Billault, A., Segurens, B., Gouyvenoux, M., Ugarte, E., Cattonaro, F., Anthouard, V., Vico, V., Del Fabbro, C., Alaux, M., Di Gasparo, G., Dumas, V., Felice, N., Paillard, S., Juman, I., Moroldo, M., Scalabrini, S., Canaguier, A., Le Clainche, I., Malacrida, G., Durand, E., Pesole, G., Laucou, V., Chatelet, P., Merdinoglu, D., Delledonne, M., Pezzotti, M., Lecharny, A., Scarpelli, C., Artiguenave, F., Pe, M., Valle, G., Morgante, M., Caboche, M., Adam-Blondon, A., Weissenbach, J., Quetier, F. and Wincker, P. (2007) The grapevine genome sequence suggests ancestral hexaploidization in major angiosperm phyla. *Nature* **449**, 463–467.

- Kliewer, W.M. (1971) Effect of day temperature and light intensity on concentration of malic and tartaric acids in *Vitis vinifera* grapes. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **96**, 372–377.
- Kliewer, W.M., Howarth, L. and Omori, M. (1967) Concentrations of tartaric acid and malic acids and their salts in *Vitis vinifera* grapes. *American Journal of Enology and Viticulture* **18**, 42–54.
- Liu, H.F., Wu, B.H., Fan, P.G., Xu, H.Y. and Li, S.H. (2007) Inheritance of sugars and acids in berries of grape (*Vitis vinifera* L.). *Euphytica* **153**, 99–107.
- Lobit, P., Soing, P., Génard, M. and Habib, R. (2002) Theoretical analysis of relationships between composition, pH, and titratable acidity of peach fruit. *Journal of Plant Nutrition* **25**, 2775–2792.
- Lobit, P., Genard, M., Soing, P. and Habib, R. (2006) Modelling malic acid accumulation in fruits: relationships with organic acids, potassium, and temperature. *Journal of Experimental Botany* **57**, 1471–1483.
- Martinez-Zapater, J.M., Carmona, M.J., Diaz-Riquelme, J., Fernandez, L. and Lijavetzky, D. (2010) Grapevine genetics after the genome sequence: challenges and limitations. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **16**, 33–46.
- Parra, C.S., Aguirreolea, J., Sanchez-Diaz, M., Irigoyen, J.J. and Morales, F. (2010) Effects of climate change scenarios on Tempranillo grapevine (*Vitis vinifera* L.) ripening: response to a combination of elevated CO₂ and temperature, and moderate drought. *Plant and Soil* **337**, 179–191.
- Pavlousek, P. and Kumsta, M. (2011) Profiling of primary metabolites in grapes of interspecific grapevine varieties: sugars and organic acids. *Czech Journal of Food Sciences* **29**, 361–372.
- Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D. and the R Development Core Team (2013) nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. R package version 3:1–108.
- Pinheiro, J.C. and Bates, D.M. (2000) Mixed-effects models in S and S-plus (Springer Verlag: New York, NY, USA).
- R Core Team (2011) R: a language and environment for statistical computing (R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria) ISBN 3-900051-07-0. <http://www.R-project.org/>
- Riaz, S., Tenscher, A.C., Graziani, R., Krivanek, A.F., Ramming, D.W. and Walker, M.A. (2009) Using marker-assisted selection to breed Pierce's Disease-resistant grapes. *American Journal of Enology and Viticulture* **60**, 199–207.
- Ruffner, H.P. (1982) Metabolism of tartaric and malic acids in *Vitis* – a review. *A. Vitis* **21**, 247–259.
- Shiraishi, M. (1995) Proposed descriptors for organic acids to evaluate grape germplasm. *Euphytica* **81**, 13–20.
- Sweetman, C., Deluc, L.G., Cramer, G.R., Ford, C.M. and Soole, K.L. (2009) Regulation of malate metabolism in grape berry and other developing fruits. *Phytochemistry* **70**, 1329–1344.
- Trossais, J. and Asselin, C. (1985) Influence des teneurs en acide malique des moûts sur le dosage de l'acide tartrique en flux continu par colorimétrie avec le métavanadate. *Connaissance Vigne et Vin* **19**, 249–259.
- Wiedemann-Merdinoglu, S., Prado, E., Schneider, C., Coste, P., Onimus, C., Dumas, V., Butterlin, G., Bouquet, A. and Merdinoglu, D. (2006) Resistance to downy mildew derived from *Muscadinia rotundifolia*: genetic analysis and use of molecular markers for breeding. *Proceedings of the 5th International Workshop on grapevine downy and powdery mildew*; 18–23 June 2006; San Michele all'Adige, Italy (Istituto Agrario di San Michele all'Adige: San Michele all'Adige, Italy) p. 28.

Manuscript received: 20 November 2012

Revised manuscript received: 30 May 2013

Accepted: 10 June 2013

Supporting information

Additional Supporting Information may be found in the online version of this article: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ajgw.12051/abstract>

Table S1. Year-by-year analysis of variance for variables measured in the R1xGW progeny. *F*-value and percentage of variance explained (Exp.Var.) describe the 'Genotype' effect.

3. Actualisation

a) *Cinétiques d'évolution de l'acidité*

Le modèle empirique de dégradation de l'acide malique en fonction de la température que je propose est toujours unique à ce jour. Il doit être éprouvé dans une large gamme de situations avant de pouvoir conclure sur sa robustesse. Sans avoir une optique de modélisation, plusieurs équipes travaillent à mieux comprendre au niveau biochimique les relations entre températures et métabolisme de l'acide malique, ce qui peut conduire à affiner l'approche macroscopique. Une idée nouvelle à prendre en compte est que les quantités d'acide malique par baie peuvent augmenter si des températures élevées sont appliquées AVANT véraison, en particulier la nuit (Sweetman et al. 2014). De plus, une augmentation à la fois des températures minimales et des températures maximales a moins d'effet que la seule augmentation des températures maximales, comme si la dégradation de l'acide malique dépendait surtout de la différence de température entre le jour et la nuit. Le métabolisme de cet acide semble différent le jour et la nuit (Sweetman et al. 2014). La compartimentation cellulaire, la perméabilité des membranes et/ou la régulation de transporteurs membranaires pourraient jouer un rôle dans l'effet des températures sur le métabolisme de l'acide malique (Carbonell-Bejerano et al. 2013; Rienth et al. 2014a; Rienth et al. 2014b; Sweetman et al. 2014). Il est cependant montré que sous des températures élevées l'utilisation du malate dans le cycle des acides tricarboxyliques (TCA cycle), et donc comme substrat pour la respiration, est accélérée (Rienth et al. 2014b; Sweetman et al. 2014) alors que sa synthèse, évaluée par l'activité phosphoénol pyruvate carboxylase (PEPC), est réduite (Sweetman et al. 2014). Ces études très détaillées doivent nous aider à mieux anticiper les effets du changement climatique sur les teneurs en acide malique des baies mais aussi nous fournir des gènes candidats pour expliquer les variations observées entre génotypes.

b) *Variabilité génétique et recherche de QTLS*

Viana et al. (2013) ont mesuré plusieurs paramètres de qualité des raisins dans la descendance d'un croisement interspécifique complexe. Leur protocole de prélèvement est peu détaillé mais les fortes corrélations qu'ils observent entre TSS et pH ($r = 0,76$) ou entre TSS et acidité de titration ($r = 0,65$) suggèrent que les protocoles utilisés caractérisent des différences de précocité entre génotypes plutôt que des différences intrinsèques de métabolisme des raisins. Les QTLs que les auteurs proposent expliquent au mieux 10 % de la variance totale, pour le pH, et leur LOD score est toujours inférieur au LOD correspondant au seuil de signification de 5 %. Chen et al. (2015) par contre apportent des résultats plus convaincants. À partir de trois années de suivis des descendants d'un croisement interspécifique complexe, ils identifient des QTLs pour [malique] sur les chromosomes 6 et 18 et un QTL pour le ratio [tartrique]/[malique] sur le chromosome 18. Ils ne détectent pas de QTLs pour [tartrique].

Ils admettent toutefois la faible reproductibilité de leurs résultats, qu'ils mettent en partie sur le compte d'une « potential inconsistency in assessment of maturity ». Leur méthode de détermination des dates de prélèvements est en effet peu claire et fait intervenir la couleur des pépins et la facilité de détachement du pédicelle. L'approche utilisant les sommes de températures après véraison que je propose est une contribution qui peut s'avérer significative pour une définition partagée par la communauté scientifique internationale de la maturité des raisins.

J'ai effectué sur mes données une première recherche de QTLs en utilisant les données de génotypes microsatellites (Tableau V.1). On détecte des QTLs dès le premier prélèvement sur baies vertes (S1), pour les teneurs en acide malique, en acide tartrique et pour la somme des deux acides. C'est surtout pour le rapport T/MT ($[\text{tartrique}]/([\text{malique}]+[\text{tartrique}])$) que les effets les plus forts sont mis en évidence: le LOD score est de près de 22 pour un locus du chromosome 6 et le pourcentage de variance expliquée de l'ordre de 33 %. L'ensemble du modèle explique 75 % de la variance totale pour ce caractère.

Au prélèvement 230 °C.d après véraison (S2), on retrouve des QTLs forts pour le rapport T/MT mais seuls les QTLs des chromosomes 6 et 8 sont communs avec ceux détectés à S1. On ne détecte pas de QTLs significatif pour [malique] mais un QTL pour [tartrique] sur le chromosome 13, non détecté à S1.

Plus surprenant, des QTLs détectés pour le pH à S2 sur les chromosomes 14 et 19 ne colocalisent pas avec les QTLs pour les teneurs en acides organiques. Il existe donc des éléments que nous n'avons pas intégré à ce stade qui pourraient induire des variations de pH : la première hypothèse est qu'il s'agit des teneurs en potassium des baies.

Tableau V.1: QTLs pour l'acidité des raisins détectés avec trois années de données sur la carte consensus RIxGW construite à partir de données de données de génotypages microsatellites. La recherche a été réalisée avec le package R/qtl 1.35-3 sous R version 3.1.2 (méthode Multiple imputation, ndraws = 128). Tous les QTLs présentés ont un LOD score supérieur au LOD seuil pour $p = 0,05$ pour le génome entier calculé à partir de 1000 permutations.

Prélèvement	Caractère	Position (Chrom.@centimorgan)	LOD score	Variance expliquée (%)
S1 (baies vertes)	[malique]	6@28,0	9,52	26,7
		8@42,0	4,47	11,3
	[tartrique]	6@27,0	8,33	20,5
		8@34,0	7,09	17,0
		2@4,0	4,88	11,2
	[malique]+[tartrique]	5@12,5	5,50	13,3
		6@38,0	6,05	14,8
		7@4,3	5,41	13,1
	[tartrique]/ ([malique]+[tartrique])	6@28,0	21,79	33,7
		8@36,0	12,84	16,4
		1@78,0	11,66	14,5
		13@40,0	11,80	14,8
		6@28,0:13@40,0 ^[1]	5,95	6,6
S2 (230 °C.d après véraison)	[tartrique]	13@24	5,08	17,9
	[tartrique]/ ([malique]+[tartrique])	6@31,3	17,43	26,4
		8@40,0	14,76	21,1
		4@60,3	10,42	13,6
		12@24,0	6,51	7,9
		15@44,0	13,17	18,2
		6@31,3:15@44,0	6,72	8,1
	pH	13@17,1	12,93	33,6
		19@10,0	3,95	8,6
		14@30,2	8,08	19,0
		13@17,1:14@30,2	5,30	11,8

^[1] interaction entre deux loci

Cette première exploitation des résultats est encourageante car les QTLs que nous mettons en évidence ont des LOD scores et des taux de variance expliquée plus élevés que ceux qui ont été publiés jusqu'à présent. Cette analyse doit être poursuivie en utilisant les données de génotypage SNP et en complétant le jeu de données par des analyses des teneurs en potassium. Un des premiers enseignements que l'on peut tirer est qu'il y a manifestement un très fort déterminisme génétique pour le ratio T/MT, piloté par des QTLs sur les chromosomes 6 et 8, et c'est un des caractères qui nous intéresse en priorité pour l'adaptation au changement climatique. Les données de transcriptomiques (RNA seq) dont je dispose pour les parents fourniront vraisemblablement des gènes candidats pertinents pour expliquer les variations liées à ces QTLs.

c) Conclusion

Le comportement des deux variétés parents RI et GW pour l'acidité des raisins est, grâce à ce travail, désormais bien caractérisé, de même que les cinétiques d'évolution des acides organiques. Les protocoles de prélèvement mis en œuvre sur la descendance ont permis de détecter des QTLs en relation avec l'acidité des raisins, en particulier pour le ratio entre acide malique et acide tartrique dans les baies. Si l'on vérifie que la vitesse de dégradation de l'acide malique ne dépend pas des génotypes, il faudrait tester la pertinence de prélèvements les plus tardifs possibles, permettant d'accéder au plus près des valeurs asymptotiques de contenu en acide malique des baies. L'acidité des raisins se révèle un caractère pour lequel il y a davantage de possibilités de trouver des adaptations génétiques au changement climatique que pour les teneurs en sucres. On peut ainsi trouver dans la descendance des génotypes contenant une forte proportion d'acide tartrique, dont l'évolution des teneurs ne dépend pas des températures. La régulation du pH des baies fait appel à de nombreux mécanismes, et les teneurs en potassium doivent impérativement être introduites dans le système étudié. Enfin, les enseignements tirés de cette étude devraient être mis à profit pour étudier plus largement la variabilité génétique disponible dans les collections de *Vitis*.

VI. Conclusion générale et perspectives

L'objectif général de ce travail était d'évaluer dans quelle mesure la variabilité génétique chez la vigne pouvait contribuer à l'adaptation de la viticulture au changement climatique. Nous n'avons pas abordé toutes les facettes des conséquences du changement climatique: j'ai en effet exclu de mon champ d'investigation tous les problèmes consécutifs à une restriction de l'alimentation en eau, ainsi que toutes les modifications de composantes du rendement ou de production de métabolites secondaires. Nous nous sommes concentrés sur l'objectif de maintenir un rapport sucres/acides satisfaisant dans le futur. Pour cela j'ai envisagé trois hypothèses:

- Peut-on trouver des génotypes dont la période de maturation serait assez tardive pour compenser la hausse attendue des températures?
- Peut-on envisager une maîtrise des teneurs en sucres des raisins à la récolte par des variétés ayant de moindres capacités d'accumulation?
- Quelles sont les possibilités génétiques de conserver des acidités élevées dans des conditions de maturation chaudes?

Pour répondre à la première question, j'ai développé un modèle de prévision des dates de débourrement, de floraison et de véraison utilisant uniquement les températures de l'air. Ce modèle est actuellement utilisé par le Comité Interprofessionnel des Vins d'Alsace pour proposer une prévision, actualisée quotidiennement, des stades du Riesling et du Gewurztraminer en Alsace. Ce modèle peut être amélioré pour la prévision du débourrement et sans doute pour la véraison. De nouvelles hypothèses ont en effet été récemment émises sur un effet de la photopériode sur la date de débourrement: elles méritent d'être examinées car selon les conclusions, l'appréciation du risque de gelées printanières au moment du débourrement dans le futur peut être radicalement revue. Par ailleurs, des données convergentes montrent que la date de véraison dépend non seulement des températures de l'air mais également du rapport fruit/feuille des plantes. Il serait utile de quantifier l'impact de l'introduction de ce type d'information sur la précision des modèles.

L'utilisation de ce modèle pour le Riesling et le Gewurztraminer avec des scénarios d'évolution du climat met en évidence un avancement des dates de débourrement, floraison et véraison dans le futur. Il y aura un double effet du changement climatique: d'une part la période de maturation des raisins sera plus précoce et donc se décalera vers les périodes plus chaudes du milieu de l'été, et d'autre part, à date calendaire égale, on s'attend à des températures plus élevées. Les simulations pour le poste de Colmar prévoient ainsi des augmentations de températures pendant la maturation des raisins de 5-

6 °C à l'horizon 2050, de 6-7 °C pour la fin du XXI^e siècle. Il est très vraisemblable que de telles augmentations auront des impacts notables sur la composition des raisins. La relation directe entre températures et vitesse de dégradation de l'acide malique que j'ai mise en évidence est un résultat concret permettant de quantifier l'impact de ces augmentations de température sur l'acidité des raisins.

Les paramètres du modèle de prévision des stades de développement ont également été calculés pour des collections de cépages des collections de l'INRA Colmar ainsi que pour les descendants d'un croisement entre Riesling et Gewurztraminer. L'utilisation de paramètres calculés pour des variétés tardives, ou théoriques pour des génotypes virtuels descendants du croisement RIxGW, m'a permis de calculer les dates de véraison les plus tardives possibles avec les données dont je dispose. Même en utilisant de tels génotypes, il n'est pas possible de retrouver dans le futur des conditions de maturation fraîches telles que nous les connaissons actuellement. Ce résultat peut être la conséquence de l'utilisation d'une diversité génétique trop étroite. Une exploration plus exhaustive des collections et des données disponibles à l'INRA, en caractérisant les génotypes par des sommes de températures requises pour atteindre les stades clés, doit permettre de consolider les conclusions de mon étude. On retiendra cependant que si les prévisions des climatologues sont exactes, nous sommes dans une situation d'instabilité: même si une variété est adaptée à un milieu donné à un moment donné, une décennie plus tard, il est fort probable que sa véraison aura lieu plus tôt et que la maturation de ses raisins se fera en conditions plus chaudes. L'adaptation doit donc davantage viser la production de raisins d'une composition la plus stable possible quelles que soient les conditions de températures que de rechercher une maturation à des dates qui ne seront optimales que sur un pas de temps limité.

L'utilisation de génotypes virtuels dans les simulations que je viens d'évoquer a été possible parce que j'ai montré qu'il y avait des déterminants génétiques différents pour la date de débourrement, pour la durée débourrement-floraison et pour la durée floraison-véraison. J'ai en effet, à partir des données de génotypage microsatellite obtenues sur 120 descendants de la population RIxGW, identifié six QTLs robustes et indépendants pour ces trois caractères exprimés en sommes de température. Il est donc possible d'imaginer associer dans un même génotype les combinaisons d'allèles conférant la plus grande tardiveté possible pour chacune des trois périodes, et donc la plus grande tardiveté possible à la véraison. Je n'ai pas exploré jusqu'au bout l'idée inverse: quel sens aurait l'utilisation d'un génotype hyper-précoce, capable d'achever la maturation des raisins avant les périodes chaudes de l'été? Si dans les simulations pour le poste de Colmar un tel génotype (virtuel) ne permet pas d'atteindre cet objectif (voir page 177), faire des simulations dans d'autres contextes climatiques, plus au sud, avec des génotypes réels ou virtuels, permettrait d'obtenir des données objectives sur la pertinence de cette idée. Il faudrait de plus analyser dans quelle mesure les températures pendant la maturation des raisins seraient plus stables avec les évolutions climatiques avec une variété hyper-précoce qu'avec une variété tardive : la période de maturation de la première se décalant vers le début

de l'été, avant les périodes de fortes chaleurs, alors que la période de maturation de la seconde se décalera vers le milieu de l'été.

La recherche de gènes dans les intervalles de confiance des QTLs détectés pour les stades de développement a fait ressortir des candidats au fort potentiel: on peut citer pour la floraison *FT* sur le chromosome 7, *FLC2* ainsi qu'un gène de type *CONSTANS* sur le chromosome 14. Pour la véraison, des gènes impliqués dans les réponses à l'ABA ou aux sucres sont suggérés: un récepteur d'ABA de type *RCAR* sur le chromosome 16, et *VvMSA*, gène la famille *ASR* (« ABA, stress, ripening-related ») sur le chromosome 18. L'implication de ces gènes dans la variabilité des stades de développement peut être vérifiée d'un part en caractérisant davantage de descendants de la population *RlxGW* mais aussi par une approche de type génétique d'association utilisant des collections de génotypes non-apparentés. Il faut pour se faire obtenir des données phénotypiques sur ces génotypes mais aussi caractériser la diversité dans les séquences de ces gènes candidats. Une hypothèse issue de l'analyse de mes résultats à garder à l'esprit est que le déterminisme génétique de la phénologie n'est peut-être pas seulement du à des variations de séquences dans les gènes candidats, ou dans leurs promoteurs. Ce déterminisme pourrait résulter de l'action combinée de deux gènes physiquement proches sur le génome dont on sait qu'il y a interférence entre eux (*FT/SVP1* sur le chromosome 7), ou bien de l'action d'un élément régulateur, un miRNA par exemple, à proximité du gène ciblé (*VvCOL2* sur le chromosome 14). Nous disposons des séquences complètes du génome du Riesling et du Gewurztraminer, ce qui nous permettra de détecter les variations alléliques existant dans ces parents et d'explorer ces hypothèses. Démontrer le rôle effectif des variations alléliques dans les loci retenus sur les stades de développement ne pourra se faire que par des expériences de transformation stable de la vigne. Etant donné la lourdeur du processus, il faudra que les effets attendus soient très forts avant d'envisager cette démarche. Quoiqu'il en soit, les résultats que j'ai obtenus peuvent fournir des hypothèses sur les mécanismes moléculaires déterminant les stades de développement. Sans envisager la création de nouvelles variétés, des connaissances fondamentales sur les déterminants de la phénologie de la vigne peuvent ouvrir des possibilités dont nous n'avons pas pour l'instant idée pour contrôler les stades dans le futur.

Le suivi de l'accumulation des sucres et des composantes de l'acidité sur le Riesling et le Gewurztraminer pendant trois campagnes au vignoble a fourni des éléments-clés permettant la comparaison d'effectifs élevés de génotypes. J'ai montré que les évolutions des teneurs en sucres et de l'acidité étaient bien expliquées par les cumuls de températures à partir de la véraison. Des prélèvements à une somme de température fixe après véraison permettent donc de mieux comparer des génotypes entre eux que des prélèvements soit à une date fixe, soit à un nombre de jours fixe après véraison. Une estimation du potentiel d'accumulation des sucres par des prélèvements lorsque les génotypes ont atteint une certaine concentration en sucres est également biaisée car je montre pour

les parents, et pour la population RlxGW, que les teneurs en sucres à un moment donné dépendent du rapport fruit/feuille des plantes. Ma démarche est validée par la détection de QTLs pour les teneurs en sucres des raisins indépendants des QTLs détectés pour les stades de développement. Les résultats obtenus participent à une réflexion récurrente sur la définition de la maturation des raisins, que ce soit pour comparer des génotypes, des vignobles ou des millésimes. Je ne propose ici qu'une réponse partielle. L'effort doit se poursuivre pour analyser des données de cinétiques existantes, voire en acquérir de nouvelles dans des situations contrastées. Il faut en effet bien identifier les avantages, mais aussi les limites de la méthode que je propose, pour fournir à la communauté internationale des arguments pour qu'elle adopte ma démarche.

L'enjeu est plus important pour l'acidité que pour les teneurs en sucres. J'ai montré que la variabilité génétique pour les teneurs en sucres à la récolte dépend beaucoup des dates de véraison, du rapport fruit/feuille mais relativement peu de la physiologie propre des raisins. Il y a donc beaucoup de niveaux d'information génétique à intégrer si l'on veut imaginer un idéotype de vigne accumulant un niveau de sucres donné dans les raisins. Il faudrait en effet combiner des allèles de loci gouvernant les stades de développement, les composantes du rendement, le développement végétatif, et éventuellement le métabolisme des baies. Pour maîtriser les teneurs en sucres des raisins dans un contexte de réchauffement climatique, il faut avant tout explorer les possibilités des modes de conduite et des techniques culturales pour contrôler le rapport fruit/feuille avant d'investir dans des constructions génétiques.

Pour l'acidité, le constat est totalement différent puisque les modes de conduites et les techniques culturales ne vont que marginalement avoir un effet sur l'acidité des raisins, mais, qu'à l'opposé, il y a manifestement des déterminants génétiques forts sur les teneurs en acide malique, en acide tartrique et sur le pH des baies. L'acidité à la vendange dépend bien entendu des dates de véraison, mais j'ai mis en évidence une forte variabilité génétique pour le rapport entre acide malique et acide tartrique des raisins, ainsi que des QTLs associés. Ce résultat est essentiel dans la mesure où les quantités d'acide tartrique des baies ne dépendent pas des températures, contrairement aux quantités d'acide malique. Il est donc envisageable de créer des génotypes adaptés aux conditions climatiques du futur, capables de garder des niveaux d'acidité adéquats même en cas de maturation sous fortes températures. Le comportement de génotypes virtuels pourrait être testé vis-à-vis de l'acidité des raisins sur le modèle des travaux réalisés pour les stades de développement. Il faudra cependant au préalable s'assurer de la robustesse et identifier les limites du modèle de dégradation de l'acide malique que je propose.

Il faut également explorer plus avant les déterminants génétiques du pH des raisins. Il est possible de montrer que des variations (en mmol.l⁻¹) de teneurs en potassium des baies ont plus d'impact sur le pH que les mêmes variations de teneurs en acide malique ou en acide tartrique. Il est

donc indispensable d'investir dans la recherche des déterminants génétiques des teneurs en potassium des baies.

Les résultats obtenus dans ce travail peuvent se voir sous deux angles. Le premier est un angle d'écophysiologie de la vigne. On peut y inclure la modélisation des stades de développement pour le Riesling et le Gewurztraminer, et leur simulation dans le climat du futur, la caractérisation des cinétiques d'accumulation des sucres et de la dégradation de l'acide malique, la quantification de l'effet du rapport fruit/feuille. Sur chacun de ces points des résultats originaux ont été obtenus, et publiés.

Le deuxième angle est celui de la génétique quantitative. Pour la phénologie, les teneurs en sucres ou l'acidité des raisins, la variabilité génétique a été caractérisée parmi les descendants de croisements entre Riesling et Gewurztraminer et des zones du génome participant à la variabilité des caractères analysés ont été identifiées. Le travail sur les stades de développement est le plus abouti, avec la proposition de gènes candidats. Cette analyse génétique va être enrichie par l'exploitation des données de génotypage SNP à haute densité et par l'utilisation des données de séquences génomiques complètes du Riesling et du Gewurztraminer maintenant disponibles.

La combinaison de ces deux angles d'approche permet de quantifier les effets de variations alléliques non sur les caractères mesurés directement mais plutôt sur des paramètres de modèles écophysiologiques. Mes simulations de stades de développement dans le futur avec des génotypes virtuels constituent à ce jour l'unique exercice de ce type réalisé pour la vigne. L'utilisation d'une telle démarche pourrait être appliquée dans notre contexte à des simulations de l'acidité des raisins dans le futur, mais elle est plus indispensable encore pour tester le comportement de variétés de greffons et de porte-greffe selon différents scénarios de disponibilité en eau. Cette méthode permet de simuler le comportement de génotypes dans des environnements variés. Elle est d'autant plus nécessaire que les variétés issues des programmes de sélection actuels seront très vraisemblablement utilisées dans des conditions climatiques différentes de celles dans lesquelles elles ont été évaluées.

Les perspectives ouvertes par les travaux présentés ici sont nombreuses. Les modèles de développement ou de cinétiques de maturation des baies peuvent toujours être améliorés, en étendant les jeux de données analysées pour évaluer leur robustesse, mais aussi en testant l'introduction de nouveaux paramètres. L'enjeu prioritaire concerne cependant le modèle d'évolution de l'acidité des raisins : quelles sont les sources de variabilité des paramètres ? Comment introduire les teneurs en potassium dans le système ?

D'un point de vue génétique, seule une partie limitée de la diversité existante a été explorée ici. Que ce soit pour les stades de développement, pour les sucres ou les acides, un travail plus exhaustif devrait être entrepris sur la base de collections représentatives de la diversité existante, en utilisant l'approche que je propose afin d'obtenir des valeurs génétiques les plus indépendantes possibles des

conditions de milieu. À partir de ces données, des exercices de simulations avec les génotypes extrêmes pourront être entrepris pour différents vignobles, dans l'objectif de quantifier les températures pendant la maturation des raisins et les niveaux d'acidité probables. Les déterminants génétiques de ces variations pourront être recherchés par des méthodes de génétique d'association. En parallèle, la caractérisation des variations alléliques dans les gènes candidats et dans les régions voisines devrait permettre des progrès dans les connaissances sur les mécanismes moléculaires gouvernant les stades de développement ou l'acidité des raisins.

Nous avons envisagé l'adaptation de la viticulture au changement climatique par l'utilisation de nouvelles variétés. Les processus effectivement mis en œuvre dans les vignobles dépendront de facteurs tels que l'évolution des attentes des consommateurs, le marché mondial, la compétitivité des entreprises, les politiques publiques et réglementaires, les stratégies décidées localement. D'un point de vue technique, des modifications des modes de conduite et des techniques culturales peuvent être mises en œuvre assez rapidement. Les changements de variétés ne se feront qu'à plus long terme et seront d'autant mieux acceptés que les viticulteurs auront des assurances quant à la pertinence de leurs choix. En explorant la diversité génétique et l'architecture génétique de caractères d'intérêt agronomique, en proposant de simuler des comportements dans le futur, mon travail pose les bases d'une démarche raisonnée d'anticipation du choix et de la création de variétés de vigne adaptées au climat du futur.

VII. Références

- Adam-Blondon AF, Roux C, Claux D, Butterlin G, Merdinoglu D, This P (2004) Mapping 245 SSR markers on the *Vitis vinifera* genome: a tool for grape genetics. *Theoretical and Applied Genetics* **109**: 1017-1027
- Agreste (2012). <http://agreste.agriculture.gouv.fr/enquetes/statistique-agricole-annuelle-saa> (5 mai 2015)
- Alston JM, Fuller KB, Lapsley JT, Soleas G (2011) Too much of a good thing? Causes and consequences of increases in sugar content of California wine grapes. *Journal of Wine Economics* **6**: 135-159
- Amasino RM, Michaels SD (2010) The Timing of flowering. *Plant Physiology* **154**: 516-520
- Bacilieri R, Lacombe T, Le Cunff L, Di Vecchi-Staraz M, Laucou V, Genna B, Peros JP, This P, Boursiquot JM (2013) Genetic structure in cultivated grapevines is linked to geography and human selection. *BMC Plant Biology* **13**: 25
- Baggiolini M (1952) Les stades repères dans le développement annuel de la vigne et leur utilisation pratique. *Revue Romande d'Agriculture et de Viticulture* **8**: 4-6
- Barba P, Cadle-Davidson L, Harriman J, Glaubitz JC, Brooks S, Hyma K, Reisch B (2014) Grapevine powdery mildew resistance and susceptibility loci identified on a high-resolution SNP map. *Theoretical and Applied Genetics* **127**: 73-84
- Barbeau G, Cadot Y, Neau F (2004) Détermination du degré de maturité des baies de raisin blanc (*Vitis vinifera* L. cv Chenin) par des mesures physiques. Joint Conference (SASEV, OIV and GESCO) on Viticultural Zoning, Cape Town, South Africa, 15-19 November 2004, pp 488-497
- Barnuud NN, Zerihun A, Gibberd M, Bates B (2014a) Berry composition and climate: responses and empirical models. *International Journal of Biometeorology* **58**: 1207-1223
- Barnuud NN, Zerihun A, Mpelasoka F, Gibberd M, Bates B (2014b) 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
- Battilana J, Costantini L, Emanuelli F, Sevini F, Segala C, Moser S, Velasco R, Versini G, Grando MS (2009) The 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate synthase gene co-localizes with a major QTL affecting monoterpene content in grapevine. *Theoretical and Applied Genetics* **118**: 653-669
- Battilana J, Emanuelli F, Gambino G, Gribaudo I, Gasperi F, Boss PK, Grando MS (2011) Functional effect of grapevine 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate synthase substitution K284N on Muscat flavour formation. *Journal of Experimental Botany* **62**: 5497-5508
- Bellin D, Peressotti E, Merdinoglu D, Wiedemann-Merdinoglu S, Adam-Blondon AF, Cipriani G, Morgante M, Testolin R, Di Gaspero G (2009) Resistance to *Plasmopara viticola* in grapevine 'Bianca' is controlled by a major dominant gene causing localised necrosis at the infection site. *Theoretical and Applied Genetics* **120**: 163-176
- Besselat B, Drouet G, Palagos B (1995) Méthodologie pour déterminer le besoin thermique nécessaire au départ de la floraison de la vigne. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin* **29**: 171-182
- Bindi M, Fibbi L, Gozzini B, Orlandini S, Miglietta F (1996) Modelling the impact of future climate scenarios on yield and yield variability of grapevine. *Climate Research* **7**: 213-224
- Bindi M, Fibbi L, Miglietta F (2001) Free Air CO₂ Enrichment (FACE) of grapevine (*Vitis vinifera* L.): II. Growth and quality of grape and wine in response to elevated CO₂ concentrations. *European Journal of Agronomy* **14**: 145-155

- Blasi P, Blanc S, Wiedemann-Merdinoglu S, Prado E, Rühl E, Mestre P, Merdinoglu D (2011) Construction of a reference linkage map of *Vitis amurensis* and genetic mapping of Rpv8 a locus conferring resistance to grapevine downy mildew. *Theoretical and Applied Genetics* **123**: 43-53
- Blin C (2005) Identification de jeux de marqueurs microsatellites pour l'établissement de cartes génétiques chez la vigne. IUT Louis Pasteur, 67 -Schiltigheim, p 28
- Bonada M, Sadras VO, Fuentes S (2013) Effect of elevated temperature on the onset and rate of mesocarp cell death in berries of Shiraz and Chardonnay and its relationship with berry shrivel. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **19**: 87-94
- Boneh U, Biton I, Zheng CL, Schwartz A, Ben-Ari G (2012) Characterization of potential ABA receptors in *Vitis vinifera*. *Plant Cell Reports* **31**: 311-321
- Bonnefoy C, Quenol H, Bonnardot V, Barbeau G, Madelin M, Planchon O, Neethling E (2013) Temporal and spatial analyses of temperature in a French wine-producing area: the Loire Valley. *International Journal of Climatology* **33**: 1849-1862
- Boss PK, Thomas MR (2000) Tendrils, inflorescences and fruitfulness: A molecular perspective. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **6**: 168-174
- Boss PK, Thomas MR (2002) Association of dwarfism and floral induction with a grape 'green revolution' mutation. *Nature* **416**: 847-850
- Bota J, Flexas J, Medrano H (2001) Genetic variability of photosynthesis and water use in Balearic grapevine cultivars. *Annals of Applied Biology* **138**: 353-361
- Böttcher C, Harvey K, Forde CG, Boss PK, Davies C (2011) Auxin treatment of pre-veraison grape (*Vitis vinifera* L.) berries both delays ripening and increases the synchronicity of sugar accumulation. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **17**: 1-8
- Boursiquot JM, Lacombe T, Laucou V, Julliard S, Perrin FX, Lanier N, Legrand D, Meredith C, This P (2009) Parentage of Merlot and related winegrape cultivars of southwestern France: discovery of the missing link. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **15**: 144-155
- Bowers J, Boursiquot JM, This P, Chu K, Johansson H, Meredith C (1999a) Historical genetics: The parentage of chardonnay, gamay, and other wine grapes of northeastern France. *Science* **285**: 1562-1565
- Bowers JE, Dangl GS, Meredith CP (1999b) Development and characterization of additional microsatellite DNA markers for grape. *American Journal of Enology and Viticulture* **50**: 243-246
- Bowers JE, Dangl GS, Vignani R, Meredith CP (1996) Isolation and characterization of new polymorphic simple sequence repeat loci in grape (*Vitis vinifera* L.). *Genome* **39**: 628-633
- Bowers JE, Meredith CP (1997) The parentage of a classic wine grape, Cabernet Sauvignon. *Nature Genetics* **16**: 84-87
- Bregaglio S, Donatelli M, Confalonieri R (2013) Fungal infections of rice, wheat, and grape in Europe in 2030–2050. *Agronomy for Sustainable Development* **33**: 767-776
- Briche E, Beltrando G, Somot S, Quenol H (2014) Critical analysis of simulated daily temperature data from the ARPEGE-climate model: application to climate change in the Champagne wine-producing region. *Climatic Change* **123**: 241-254
- Brisson N, Levrault F (2010) Changement climatique, agriculture et forêt en France: simulations d'impacts sur les principales espèces. *Le Livre Vert du projet CLIMATOR (2007-2010)*. ADEME Editions, Angers
- Broman KW, Saunak S (2009) A guide to QTL Mapping with R/qtl. Springer, New York
- Broman KW, Wu H, Sen S, Churchill GA (2003) R/qtl: QTL mapping in experimental crosses. *Bioinformatics* **19**: 889-890
- Bureau SM, Razungles AJ, Baumes RL (2000) The aroma of Muscat of Frontignan grapes: effect of the light environment of vine or bunch on volatiles and glycoconjugates. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **80**: 2012-2020

- Buttrose MS (1970) Fruitfulness in grape-vines : the response of different cultivars to light, temperature and daylength. *Vitis* **9**: 121-125
- Buttrose MS (1974) Fruitfulness in grapevine: effects of water stress. *Vitis* **12**: 299-305
- 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
- Caffarra A, Donnelly A, Chuine I (2011) Modelling the timing of *Betula pubescens* budburst. II. Integrating complex effects of photoperiod into process-based models. *Climate Research* **46**: 159-170
- Caffarra A, Eccel E (2010) Increasing the robustness of phenological models for *Vitis vinifera* cv. Chardonnay. *International Journal of Biometeorology* **54**: 255-267
- Caffarra A, Eccel E (2011) Projecting the impacts of climate change on the phenology of grapevine in a mountain area. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **17**: 52-61
- Caffarra A, Rinaldi M, Eccel E, Rossi V, Pertot I (2012) Modelling the impact of climate change on the interaction between grapevine and its pests and pathogens: European grapevine moth and powdery mildew. *Agriculture, Ecosystems & Environment* **148**: 89-101
- Cakir B, Agasse A, Gaillard C, Saumonneau A, Delrot S, Atanassova R (2003) A grape ASR protein involved in sugar and abscisic acid signaling. *The Plant Cell* **15**: 2165-2180
- Calderon-Urrea A, Dellaporta SL (1999) Cell death and cell protection genes determine the fate of pistils in maize. *Development* **126**: 435-441
- Calvino M, Messing J (2013) Discovery of MicroRNA169 gene copies in genomes of flowering plants through positional information. *Genome Biology and Evolution* **5**: 402-417
- Carbonell-Bejerano P, Santa Maria E, Torres-Perez R, Royo C, Lijavetzky D, Bravo G, Aguirreolea J, Sanchez-Diaz M, Antolin MC, Martinez-Zapater JM (2013) Thermotolerance responses in ripening berries of *Vitis vinifera* L. cv Muscat Hamburg. *Plant Cell Physiol* **54**: 1200-1216
- Carbonneau A (1989) L'exposition utile du feuillage : définition du potentiel du système de conduite. Systèmes de conduite de la vigne et mécanisation. OIVV, Paris, pp 13-33
- Carmona MJ, Calonje M, Martinez-Zapater JM (2007) The FT/TFL1 gene family in grapevine. *Plant Molecular Biology* **63**: 637-650
- Castede S, Campoy JA, Quero-Garcia J, Le Dantec L, Lafargue M, Barreneche T, Wenden B, Dirlwanger E (2014) Genetic determinism of phenological traits highly affected by climate change in *Prunus avium*: flowering date dissected into chilling and heat requirements. *New Phytologist* **202**: 703-715
- Castellarin SD, Bavaresco L, Falginella L, Gonçalves MIVZ, Di Gaspero G (2014) Phenolics in grape berry and key antioxidants. In: Geros H, Chaves MM, Delrot S (eds) *The biochemistry of the grape berry*. Bentham Science Publishers Ltd., Sharjah, U.A.E.
- Caubel J, Launay M, Garcia de Cortazar Atauri I, Ripoche D, Huard F, Buis S, Brisson N (2014) A new integrated approach to assess the impacts of climate change on grapevine fungal diseases: the coupled MILA_STICS model. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin. Special Laccave*: 45-54
- Celton JM, Martinez S, Jammes MJ, Bechti A, Salvi S, Legave JM, Costes E (2011) Deciphering the genetic determinism of bud phenology in apple progenies: a new insight into chilling and heat requirement effects on flowering dates and positional candidate genes. *New Phytologist* **192**: 378-392
- Cesaraccio C, Spano D, Snyder RL, Duce P (2004) Chilling and forcing model to predict bud-burst of crop and forest species. *Agricultural and Forest Meteorology* **126**: 1-13
- Cheema SS, Torregrosa L, Domergue P, Carbonneau A (1996) Evolution de la différenciation inflorescentielle durant l'organogénèse des bourgeons latents de *Vitis vinifera* L. cv. Syrah. *Progrès Agricole et Viticole* **113**: 257-262
- Chen J, Wang N, Fang L-C, Liang Z-C, Li S-H, Wu B-H (2015) Construction of a high-density genetic map and QTLs mapping for sugars and acids in grape berries. *BMC Plant Biology* **15**: 28

- Chuine I (2000) A unified model for budburst of trees. *Journal of Theoretical Biology* **207**: 337-347
- Chuine I, Yiou P, Viovy N, Seguin B, Daux V, Le Roy Ladurie E (2004) Grape ripening as a past climate indicator. *Nature* **432**: 289-290
- Cordeau J (1998) Création d'un vignoble. Greffage de la vigne et porte-greffes. Elimination des maladies à virus. Editions Féret, Bordeaux
- Correia C, Dinis LT, Pinheiro R, Fraga H, Ferreira H, Gonçalves I, Costa J, Oliveira A, Malheiro AC, Moutinho-Pereira J (2014) Climate change and adaptation strategies for viticulture. *Journal of International Scientific publications: agriculture and food* **2**: 424-429
- Costantini L, Battilana J, Lamaj F, Fanizza G, Grando MS (2008) Berry and phenology-related traits in grapevine (*Vitis vinifera* L.): From Quantitative Trait Loci to underlying genes. *BMC Plant Biology* **8**: 38
- Coupel-Ledru A, Lebon E, Christophe A, Doligez A, Cabrera-Bosquet L, Pechier P, Hamard P, This P, Simonneau T (2014) Genetic variation in a grapevine progeny (*Vitis vinifera* L. cvs GrenacheSyrah) reveals inconsistencies between maintenance of daytime leaf water potential and response of transpiration rate under drought. *Journal of Experimental Botany* **65**: 6205-6218
- D'Onofrio C, De Lorenzis G, Giordani T, Natali L, Cavallini A, Scalabrelli G (2010) Retrotransposon-based molecular markers for grapevine species and cultivars identification. *Tree Genetics & Genomes* **6**: 451-466
- Dai ZW, Ollat N, Gomes E, Decroocq S, Tandonnet JP, Bordenave L, Pieri P, Hilbert G, Kappel C, Van Leeuwen C, Vivin P, Delrot S (2011) Ecophysiological, genetic and molecular causes of variation in grape berry weight and composition: a review. *American Journal of Enology and Viticulture* **62**: 413-425
- Dai ZW, Vivin P, Barrieu F, Ollat N, Delrot S (2010) Physiological and modelling approaches to understand water and carbon fluxes during grape berry growth and quality development: a review. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **16**: 70-85
- Dai ZW, Vivin P, Robert T, Milin S, Li SH, Genard 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**: 527-540
- Dalbo MA, Ye GN, Weeden NF, Steinkellner H, Sefc KM, Reisch BI (2000) A gene controlling sex in grapevines placed on a molecular marker-base genetic map. *Genome* **43**: 333-340
- Davies C, Boss PK, Geros H, Lecourieux F, Delrot S (2014) Source/sink relationships and molecular biology of sugar accumulation in grape berries. In: Geros H, Chaves M, Delrot S (eds) *The Biochemistry of the Grape Berry*. Bentham Sciences Publishers Ltd, Sharjah, UAE, pp 44-65
- DeBolt S, Ristic R, Iland PG, Ford CM (2008) Altered light interception reduces grape berry weight and modulates organic acid biosynthesis during development. *HortScience* **43**: 957-961
- Di Gaspero G, Cipriani G, Marrazzo MT, Andreetta D, Castro MJP, Peterlunger E, Testolin R (2005) Isolation of (AC)n-microsatellites in *Vitis vinifera* L. and analysis of genetic background in grapevines under marker assisted selection. *Molecular Breeding* **15**: 11-20
- Di Gaspero G, Peterlunger E, Testolin R, Edwards KJ, Cipriani G (2000) Conservation of microsatellite loci within the genus *Vitis*. *Theoretical and Applied Genetics* **101**: 301-308
- Diaz-Riquelme J, Grimplet J, Martinez-Zapater JM, Carmona MJ (2012) Transcriptome variation along bud development in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *BMC Plant Biology* **12**: 181: 181
- Diaz-Riquelme J, Martinez-Zapater JM, Carmona MJ (2014) Transcriptional analysis of tendril and inflorescence development in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *PLoS One* **9**: 12: e92339
- Doerge RW, Churchill GA (1996) Permutation tests for multiple loci affecting a quantitative character. *Genetics* **142**: 285-294

- Doligez A, Adam-Blondon AF, Cipriani G, Di Gaspero G, Laucou V, Merdinoglu D, Meredith CP, Riaz S, Roux C, This P (2006) An integrated SSR map of grapevine based on five mapping populations. *Theoretical and Applied Genetics* **113**: 369-382
- Doligez A, Bertrand Y, Dias S, Grolier M, Ballester J-F, Bouquet A, This P (2010) QTLs for fertility in table grape (*Vitis vinifera* L.). *Tree Genetics & Genomes* **6**: 413-422
- Doligez A, Bertrand Y, Farnos M, Grolier M, Romieu C, Esnault F, Dias S, Berger G, Francois P, Pons T, Ortigosa P, Roux C, Houel C, Laucou V, Bacilieri R, Peros JP, This P (2013) New stable QTLs for berry weight do not colocalize with QTLs for seed traits in cultivated grapevine (*Vitis vinifera* L.). *BMC Plant Biology* **13**: 217
- Doligez A, Bouquet A, Danglot Y, Lahogue F, Riaz S, Meredith P, Edwards J, This P (2002) Genetic mapping of grapevine (*Vitis vinifera* L.) applied to the detection of QTLs for seedlessness and berry weight. *Theoretical and Applied Genetics* **105**: 780-795
- Duchêne E (1998) Variabilité génétique du rythme d'émission des feuilles chez la Vigne - relation avec la précocité de floraison. 10^e Journées du GESCO. Station fédérale de recherches en production végétale de Changins, Changins, Suisse, 26-28/5/1998, pp 72-78
- Duchêne E, Arnold G, Butterlin G, Claudel P, Dumas V, Jaegli N, Hugueney P, Merdinoglu D (2012a) Genetic determinism of geraniol and linalool concentrations in grapevine berries. In: Université Bordeaux Segalen (ed) *Oeno 2011, Actes de colloques du 9^{ième} symposium International d'Oenologie de Bordeaux*. Dunod, Paris
- Duchêne E, Butterlin G, Claudel P, Dumas V, Jaegli N, Merdinoglu D (2009) A grapevine (*Vitis vinifera* L.) deoxy-d-xylulose synthase gene colocates with a major quantitative trait loci for terpenol content. *Theoretical and Applied Genetics* **118**: 541-552
- Duchêne E, Butterlin G, Dumas V, Merdinoglu D (2012b) Towards the adaptation of grapevine varieties to climate change: QTLs and candidate genes for developmental stages. *Theoretical and Applied Genetics* **124**: 623-635
- Duchêne E, Huard F, Dumas V, Schneider C, Merdinoglu D (2010) The challenge of adapting grapevine varieties to climate change. *Climate Research* **41**: 193-204
- Duchêne E, Huard F, Pieri P (2014) Grapevine and climate change: what adaptations of plant material and training systems should we anticipate? *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin Spécial Laccave*: 61-69
- Duchêne E, Meluc D, Panigai L, Langellier F, Monamy C, Schneider C (2001a) Elaboration du nombre de baies par m² pour le pinot noir et le chardonnay en Alsace, Bourgogne et Champagne. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin* **35**: 215-224
- Duchêne E, Monamy C, Langellier F, Jaegli N, Salber R, Meluc D, Panigai L (2003) Incidence au vignoble des conditions de maturation sur l'élaboration du rendement au cours de l'année suivante. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin* **37**: 103-116
- Duchêne E, Schneider C (2005) Grapevine and climatic changes: a glance at the situation in Alsace. *Agronomy for Sustainable Development* **25**: 93-99
- Duchêne E, Schneider C, Gaudillère J-P (2001b) Effects of nitrogen nutrition timing on fruit set of grapevine, cv. Grenache. *Vitis* **40**: 45-46
- Eibach R, Zyprian E, Welter L, Töpfer R (2007) The use of molecular markers for pyramiding resistance genes in grapevine breeding. *Vitis* **46**: 120-124
- Elshire RJ, Glaubitz JC, Sun Q, Poland JA, Kawamoto K, Buckler ES, Mitchell SE (2011) A Robust, Simple Genotyping-by-Sequencing (GBS) Approach for High Diversity Species. *PLoS One* **6**: e19379
- Emanuelli F, Battilana J, Costantini L, Le Cunff L, Boursiquot JM, This P, Grando MS (2010) A candidate gene association study on muscat flavor in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *BMC Plant Biology* **10**: 241
- English Wine Producers Association (2014)
http://www.englishwineproducers.co.uk/files/6114/1165/4419/UK_Vineyard_Stats_May_2014.pdf (5 mai 2015)

- Escudier JL (2009) Vins de qualité à teneur réduite en alcool. Colloque de cloture du programme national de recherche en alimentation et nutrition humaine. Agence Nationale de la Recherche, Paris, 10-12 mars 2009, pp 55-59
- Falavigna VD, Porto DD, Buffon V, Margis-Pinheiro M, Pasquali G, Revers LF (2014) Differential transcriptional profiles of dormancy-related genes in apple buds. *Plant Molecular Biology Reporter* **32**: 796-813
- Fanizza G, Lamaj F, Costantini L, Chaabane R, Grando MS (2005) QTL analysis for fruit yield components in table grapes (*Vitis vinifera*). *Theoretical and Applied Genetics* **111**: 658-664
- Faostat (2012). <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx> (5 mai 2015)
- Fechter I, Hausmann L, Zyprian E, Daum M, Holtgrawe D, Weisshaar B, Topfer R (2014) QTL analysis of flowering time and ripening traits suggests an impact of a genomic region on linkage group 1 in *Vitis*. *Theoretical and Applied Genetics* **127**: 1857-1872
- Feechan A, Anderson C, Torregrosa L, Jermakow A, Mestre P, Wiedemann-Merdinoglu S, Merdinoglu D, Walker AR, Cadle-Davidson L, Reisch B, Aubourg S, Bentahar N, Shrestha B, Bouquet A, Adam-Blondon AF, Thomas MR, Dry IB (2013) Genetic dissection of a TIR-NB-LRR locus from the wild North American grapevine species *Muscadinia rotundifolia* identifies paralogous genes conferring resistance to major fungal and oomycete pathogens in cultivated grapevine. *Plant Journal* **76**: 661-674
- FEVS (2013). <http://www.fevs.com/fr/-/les-performances?idPage=3> (5 mai 2015)
- Fila G, Gardiman M, Belvini P, Meggio F, Pitacco A (2014) A comparison of different modelling solutions for studying grapevine phenology under present and future climate scenarios. *Agricultural and Forest Meteorology* **195-196**: 192-205
- Filippetti I, Movahed N, Allegro G, Valentini G, Pastore C, Colucci E, Intrieri C (2015) Effect of post-veraison source limitation on the accumulation of sugar, anthocyanins and seed tannins in *Vitis vinifera* cv. Sangiovese berries. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **21**: 90-100
- Flexas J, Galmés J, Gallé A, Gulías 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**: 106-121
- Fodor A, Segura V, Denis M, Neuenschwander S, Fournier-Level A, Chatelet P, Homa FAA, Lacombe T, This P, Le Cunff L (2014) Genome-Wide Prediction Methods in Highly Diverse and Heterozygous Species: Proof-of-Concept through Simulation in Grapevine. *PLoS One* **9**: e110436
- Fournier-Level A, Le Cunff L, Gomez C, Doligez A, Ageorges A, Roux C, Bertrand Y, Souquet JM, Cheynier V, This P (2009) Quantitative genetic bases of anthocyanin variation in grape (*Vitis vinifera* L. ssp sativa) berry: a quantitative trait locus to quantitative trait nucleotide integrated study. *Genetics* **183**: 1127-1139
- Frame DJ, Stone, A. D (2013) Assessment of the first consensus prediction on climate change. *Nature Climate Change* **3**: 357-359
- FranceAgrimer (2013). <http://www.franceagrimer.fr/filiere-vin-et-cidriculture/Vin/La-filiere-en-bref/La-production-de-vin-en-2013> (5 mai 2015)
- Franks T, Botta R, Thomas MR (2002) Chimerism in grapevines: implications for cultivar identity, ancestry and genetic improvement. *Theoretical and Applied Genetics* **104**: 192-199
- Friend AP, Trought MCT, Stushnoff C, Wells GH (2011) Effect of delaying budburst on shoot development and yield of *Vitis vinifera* L. Chardonnay 'Mendoza' after a spring freeze event. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **17**: 378-382
- Galet P (1990) Cépages et vignobles de France. Tome II. L'ampélographie française, 2nd edition, Montpellier
- Galet P (1998) Cépages et vignobles de France. Tome I. Les vignes américaines, 2nd edition, Montpellier
- Gambetta GA, Matthews MA, Shaghasi TH, McElrone AJ, Castellarin SD (2010) Sugar and abscisic acid signaling orthologs are activated at the onset of ripening in grape. *Planta* **232**: 219-234

- Garcia de Cortazar Atauri I (2006) Adaptation du modèle STICS à la vigne (*Vitis vinifera* L.). Utilisation dans le cadre d'une étude d'impact du changement climatique à l'échelle de la France. Biologie des systèmes intégrés-Agronomie-Environnement. Thèse de Doctorat. Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier, Montpellier, 292 p.
- Garcia de Cortazar Atauri I, Brisson N, Ollat N, Jacquet O, Payan JC (2009) Asynchronous dynamics of grapevine (*Vitis Vinifera*) maturation: experimental study for a modelling approach. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin* **43**: 83-97
- Garcia de Cortazar-Atauri I, Brisson N, Gaudillere JP (2009) Performance of several models for predicting budburst date of grapevine (*Vitis vinifera* L.). *International Journal of Biometeorology* **53**: 317-326
- Garris A, Clark L, Owens C, McKay S, Luby J, Mathiason K, Fennell A (2009) Mapping of photoperiod-induced growth cessation in the wild grape *Vitis riparia*. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **134**: 261-272
- Gatti M, Garavani A, Cantatore A, Parisi MG, Bobeica N, Merli MC, Vercesi A, Poni S (2015) Interactions of summer pruning techniques and vine performance in the white *Vitis vinifera* cv. Ortrugo. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **21**: 80-89
- Gaudillère J-P, Van Leeuwen C, Ollat N (2002) Carbon isotope composition of sugars in grapevine, an integrated indicator of vineyard water status. *Journal of Experimental Botany* **53**: 757-763
- GIEC (2000) Rapport Spécial du GIEC - Scénarios d'émissions - Résumé à l'attention des décideurs. <https://www.ipcc.ch/pdf/special-reports/spm/sres-fr.pdf>
- GIEC (2007) Bilan 2007 des changements climatiques : Rapport de synthèse. http://www.ipcc.ch/pdf/assessment-report/ar4/syr/ar4_syr_fr.pdf
- GIEC (2013) Changements climatiques 2013. Les éléments scientifiques. Résumé à l'intention des décideurs. https://www.ipcc.ch/pdf/assessment-report/ar5/wg1/WG1AR5_SummaryVolume_FINAL_FRENCH.pdf
- Gonçalves B, Falco V, Moutinho-Pereira J, Bacelar E, Peixoto F, Correia C (2009) Effects of Elevated CO₂ on Grapevine (*Vitis vinifera* L.): volatile composition, phenolic content, and in vitro antioxidant activity of red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **57**: 265-273
- Gouthu S, Deluc LG (2015) Timing of ripening initiation in grape berries and its relationship to seed content and pericarp auxin levels. *BMC Plant Biology* **15**: 440
- Grando MS, Bellin D, Edwards KJ, Pozzi C, Stefanini M, Velasco R (2003) Molecular linkage maps of *Vitis vinifera* L. and *Vitis riparia* Mchx. *Theoretical and Applied Genetics* **106**: 1213-1224
- Grattapaglia D, Sederoff R (1994) Genetic linkage maps of *Eucalyptus grandis* and *Eucalyptus urophylla* using a pseudo testcross mapping strategy and RAPD markers. *Genetics* **137**: 1121-1137
- Greer DH, Weedon MM (2013) The impact of high temperatures on *Vitis vinifera* cv. Semillon grapevine performance and berry ripening. *Frontiers in plant science* **4**: 491
- Grzeskowiak L, Costantini L, Lorenzi S, Grando MS (2013) Candidate loci for phenology and fruitfulness contributing to the phenotypic variability observed in grapevine. *Theoretical and Applied Genetics* **126**: 2763-2776
- 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
- Halaly T, Zion B, Arbel A, Regev R, Barak M, Or E (2011) Short exposure to sublethal heat shock facilitates dormancy release in grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture* **62**: 106-112
- Hale CR (1977) Relation between potassium and the malate and tartrate contents of grape berries. *Vitis* **16**: 9-19
- Haley CS (1991) Use of DNA fingerprints for the detection of major genes for quantitative trait loci in domestic species. *Animal Genetics* **22**: 259-277

- Haley CS, Knott SA (1992) A simple regression method for mapping quantitative trait loci in line crosses using flanking markers. *Heredity* **69**: 315-324
- Hardie WJ, Martin SR (2000) Shoot growth on de-fruited grapevines: a physiological indicator for irrigation scheduling. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **6**: 52-58
- Hayman P, Longbottom M, McCarthy M, Thomas D (2012) Managing grapevines during heat waves. Grape and wine research and development corporation
- Herrmann D, Barre P, Santoni S, Julier B (2010) Association of a CONSTANS-LIKE gene to flowering and height in autotetraploid alfalfa. *Theoretical and Applied Genetics* **121**: 865-876
- Ho WWH, Weigel D (2014) Structural features determining flower-promoting activity of Arabidopsis FLOWERING LOCUS T. *The Plant Cell* **26**: 552-564
- Hocquigny S, Pelsy F, Dumas V, Kindt S, Heloir MC, Merdinoglu D (2004) Diversification within grapevine cultivars goes through chimeric states. *Genome* **47**: 579-589
- Huang YF, Doligez A, Fournier-Level A, Le Cunff L, Bertrand Y, Canaguier A, Morel C, Miralles V, Veran F, Souquet JM, Cheynier V, Terrier N, This P (2012) Dissecting genetic architecture of grape proanthocyanidin composition through quantitative trait locus mapping. *BMC Plant Biology* **12**: 30
- Huglin P (1958) Recherches sur les bourgeons de la vigne : initiation florale et développement végétatif. Thèse de doctorat. Université de Strasbourg.
- Huglin P, Balthazard J (1975) Variabilité et fluctuation de la composition des inflorescences et des grappes chez quelques variétés de *Vitis vinifera*. *Vitis* **14**: 6-13
- Huglin P, Schneider C (1998) Biologie et écologie de la vigne. Lavoisier, Paris
- Hugueney P, Duchêne E, Merdinoglu D (2012) 1--deoxy--D--xylulose 5--phosphate synthase alleles responsible for enhanced terpene biosynthesis Patent WO 2012/052171 A1. Génoplante--Valor, France
- Iland PG, Coombe BG (1988) Malate, tartrate, potassium, and sodium in flesh and skin of Shiraz grapes during ripening - concentration and compartmentation. *American Journal of Enology and Viticulture* **39**: 71-76
- INSEE (2013). http://www.insee.fr/fr/themes/tableau.asp?reg_id=0&id=129 (5 mai 2015)
- Intrigliolo DS, Pérez D, Risco D, Yeves A, Castel JR (2012) Yield components and grape composition responses to seasonal water deficits in Tempranillo grapevines. *Irrigation Science* **30**: 339-349
- IPCC (2007) Climate change 2007. Synthesis report. Summary for policy makers. http://www.ipcc.ch/pdf/assessment-report/ar4/syr/ar4_syr.pdf
- IPCC (2013) Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Summary for Policymakers. In: Stocker TF, Qin D, Plattner G-K, Tignor M, Allen SK, Boschung J, Nauels A, Xia Y, Bex V, Midgley PM (eds) Climate Change 2013: The Physical Science Basis Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, pp 3-30. http://www.ipcc.ch/pdf/assessment-report/ar5/wg1/WG1AR5_SPM_FINAL.pdf
- Jackson DI, Lombard PB (1993) Environmental and management practices affecting grape composition and wine quality - a review. *American Journal of Enology and Viticulture* **44**: 409-430
- Jaillon O, Aury JM, Noel B, Policriti A, Clepet C, Casagrande A, Choisne N, Aubourg S, Vitulo N, Jubin C, Vezzi A, Legeai F, Hugueney P, Dasilva C, Horner D, Mica E, Jublot D, Poulain J, Bruyere C, Billault A, Segurens B, Gouyvenoux M, Ugarte E, Cattonaro F, Anthouard V, Vico V, Del Fabbro C, Alaux M, Di Gaspero G, Dumas V, Felice N, Paillard S, Juman I, Moroldo M, Scalabrin S, Canaguier A, Le Clainche I, Malacrida G, Durand E, Pesole G, Laucou V, Chatelet P, Merdinoglu D, Delledonne M, Pezzotti M, Lecharny A, Scarpelli C, Artiguenave F, Pe ME, Valle G, Morgante M, Caboche M, Adam-Blondon AF, Weissenbach J, Quetier F, Wincker P (2007) The grapevine genome sequence suggests ancestral hexaploidization in major angiosperm phyla. *Nature* **449**: 463-465

- Jansen RC, Stam P (1994) High resolution of quantitative traits into multiple loci via interval mapping. *Genetics* **136**: 1447-1455
- Jogaiah S, Maske SR, Upadhyay A (2014) Rootstock induced changes in enzymes activity and biochemical constituents during budbreak in 'Thompson Seedless' grapevine. *Vitis* **53**: 57-64
- 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 GV, White MA, Cooper OR, Storchmann K (2005) Climate change and global wine quality. *Climatic Change* **73**: 319-343
- Kao CH, Zeng ZB, Teasdale RD (1999) Multiple interval mapping for quantitative trait loci. *Genetics* **152**: 1203-1216
- Kassemeyer HH, Staudt G (1983) Über das Wachstum von Endosperm, Embryo und Samenanlagen von *Vitis vinifera*. *Vitis* **22**: 109-119
- Kearsey MJ, Pooni HS (1996) The genetical analysis of quantitative traits, 1st ed. Chapman & Hall, London
- Keller M, Tarara JM, Mills LJ (2010) Spring temperatures alter reproductive development in grapevines. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **16**: 445-454
- Kliewer WM (1970) Effect of day temperature and light intensity on coloration of *Vitis vinifera* grapes. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **95**: 693-697
- Kliewer WM (1971) Effect of day temperature and light intensity on concentration of malic and tartaric acids in *Vitis vinifera* grapes. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **96**: 372-377
- Kliewer WM (1975) Effect of root temperature on budbreak, shoot growth, and fruit-set of Cabernet Sauvignon grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture* **26**: 82-89
- Kliewer WM, Torres RE (1972) Effect of controlled day and night temperatures on grape coloration. *American Journal of Enology and Viticulture* **23**: 71-77
- Kline KG, Sussman MR, Jones AM (2010) Abscissic acid receptors. *Plant Physiology* **154**: 479-482
- Kobayashi H, Takase H, Suzuki Y, Tanzawa F, Takata R, Fujita K, Kohno M, Mochizuki M, Suzuki S, Konno T (2011) Environmental stress enhances biosynthesis of flavor precursors, S-3-(hexan-1-ol)-glutathione and S-3-(hexan-1-ol)-L-cysteine, in grapevine through glutathione S-transferase activation. *Journal of Experimental Botany* **62**: 1325-1336
- Kobayashi S, Goto-Yamamoto N, Hirochika H (2004) Retrotransposon-induced mutations in grape skin color. *Science* **304**: 982-982
- Kodur S, Tisdall JM, Clingeleffer PR, Walker RR (2013) Regulation of berry quality parameters in 'Shiraz' grapevines through rootstocks (*Vitis*). *Vitis* **52**: 125-128
- Lacombe T, Boursiquot JM, Laucou V, Di Vecchi-Staraz M, Peros JP, This P (2013) Large-scale parentage analysis in an extended set of grapevine cultivars (*Vitis vinifera* L.). *Theoretical and Applied Genetics* **126**: 401-414
- Lander ES, Botstein D (1989) Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics* **121**: 185-199
- Lang GA (1987) Dormancy - a new universal terminology. *HortScience* **22**: 817-820
- Le Paslier MC (2013) The Grapereseq 18K *Vitis* genotyping chip. IX International Symposium on Grapevine Physiology and Biotechnology, April 21-26 2013, La Serena, Chile.
- Lebon E, Pellegrino A, Louarn G, Lecoœur 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, Lecoœur 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
- Lee JH, Yoo SJ, Park SH, Hwang I, Lee JS, Ahn JH (2007) Role of SVP in the control of flowering time by ambient temperature in Arabidopsis. *Genes & Development* **21**: 397-402

- Lijavetzky D, Cabezas JA, Ibanez A, Rodriguez V, Martinez-Zapater JM (2007) High throughput SNP discovery and genotyping in grapevine (*Vitis vinifera* L.) by combining a re-sequencing approach and SNPlex technology. *BMC Genomics* **8**: 424
- Lobell DB, Field CB, Cahill KN, Bonfils C (2006) Impacts of future climate change on California perennial crop yields: Model projections with climate and crop uncertainties. *Agricultural and Forest Meteorology* **141**: 208-218
- Lobit P, Soing P, Génard M, Habib R (2002) Theoretical analysis of relationships between composition, pH, and titratable acidity of peach fruit. *Journal of Plant Nutrition* **25**: 2775-2792
- Lodhi MA, Daly MJ, Ye GN, Weeden NF, Reisch BI (1995) A molecular marker based linkage map of *Vitis*. *Genome* **38**: 786-794
- Lodhi MA, Weeden NF, Reisch BI (1997) Characterization of RAPD markers in *Vitis*. *Vitis* **36**: 133-140
- Londo JP, Johnson LM (2014) Variation in the chilling requirement and budburst rate of wild *Vitis* species. *Environmental and Experimental Botany* **106**: 138-147
- Lorenz DH, Eichhorn KW, Bleiholder H, Klose R, Meier U, Weber E (1995) Growth Stages of the Grapevine: Phenological growth stages of the grapevine (*Vitis vinifera* L. ssp. *vinifera*) - Codes and descriptions according to the extended BBCH scale. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **1**: 100-103
- Louarn G, Dauzat J, Lecoœur J, Lebon E (2008) Influence of trellis system and shoot positioning on light interception and distribution in two grapevine cultivars with different architectures: an original approach based on 3D canopy modelling. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **14**: 143-152
- Loureiro MD, Martinez MC, Boursiquot JM, This P (1998) Molecular marker analysis of *Vitis vinifera* 'Albarino' and some similar grapevine cultivars. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **123**: 842-848
- Lynch M, Walsh B (1998) Genetics and analysis of quantitative traits. Sinauer, Sunderland, USA
- Malheiro AC, Santos JA, Fraga H, Pinto JG (2010) Climate change scenarios applied to viticultural zoning in Europe. *Climate Research* **43**: 163-177
- Marguerit E, Brendel O, Lebon E, van Leeuwen C, Ollat N (2012) Rootstock control of scion transpiration and its acclimation to water deficit are controlled by different genes. *New Phytologist* **194**: 416-429
- Martin SR, Dunn GM (2000) Effect of pruning time and hydrogen cyanamide on budburst and subsequent phenology of *Vitis vinifera* L. variety Cabernet Sauvignon in central Victoria. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **6**: 31-39
- Martinez de Toda F, Sancha JC, Zheng W, Balda P (2014) Leaf area reduction by trimming, a growing technique to restore the anthocyanins: sugars ratio decoupled by the warming climate. *Vitis* **53**: 189-192
- Martinez-Zapater JM, Carmona MJ, Diaz-Riquelme J, Fernandez L, Lijavetzky D (2010) Grapevine genetics after the genome sequence: challenges and limitations. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **16**: 33-46
- Matthews MA, Anderson MM (1989) Reproductive development in grape (*Vitis vinifera* L.) : responses to seasonal water deficit. *American Journal of Enology and Viticulture* **40**: 52-60
- Maurin Y (2004) Utilisation de techniques de biologie moléculaire pour une vérification de parenté chez la vigne. IUT de Colmar, Colmar (68), p 18
- McGovern PE, Glusker DL, Exner LJ, Voigt MM (1996) Neolithic resinated wine. *Nature* **381**: 480-481
- McGovern PE, Luley BP, Rovira N, Mirzoian A, Callahan MP, Smith KE, Hall GR, Davidson T, Henkin JM (2013) Beginning of viniculture in France. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **110**: 10147-10152
- Mead R (1997) Design of plant breeding trials. In: Kempton RA, Fox PN (eds) *Statistical methods for plant variety evaluation*. Chapman & Hall, London, pp 40-67

- Mejia N, Soto B, Guerrero M, Casanueva X, Houel C, Miccono Mde L, Ramos R, Le Cunff L, Boursiquot JM, Hinrichsen P, Adam-Blondon AF (2011) Molecular, genetic and transcriptional evidence for a role of VvAGL1 in stenospermocarpic seedlessness in grapevine. *BMC Plant Biology* **11**: 57
- Mercado-Martin GI, Wolpert JA, Smith RJ (2006) Viticultural evaluation of eleven clones and two field selections of Pinot noir grown for production of sparkling wine in Los Carneros, California. *American Journal of Enology and Viticulture* **57**: 371-376
- Merdinoglu D, Butterlin G, Bevilacqua L, Chiquet V, Adam-Blondon A-F, Decroocq S (2005) Development and characterization of a large set of microsatellite markers in grapevine (*Vitis vinifera* L.) suitable for multiplex PCR. *Molecular Breeding* **15**: 349-366
- Mimida N, Kidou SI, Lwanami H, Moriya S, Abe K, Voogd C, Varkonyi-Gasic E, Kotoda N (2011) Apple FLOWERING LOCUS T proteins interact with transcription factors implicated in cell growth and organ development. *Tree Physiology* **31**: 555-566
- Miyakawa T, Fujita Y, Yamaguchi-Shinozaki K, Tanokura M (2013) Structure and function of abscisic acid receptors. *Trends in Plant Science* **18**: 259-266
- Moisselin JM, Schneider M, Canellas C, Mestre O (2002) Les changements climatiques en France au XX^e siècle. Etude de longues séries homogénéisées de données de température et de précipitations. *La Météorologie* **38**: 45-56
- Molitor D, Caffarra A, Sinigoi P, Pertot I, Hoffmann L, Junk J (2014a) Late frost damage risk for viticulture under future climate conditions: a case study for the Luxembourgish winegrowing region. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **20**: 160-168
- Molitor D, Junk J, Evers D, Hoffmann L, Beyer M (2014b) A High-resolution cumulative degree day-based model to simulate phenological development of grapevine. *American Journal of Enology and Viticulture* **65**: 72-80
- 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, Bindi M, Fagarazzi C, Ferrise R, Trombi G (2011) Framework for high-resolution climate change impact assessment on grapevines at a regional scale. *Regional Environmental Change* **11**: 553-567
- Moutinho-Pereira J, Goncalves B, Bacelar E, Boaventura Cunha J, Coutinho J, Correia CM (2009) Effects of elevated CO₂ on grapevine (*Vitis vinifera* L.): physiological and yield attributes. *Vitis* **48**: 159-165
- Mullins MG (1968) Regulation of inflorescence growth in cuttings of the grape vine (*Vitis vinifera* L.). *Journal of Experimental Botany* **19**: 532-543
- Myles S, Boyko AR, Owens CL, Brown PJ, Grassi F, Aradhya MK, Prins B, Reynolds A, Chia JM, Ware D, Bustamante CD, Buckler ES (2011) Genetic structure and domestication history of the grape. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **108**: 3530-3535
- Neethling E, Barbeau G, Bonnefoy C, Quenol H (2012) Change in climate and berry composition for grapevine varieties cultivated in the Loire Valley. *Climate Research* **53**: 89-101
- Nendel C (2010) Grapevine bud break prediction for cool winter climates. *International Journal of Biometeorology* **54**: 231-241
- Niculcea M, López J, Sánchez-Díaz M, Carmen Antolín M (2014) Involvement of berry hormonal content in the response to pre- and post-veraison water deficit in different grapevine (*Vitis vinifera* L.) cultivars. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **20**: 281-291
- OIV (2001) 2^{nde} édition de la liste des descripteurs OIV pour les variétés et espèces de *Vitis*. OIV, Paris
- OIV (2013). <http://www.oiv.int/oiv/cms/index?rubricId=44538631-7ad2-49cb-9710-ad5b957296c7> (5 mai 2015)
- 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

- Oliveira M (1998) Calculation of budbreak and flowering base temperatures for *Vitis vinifera* cv. Touriga Francesa in the Douro region of Portugal. *American Journal of Enology and Viticulture* **49**: 74-78
- Ollat N, Gaudillere JP (1998) The effect of limiting leaf area during stage I of berry growth on development and composition of berries of *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon. *American Journal of Enology and Viticulture* **49**: 251-258
- Olukolu BA, Trainin T, Fan SH, Kole C, Bielenberg DG, Reighard GL, Abbott AG, Holland D (2009) Genetic linkage mapping for molecular dissection of chilling requirement and budbreak in apricot (*Prunus armeniaca* L.). *Genome* **52**: 819-828
- ONERC (2015). <http://www.developpement-durable.gouv.fr/-Indicateurs-du-changement,2907-.html> (8 mai 2015)
- Ophir R, Pang XQ, Halaly T, Venkateswari J, Lavee S, Galbraith D, Or E (2009) Gene-expression profiling of grape bud response to two alternative dormancy-release stimuli expose possible links between impaired mitochondrial activity, hypoxia, ethylene-ABA interplay and cell enlargement. *Plant Molecular Biology* **71**: 403-423
- Ouzeau G, Déqué M, Jouini M, Planton S, Vautard R, Jouzel J (2014) Le climat de la France au XXI^e siècle - Volume 4 - Scénarios régionalisés : édition 2014 pour la métropole et les régions d'outre-mer. Ministère de l'Écologie, du Développement durable et de l'Énergie. http://www.developpement-durable.gouv.fr/IMG/pdf/ONERC_Climat_France_XXI_Volume_4_VF_2.pdf
- Pallas B, Louarn G, Christophe A, Lebon E, Lecœur J (2008) Influence of intra-shoot trophic competition on shoot development in two grapevine cultivars (*Vitis vinifera*). *Physiologia Plantarum* **134**: 49-63
- Pallioti A, Panara F, Silvestroni O, Lanari V, Sabbatini P, Howell GS, Gatti M, Poni S (2013) Influence of mechanical postveraison leaf removal apical to the cluster zone on delay of fruit ripening in Sangiovese (*Vitis vinifera* L.) grapevines. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **19**: 369-377
- Pallioti A, Tombesi S, Silvestroni O, Lanari V, Gatti M, Poni S (2014) Changes in vineyard establishment and canopy management urged by earlier climate-related grape ripening: A review. *Scientia Horticulturae* **178**: 43-54
- Parker A, de Cortázar-Atauri IG, Chuine I, Barbeau G, Bois B, Boursiquot J-M, Cahurel J-Y, Claverie M, Dufourcq T, Gény L, Guimberteau G, Hofmann RW, Jacquet O, Lacombe T, Monamy C, Ojeda H, Panigai L, Payan J-C, Lovelle BR, Rouchaud E, Schneider C, Spring J-L, Storchi P, Tomasi D, Trambouze W, Trought M, van Leeuwen C (2013) Classification of varieties for their timing of flowering and veraison using a modelling approach: A case study for the grapevine species *Vitis vinifera* L. *Agricultural and Forest Meteorology* **180**: 249-264
- Parker AK, Garcia de Cortazar Aauri I, van Leeuwen C, Chuine I (2011) General phenological model to characterise the timing of flowering and veraison of *Vitis vinifera* L. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **17**: 206-216
- Parker AK, Hofmann RW, van Leeuwen C, McLachlan ARG, Trought MCT (2014) Leaf area to fruit mass ratio determines the time of veraison in Sauvignon Blanc and Pinot Noir grapevines. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **20**: 422-431
- Paterson AH, Damon S, Hewitt JD, Zamir D, Rabinowitch HD, Lincoln SE, Lander ES, Tanksley SD (1991) Mendelian factors underlying quantitative traits in Tomato - Comparison across species, generations, and environments. *Genetics* **127**: 181-197
- Pelsy F (2007) Untranslated leader region polymorphism of TVV1, a retrotransposon family, is a novel marker useful for analyzing genetic diversity and relatedness in the genus *Vitis*. *Theoretical and Applied Genetics* **116**: 15-27
- Pelsy F (2010) Molecular and cellular mechanisms of diversity within grapevine varieties. *Heredity* **104**: 331-340
- Pelsy F, Dumas V, Bevilacqua L, Hocquigny S, Merdinoglu D (2015) Chromosome replacement and deletion lead to clonal polymorphism of berry color in grapevine. *Plos Genetics* **11**: e1005081

- Perez FJ, Kuhn N, Vergara R (2011) Expression analysis of phytochromes A, B and floral integrator genes during the entry and exit of grapevine-buds from endodormancy. *Journal of Plant Physiology* **168**: 1659-1666
- Perez FJ, Vergara R, Or E (2009) On the mechanism of dormancy release in grapevine buds: a comparative study between hydrogen cyanamide and sodium azide. *Plant Growth Regulation* **59**: 145-152
- Peros JP, Berger G, Portemont A, Boursiquot JM, Lacombe T (2011) Genetic variation and biogeography of the disjunct *Vitis subg. Vitis* (Vitaceae). *Journal of Biogeography* **38**: 471-486
- Petrie PR, Clingeleffer PR (2005) Effects of temperature and light (before and after budburst) on inflorescence morphology and flower number of Chardonnay grapevines (*Vitis vinifera* L.) *Australian Journal of Grape and Wine Research* **11**: 59-65
- Petrie PR, Sadras VO (2008) Advancement of grapevine maturity in Australia between 1993 and 2006: putative causes, magnitude of trends and viticultural consequences. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **14**: 33-45
- Petrie PR, Trought MCT, Howell GS (2000) Fruit composition and ripening of Pinot Noir (*Vitis vinifera* L.) in relation to leaf area. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **6**: 46-51
- Pieri P, Fermaud M (2005) Effects of defoliation on temperature and wetness of grapevine berries. *Acta Horticulturae* **689**: 109-116
- Pieri P, Lebon E (2014) Modelling the future impacts of climate change on French vineyards. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin Spécial Laccave*: 35-43
- Pierre J-B, Bogard M, Herrmann D, Huyghe C, Julier B (2010) A CONSTANS-like gene candidate that could explain most of the genetic variation for flowering date in *Medicago truncatula*. *Molecular Breeding* **28**: 25-35
- Pilati S, Perazzolli M, Malossini A, Cestaro A, Dematte L, Fontana P, Dal Ri A, Viola R, Velasco R, Moser C (2007) Genome-wide transcriptional analysis of grapevine berry ripening reveals a set of genes similarly modulated during three seasons and the occurrence of an oxidative burst at veraison. *BMC Genomics* **8**: 428
- Pouget R (1963) Recherches physiologiques sur le repos végétatif de la vigne (*Vitis vinifera* L.) : la dormance des bourgeons et le mécanisme de sa disparition. *Annales de l'Amélioration des Plantes* **13**: 1-240
- Pouget R (1981) Action de la température sur la différenciation des inflorescences et des fleurs durant les phases de pré-débourrement et de post-débourrement des bourgeons latents de la vigne. *Connaissance Vigne et Vin* **15**: 65-79
- Pratt C (1971) Reproductive anatomy in cultivated grapes - a review. *American Journal of Enology and Viticulture* **22**: 92-109
- Pugliese M, Gullino ML, Garibaldi A (2010) Effects of elevated CO₂ and temperature on interactions of grapevine and powdery mildew: first results under phytotron conditions. *Journal of Plant Diseases and Protection* **117**: 9-14
- Ramos MC, Jones GV, Martinez-Casasnovas JA (2008) Structure and trends in climate parameters affecting winegrape production in northeast Spain. *Climate Research* **38**: 1-15
- Ramos MJN, Coito JL, Silva HG, Cunha J, Costa MMR, Rocheta M (2014) Flower development and sex specification in wild grapevine. *BMC Genomics* **15**: 1095
- Rasband WS (1997-2014) ImageJ. U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA
- Reynolds AG, Wardle DA (1993) Significance of viticultural and enological practices on monoterpenes flavorants of British Columbia-grown *Vitis vinifera* berries and juices. *Viticultural and Enological Sciences* **48**: 194-202
- Riaz S, Tenschler AC, Graziani R, Krivanek AF, Ramming DW, Walker MA (2009) Using marker-assisted selection to breed Pierce's disease-resistant grapes. *American Journal of Enology and Viticulture* **60**: 199-207

- Ribéreau-Gayon P, Dubourdieu D, Donèche B, Lonvaud A (2006) Handbook of Enology Volume 1. The Microbiology of Wine and Vinifications. 2nd Edition. John Wiley & Sons Ltd, The Atrium, Southern Gate, Chichester, England.
- Rienth M, Torregrosa L, Kelly MT, Luchaire N, Pellegrino A, Grimplet J, Romieu C (2014a) 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 (2014b) Day and night heat stress trigger different transcriptomic responses in green and ripening grapevine (*Vitis vinifera*) fruit. *BMC Plant Biology* **14**: 108
- Rios G, Leida C, Conejero A, Badenes ML (2014) Epigenetic regulation of bud dormancy events in perennial plants. *Frontiers in plant science* **5**: 247
- Rubio S, Donoso A, Perez FJ (2014) The dormancy-breaking stimuli "chilling, hypoxia and cyanamide exposure" up-regulate the expression of alpha-amylase genes in grapevine buds. *Journal of Plant Physiology* **171**: 373-381
- Ruffner HP (1982) Metabolism of tartaric and malic acids in *Vitis* - a review. *A. Vitis* **21**: 247-259
- Sadras VO, Moran MA (2012) Elevated temperature decouples anthocyanins and sugars in berries of Shiraz and Cabernet Franc. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **18**: 115-122
- Sadras VO, Moran MA (2013) Nonlinear effects of elevated temperature on grapevine phenology. *Agricultural and Forest Meteorology* **173**: 107-115
- Salazar-Parra C, Aguirreolea J, Sanchez-Diaz M, Irigoyen JJ, Morales F (2010) Effects of climate change scenarios on Tempranillo grapevine (*Vitis vinifera* L.) ripening: response to a combination of elevated CO₂ and temperature, and moderate drought. *Plant and Soil* **337**: 179-191
- Salinari F, Giosue S, Tubiello FN, Rettori A, Rossi V, Spanna F, Rosenzweig C, Gullino ML (2006) Downy mildew (*Plasmopara viticola*) epidemics on grapevine under climate change. *Global Change Biology* **12**: 1299-1307
- Santesteban LG, Miranda C, Royo JB (2011) Regulated deficit irrigation effects on growth, yield, grape quality and individual anthocyanin composition in *Vitis vinifera* L. cv. 'Tempranillo'. *Agricultural Water Management* **98**: 1171-1179
- Santos JA, Malheiro AC, Karremann MK, Pinto JG (2011) Statistical modelling of grapevine yield in the Port Wine region under present and future climate conditions. *International Journal of Biometeorology* **55**: 119-131
- Saumonneau A, Laloi M, Lallemand M, Rabot A, Atanassova R (2012) Dissection of the transcriptional regulation of grape ASR and response to glucose and abscisic acid. *Journal of Experimental Botany* **63**: 1495-1510
- Schar C, Vidale PL, Luthi D, Frei C, Haberli C, Liniger MA, Appenzeller C (2004) The role of increasing temperature variability in European summer heatwaves. *Nature* **427**: 332-336
- 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
- Schüttler A (2013) Influencing factors on aromatic typicality of wines from *Vitis vinifera* L. cv. Riesling - sensory, chemical and viticultural insights. Thèse de doctorat. Ecole doctorale des Sciences de la vie et de la santé. Université de Bordeaux 2/ Université de Giessen
- Sefc K, Regner F, Tureschek E, Glössl J, Steinkellner H (1999) Identification of microsatellite sequences in *Vitis riparia* and their applicability for genotyping of different *Vitis* species. *Genome* **42**: 367-373
- Serra I, Strever A, Myburgh PA, Deloire A (2014) Review: the interaction between rootstocks and cultivars (*Vitis vinifera* L.) to enhance drought tolerance in grapevine. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **20**: 1-14
- Shin JH, Chekanova JA (2014) Arabidopsis RRP6L1 and RRP6L2 Function in FLOWERING LOCUS C silencing via regulation of antisense RNA synthesis. *Plos Genetics* **10**: e1004612
- Shiraishi M (1995) Proposed descriptors for organic acids to evaluate grape germplasm. *Euphytica* **81**: 13-20

- Sreekantan L, Thomas MR (2006) VvFT and VvMADS8, the grapevine homologues of the floral integrators FT and SOC1, have unique expression patterns in grapevine and hasten flowering in Arabidopsis. *Functional Plant Biology* **33**: 1129-1139
- Staudt G (1999) Opening of flowers and time of anthesis in grapevines, *Vitis vinifera* L. *Vitis* **38**: 15-20
- Steyer D, Ambroset C, Brion C, Claudel P, Delobel P, Sanchez I, Erny C, Blondin B, Karst F, Legras JL (2012) QTL mapping of the production of wine aroma compounds by yeast. *BMC Genomics* **13**: 15: 573
- Stoll M, Lafontaine M, Schultz HR (2010) Possibilities to reduce the velocity of berry maturation through various leaf area to fruit ratio modifications in *Vitis vinifera* L. Riesling. *Progrès Agricole et Viticole* **127**: 68-71
- Sweetman C, Sadras VO, Hancock RD, Soole KL, Ford CM (2014) Metabolic effects of elevated temperature on organic acid degradation in ripening *Vitis vinifera* fruit. *Journal of Experimental Botany* **65**: 5975-5088
- Sweetman C, Wong DCJ, Ford CM, Drew DP (2012) Transcriptome analysis at four developmental stages of grape berry (*Vitis vinifera* cv. Shiraz) provides insights into regulated and coordinated gene expression. *BMC Genomics* **13**: 691
- Tardieu F (2003) Virtual plants: modelling as a tool for the genomics of tolerance to water deficit. *Trends in Plant Science* **8**: 9-14
- Teisseidre P-L (2013) Recueil des communications. In: Teisseidre P-L (ed) First International Conference: Alcohol level reduction in wine. Faculté d'œnologie - Université Bordeaux Segalen, Bordeaux (France), 6 Septembre 2013
- Teixeira A, Eiras-Dias J, Castellarin SD, Geros H (2013) Berry phenolics of grapevine under challenging environments. *International Journal of Molecular Sciences* **14**: 18711-18739
- Terray L, Boé J (2013) Quantifying 21st-century France climate change and related uncertainties. *Comptes Rendus Geoscience* **345**: 136-149
- Terrier N, Glissant D, Grimplet J, Barrieu F, Abbal P, Couture C, Ageorges A, Atanassova R, Leon C, Renaudin JP, Dedaldechamp F, Romieu C, Delrot S, Hamdi S (2005) Isogene specific oligo arrays reveal multifaceted changes in gene expression during grape berry (*Vitis vinifera* L.) development. *Planta* **222**: 832-847
- This P, Lacombe T, Thomas MR (2006) Historical origins and genetic diversity of wine grapes. *Trends in Genetics* **22**: 511-519
- Thomas MR, Scott NS (1993) Microsatellite repeats in grapevine reveal DNA polymorphisms when analysed as sequence-tagged sites (STSs). *Theoretical and Applied Genetics* **86**: 985-990
- Tomás M, Medrano H, Escalona JM, Martorell S, Pou A, Ribas-Carbó M, Flexas J (2014) Variability of water use efficiency in grapevines. *Environmental and Experimental Botany* **103**: 148-157
- Tonietto J, Carbonneau A (2004) A multicriteria climatic classification system for grape-growing regions worldwide. *Agricultural and Forest Meteorology* **124**: 81-97
- Troggio M, Malacarne G, Coppola G, Segala C, Cartwright DA, Pindo M, Stefanini M, Mank R, Moroldo M, Morgante M, Grando MS, Velasco R (2007) A dense single-nucleotide polymorphism-based genetic linkage map of grapevine (*Vitis vinifera* L.) anchoring Pinot noir bacterial artificial chromosome contigs. *Genetics* **176**: 2637-2650
- Van Leeuwen C, Tregoat O, Chone X, Bois B, Pernet D, Gaudillere JP (2009) Vine water status is a key factor in grape ripening and vintage quality for red Bordeaux wine. How can it be assessed for vineyard management purposes? *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin* **43**: 121-134
- Van Ooijen JW, Voorrips RE (2001) JoinMap 3.0, Software for the calculation of genetic linkage maps. Plant Research International, Wageningen, The Netherlands
- Velasco R, Zharkikh A, Troggio M, Cartwright DA, Cestaro A, Pruss D, Pindo M, Fitzgerald LM, Vezzulli S, Reid J, Malacarne G, Iliev D, Coppola G, Wardell B, Micheletti D, Macalma T, Facci M, Mitchell JT, Perazzolli M, Eldredge G, Gatto P, Oyzerski R, Moretto M, Gutin N, Stefanini M, Chen Y, Segala C, Davenport C, Dematte L, Mraz A, Battilana J, Stormo K, Costa F, Tao Q, Si-Ammour A, Harkins T, Lackey A, Perbost C,

- Taillon B, Stella A, Solovyev V, Fawcett JA, Sterck L, Vandepoele K, Grando SM, Toppo S, Moser C, Lanchbury J, Bogden R, Skolnick M, Sgaramella V, Bhatnagar SK, Fontana P, Gutin A, Van de Peer Y, Salamini F, Viola R (2007) A high quality draft consensus sequence of the genome of a heterozygous grapevine variety. *PLoS One* **2**: e1326
- Vergara R, Parada F, Perez FJ (2013) Is GABA-shunt functional in endodormant grapevine buds under respiratory stress? *Plant Growth Regulation* **71**: 253-260
- Vergara R, Rubio S, Perez FJ (2012) Hypoxia and hydrogen cyanamide induce bud-break and up-regulate hypoxic responsive genes (HRG) and VvFT in grapevine-buds. *Plant Molecular Biology* **79**: 171-178
- Vezzulli S, Troggio M, Coppola G, Jermakow A, Cartwright D, Zharkikh A, Stefanini M, Grando MS, Viola R, Adam-Blondon AF, Thomas M, This P, Velasco R (2008) A reference integrated map for cultivated grapevine (*Vitis vinifera* L.) from three crosses, based on 283 SSR and 501 SNP-based markers. *Theoretical and Applied Genetics* **117**: 499-511
- Viana AP, Riaz S, Walker MA (2013) Genetic dissection of agronomic traits within a segregating population of breeding table grapes. *Genetics and molecular research* **12**: 951-964
- Walter B, Bass P, Legin R, Martin C, Vernoy R, Collas A, Vesselle G (1990) The use of a green-grafting technique for the detection of virus-like diseases of the grapevine. *Journal of Phytopathology* **128**: 137-145
- Wang C, Leng X, Zhang Y, Kayesh E, Zhang Y, Sun X, Fang J (2014) Transcriptome-wide analysis of dynamic variations in regulation modes of grapevine microRNAs on their target genes during grapevine development. *Plant Molecular Biology* **84**: 269-285
- Wang N, Fang L, Xin H, Wang L, Li S (2012) Construction of a high-density genetic map for grape using next generation restriction-site associated DNA sequencing. *BMC Plant Biology* **12**: 148
- 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
- Weller J (1987) Mapping and analysis of quantitative trait loci in *Lycopersicon* (tomato) with the aid of genetic markers using approximate maximum likelihood methods. *Heredity* **59**: 413-421
- 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
- Williams DW, Andris HL, Beede RH, Luvisi DA, Norton MVK, Williams LE (1985) Validation of a model for the growth and development of the Thompson Seedless grapevine. II. Phenology. *American Journal of Enology and Viticulture* **36**: 283-289
- Winkler AJ, Williams WO (1939) The heat required to bring Tokay grapes to maturity. *Proceedings of the American Society of Horticultural Science* **37**: 650-652
- Yamaguchi A, Abe M (2012) Regulation of reproductive development by non-coding RNA in *Arabidopsis*: to flower or not to flower. *Journal of Plant Research* **125**: 693-704
- Zelleke A, Kliewer WM (1979) Influence of root temperature and rootstock on budbreak, shoot growth, and fruit composition of Cabernet Sauvignon grapevines grown under controlled conditions. *American Journal of Enology and Viticulture* **30**: 312-317
- Zeng ZB (1994) Precision mapping of quantitative trait loci. *Genetics* **136**: 1457-1468
- Zenoni S, Ferrarini A, Giacomelli E, Xumerle L, Fasoli M, Malerba G, Bellin D, Pezzotti M, Delledonne M (2010) Characterization of transcriptional complexity during berry development in *Vitis vinifera* using RNA-Seq. *Plant Physiology* **152**: 1787-1795
- Zhang J, Mujahid H, Hou YX, Nallamilli BR, Peng ZH (2013) Plant long ncRNAs: a new frontier for gene regulatory control. *American Journal of Plant Sciences* **4**: 1038-1045
- Zhang XI, Jiang L, Xin Q, Liu Y, Tan Jx, Chen Zz (2015) Structural Basis and Functions of Abscissic Acid Receptors PYLs. *Frontiers in plant science* **6**: 88

Zion B, Arbel A, Halaly T, Regev R, Barak M, Lidor G, Weissblum A, Harcabi E, Or E (2012) A heat-shock generator for dormancy release of grapevines in the vineyard. *Transactions of the Asabe* **55**: 753-758

A. Annexe 1: Plan du dispositif RlxGW 2003

CV = counter-value (100)

Conservatoire de Knipperlé

B. Annexe 2: Plan du dispositif RlxGW 2006

Plan du dispositif "Riesling x Gewurztraminer" 2006 section 3 Bergheim
Plantation le 07/06/06

Porte greffe 161-49C clone198

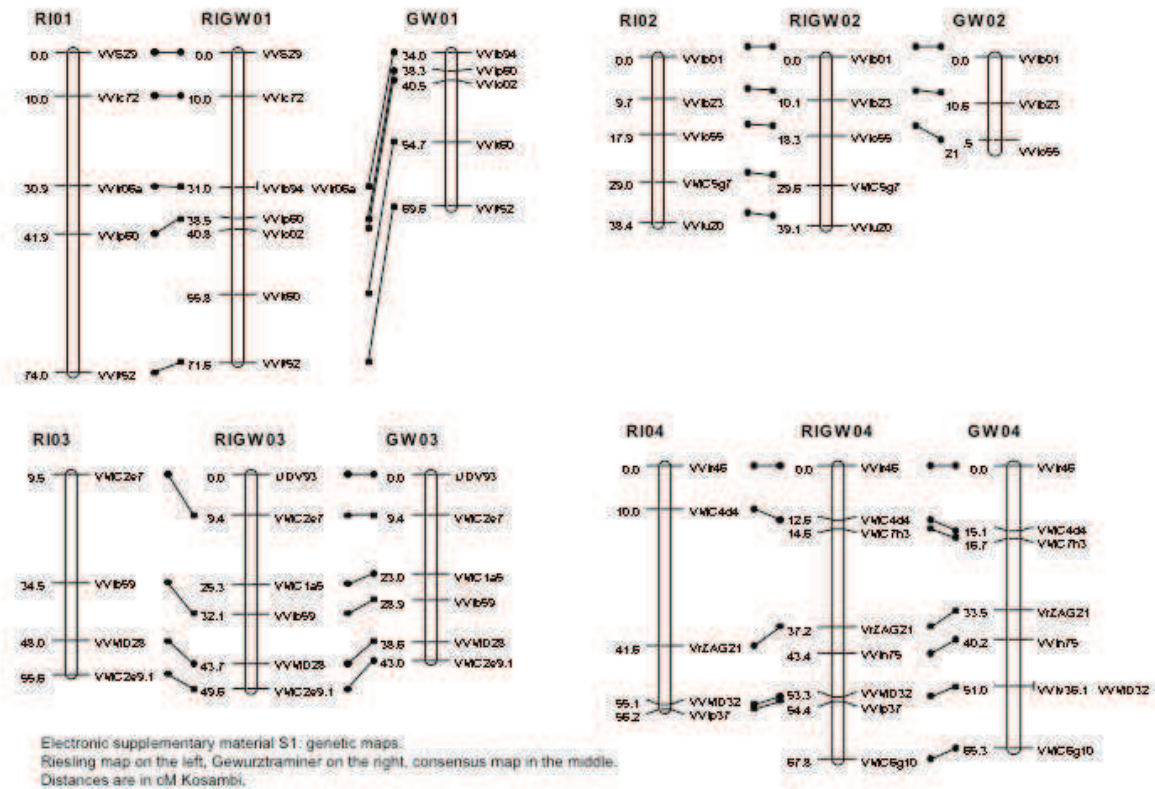
N° souche	35	34	33	32	31	30	29	28	27	26	25	24	23	22	21	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10
56	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643																				
55	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643									
54	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643
53	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643	gw643
50	gw643	4055G	3600L	0032D	5391H	4094G	5108H	0011D	0070E	3513L	3536L	3568L	0215E	3541L	3583L	5247H	5062H	0205E	5512H	0046E	5169H	0009D	5479H	5072H	5476H	gw643
47	gw643	5432H	5037H	5404H	5238H	0037E	4060G	4076G	3531L	4015G	3516L	0071E	5388H	643	0043E	5174H	0017E	0069E	5134H	5170H	0230E	0047E	0027E	5364H	5425H	gw643
44	gw643	0023E	5499H	643	3597L	3547L	3509L	5346H	5081H	0014E	0232E	5167H	5257H	5443H	0206E	0061E	4082G	5489H	49	5098H	3574L	0204E	3517L	5089H	0010E	gw643
41	gw643	3596L	5456H	5497H	5457H	5415H	5014H	5446H	49	3612L	5100H	0028E	0010C	4000G	0226E	5516H	0031E	3606L	5147H	3570L	4078G	0012E	5433H	643	5288H	gw643
38	gw643	5164H	5301H	4032G	5413H	5048H	0021E	5233H	5297H	3613L	0018E	3578L	5399H	49	3504L	5119H	0062E	5406H	0015E	0007E	5224H	5207H	3552L	3543L	3507L	gw643
35	ri49	5027H	3580L	49	5208H	4095G	0208E	3604L	5195H	3558L	3556L	5262H	4007G	5448H	3586L	3535L	0202E	5006H	643	3514L	3539L	3587L	5058H	5020H	3575L	ri49
32	ri49	0052E	0004E	0214E	0072E	5225H	0060E	5258H	643	5358H	5210H	3501L	5278H	3577L	5248H	0033E	4059G	5292H	5454H	0051E	5481H	5482H	5099H	49	5200H	ri49
29	ri49	5106H	5473H	5107H	5475H	3601L	5496H	5190H	5137H	5042H	3549L	0032E	0006E	643	3579L	3611L	3594L	0233E	5369H	3548L	5264H	0237E	5296H	5397H	3626L	ri49
26	ri49	5189H	0209E	643	5314H	5213H	0075E	0229E	0031D	0009E	3526L	0210E	0008E	5168H	3505L	5194H	0044E	5180H	49	5019H	5217H	0002E	5265H	3593L	3521L	ri49
23	gw643	5141H	5291H	3584L	3518L	5127H	0067E	4003G	49	5235H	0033D	0025E	0053D	3569L	5493H	5253H	3502L	5103H	0058E	5036H	0216E	4075G	5178H	643	5214H	gw643
20	gw643	5105H	5061H	5017H	0227E	5215H	0057E	0246E	5154H	3528L	4054G	3529L	3563L	49	3538L	3589L	5211H	0058D	0212E	5219H	5227H	5146H	5221H	3559L	5172H	gw643
17	gw643	3542L	4002G	49	3622L	0120C	0217E	5510H	0049E	0024E	5303H	5148H	3585L	0014D	3618L	3554L	5279H	0005E	643	0034E	3524L	0074E	5338H	3599L	0045E	gw643
14	gw643	5271H	0020E	3610L	5011H	0203E	5249H	5063H	643	3523L	0068E	3566L	5260H	0055D	5222H	3614L	5429H	5179H	3617L	5491H	5054H	3551L	3512L	49	5327H	gw643
11	ri49	5283H	0013D	5087H	0016E	5088H	5375H	5022H	4071G	0030E	3525L	0039E	0036E	643	5494H	3576L	0053E	0042E	3555L	0038E	5407H	0236E	0040E	3564L	0211E	ri49
8	ri49	3561L	5256H	643	5316H	5018H	5307H	3588L	3605L	3620L	0035E	5517H	0055E	3503L	0022E	0218E	5290H	5295H	49	5378H	3510L	3621L	5186H	0013E	0026E	ri49
5	ri49	0066E	0003E	5460H	5005H	3527L	0011E	0063E	49	3553L	3562L	3519L	3506L	0048E	0041E	3598L	3602L	5368H	5380H	3522L	0244E	0228E	0238E	643	0054D	ri49
2	ri49	5083H	5390H	5111H	3508L	0054E	5471H	3533L	5326H	5216H	3544L	5191H	0207E	3545L	5246H	0012D	3619L	3546L	0213E	0001E	0056E	3609L	3532L	3537L	3515L	ri49
1	ri49	ri49	ri49	ri49	ri49	ri49	ri49	ri49	ri49	ri49	ri49	ri49	ri49	ri49	ri49	ri49	ri49	ri49	ri49	ri49	ri49	ri49	ri49	ri49	ri49	ri49
rang	35	34	33	32	31	30	29	28	27	26	25	24	23	22	21	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10

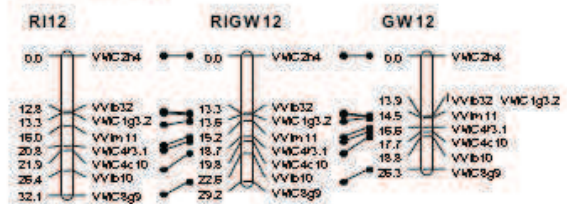
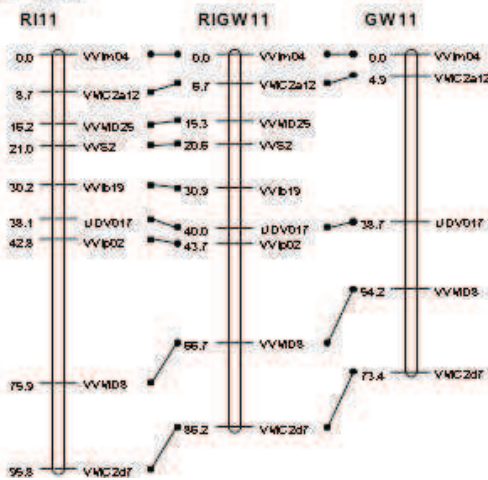
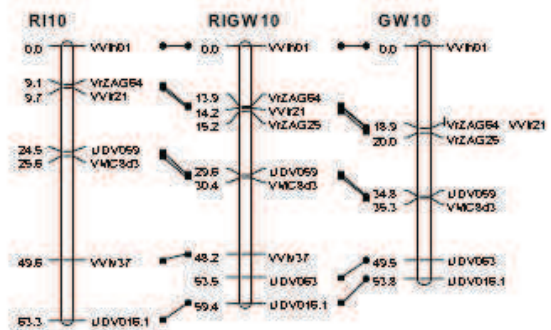
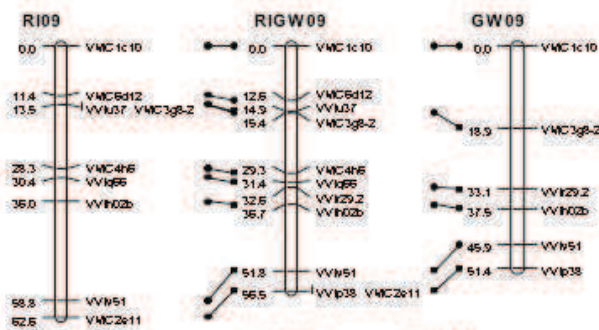
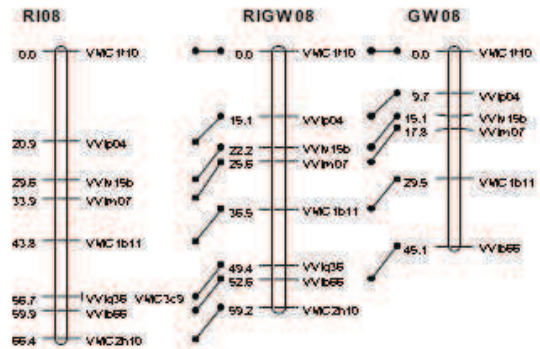
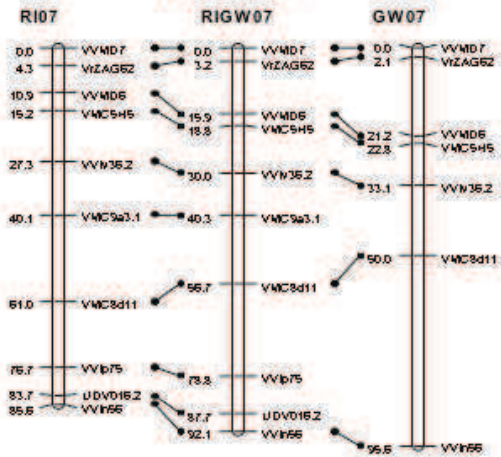
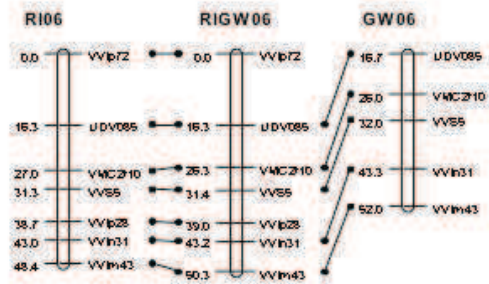
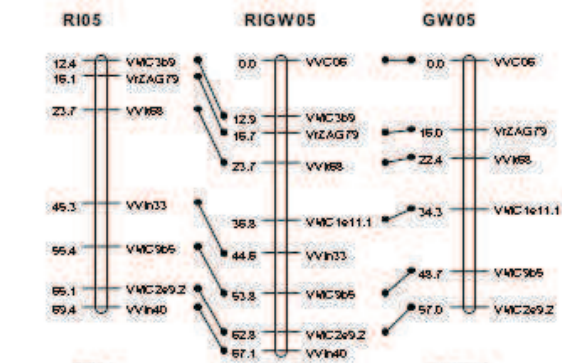
C. Annexe 3: Liste des variables mesurées sur le dispositif 2003

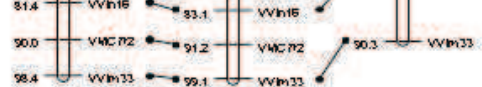
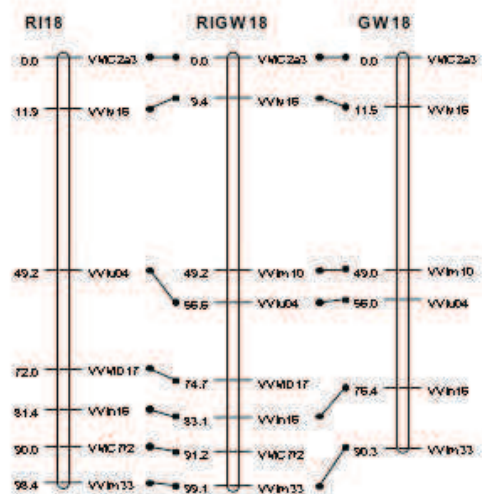
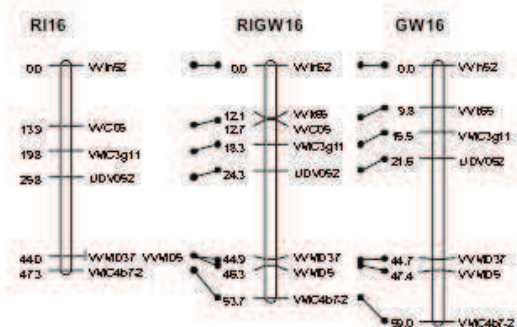
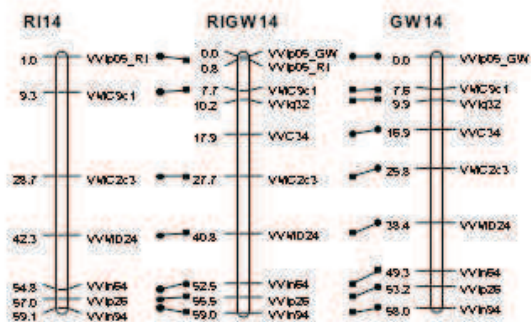
Classification	Intitulé	Unité
Phénologie	Date de débourrement	jours
	Date de floraison	jours
	Durée débourrement-floraison	jours
	Date de véraison	jours
	Durée floraison-véraison	jours
	Durée débourrement-véraison	jours
Composantes du rendement	Nombre de rameaux secondaire de l'avant dernier rameau	
	Nombre inflorescences primaires de l'avant dernier rameau	
	Nombre inflorescences secondaires de l'avant dernier rameau	
	Nombre inflo/rameau secondaire de l'avant dernier rameau	
	Nombre de rameaux primaires de la souche	
	Nombre de rameaux secondaires de la souche	
	Nombre de gourmands de la souche	
	Nombre d'inflorescences primaires de la souche	
	Nombre d'inflorescences secondaires de la souche	
	Nombre d'inflorescences sur les gourmands de la souche	
	Nombre total de grappes par souche	
	Qualité de la nouaison	
	Millerandage	
	Fertilité primaire de la souche	
	Nombre total de rameaux de la souche	
	Nombre total d'inflo. de la souche	
	Fertilité globale de la souche (tous rameaux confondus)	
	Nombre de rameaux Totaux / Nombre de Rameaux Primaire	
	Nombre total inflo./ Nbre rameaux primaires de la souche	
	Taux de transformation des inflorescences en grappe de la souche	
	Nombre de grappes / Nbre rameaux primaires de la souche	
	Masse des baies prélevées à la véraison S1	g

	Nombre de baies prélevées à la véraison S1	
	Poids moyen d'une baie à la véraison S1	g
	Masse de raisin par parcelle	g
	Nombre de souches récoltées	
	Poids de raisin par souche	g
	Nombre de rameaux primaires.m ⁻²	
	Nombre total de grappes.m ⁻²	
	Nombre total de rameaux.m ⁻²	
	Rendement	kg/m ²
	Poids moyen d'une grappe	g
	Diamètre moyen des arcures par souche	
	Taux de débourrement (NbR1/NbYeux)	
	Nombre d'yeux laissés à la taille.m ⁻²	
	Taux de remplissage du rideau foliaire à la floraison	
	Poids du bois de taille d'une souche	kg
	Poids du bois de taille	kg.m ⁻²
Caractéristiques des raisins	Date de prélèvement S1 (véraison)	
	[Glucose+fructose] S1	g.l ⁻¹
	pH S1	
	[Acide tartrique] S1	g.l ⁻¹
	[Acide malique] S1	g.l ⁻¹
	Date de prélèvement S2 (mi-maturité)	
	Indice de réfraction S2	°Brix
	pH S2	
	Acidité de titration S2	g.l ⁻¹ H ₂ SO ₄
	[Acide tartrique] S2	g.l ⁻¹
	[Acide malique] S2	g.l ⁻¹
	[Potassium] S2	mg.l ⁻¹
	Teneurs en terpénols S2	µg.l ⁻¹
	Date de prélèvement S3 (récolte)	
	Indice de réfraction S3	°Brix
	pH S3	
Autres caractères	OIV204 - Compacité des grappes	
	Pourcentage de pourriture grise	
	OIV225 - Couleur de la pellicule	
	OIV 225 Intensité max de la coloration	
	OIV223 - Forme de la baie	

D. Annexe 4: Cartes génétiques (données supplémentaires de Duchêne et al. 2012b)







Une exploration des possibilités génétiques pour l'adaptation de la vigne au changement climatique

Résumé

Les effets du changement climatique ont d'ores et déjà été observés sur la vigne : avancement des stades de développement, augmentation des teneurs en alcool des vins, baisse excessive de leur acidité. Une des voies d'adaptation possible de la viticulture est la création de nouvelles variétés. J'ai caractérisé la variabilité phénotypique de 120 descendants de croisements entre Riesling (RI) et Gewurztraminer (GW) pour (1) les stades de développement, décrits à l'aide de sommes de températures (2) la capacité à accumuler des sucres dans les raisins (3) les paramètres de l'acidité des raisins. L'utilisation de marqueurs moléculaires sur l'ADN a permis de mettre en évidence des relations entre données génétiques et phénotypiques pour tous les caractères étudiés (QTLs ou Quantitative trait loci). La principale conclusion est que la variabilité génétique pour les paramètres de l'acidité des raisins est la voie à valoriser en priorité pour l'adaptation de la vigne au changement climatique.

Mots clés

Vigne, changement climatique, phénologie, teneurs en sucres, acidité, acide malique, acide tartrique, QTLs, déterminisme génétique

Summary

The effects of climate change have already been observed on the grapevine : advance of phenological stages, increase in the alcohol content of the wines, excessive decrease of their acidity. Breeding new varieties is one of the possible means of adaptation. I have characterized the phenotypic variability of 120 genotypes, offspring from crossings between Riesling (RI) and Gewurztraminer (GW) for (1) the developmental stages, described with heat sums (2) the ability to accumulate sugars in the berries (3) the parameters for acidity. The use of DNA molecular markers allowed the detection of quantitative trait loci (QTLs) for all the traits studied. The main conclusion is that the genetic variability for the parameters determining the acidity of the berries is the most promising for the adaptation of grapevine cultivation to climate change.

Keywords

Grapevine, climate change, phenology, sugar content, acidity, malic acid, tartaric acid, QTLs, genetic determinism