



HAL
open science

Distribution de la masse individuelle du grain de blé tendre : analyse de la variabilité de la masse en fonction de la position au sein de l'épi

Nadège Baillot

► To cite this version:

Nadège Baillot. Distribution de la masse individuelle du grain de blé tendre : analyse de la variabilité de la masse en fonction de la position au sein de l'épi. Agronomie. Université Clermont Auvergne [2017-2020], 2019. Français. NNT : 2019CLFAC071 . tel-03078930

HAL Id: tel-03078930

<https://theses.hal.science/tel-03078930v1>

Submitted on 17 Dec 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES DE LA VIE ET
DE LA SANTE - AGRONOMIE - ENVIRONNEMENT

THESE

Présentée le 16 mai 2019 pour l'obtention du grade de

DOCTEUR D'UNIVERSITE

Spécialité : Biologie Santé

Nadège Baillot

**Distribution de la masse individuelle du grain de blé
tendre : analyse de la variabilité de la masse en fonction de
la position au sein de l'épi**

Co-directeurs de thèse :

Agnès Piquet-Pissaloux, Professeure, Vetagro-Sup, Clermont-Ferrand
Jacques Le Gouis, Directeur de Recherche, INRA, Clermont-Ferrand

Co-encadrants :

Christine Girousse, Ingénieure de Recherche, INRA, Clermont-Ferrand
Vincent Allard, Chargé de Recherche, INRA, Clermont-Ferrand

Composition du jury :

Alexandra Jullien, Professeure, Agro ParisTech, Paris Grignon, **Rapportrice**

Olivier Turc, Chargé de Recherche, INRA, Montpellier, **Rapporteur**

Saïd Mouzeyar, Professeur, UCA, Clermont-Ferrand, **Examinateur**

Jean-Charles Deswarte, Ingénieur Service, Arvalis-Institut du Végétal, Villiers-le-Bâcle, **Examinateur**

Agnès Piquet-Pissaloux, Professeure, Vetagro-Sup, Clermont-Ferrand, **Co-directeur de thèse**

Jacques Le Gouis, Directeur de Recherche, INRA, Clermont-Ferrand, **Co-directeur de thèse**

REMERCIEMENTS

Après un dernier sprint final, les dernières phrases de ce manuscrit me paraissaient évidentes à rédiger, mais....ce n'est pas le cas !!! Je vais donc faire de mon mieux pour adresser mes remerciements à l'ensemble des personnes qui m'ont soutenue, aidée mais aussi supportée au cours de ces trois années. Je vais aussi m'appliquer à n'oublier personne, si cela devait être le cas, je vous demande de bien vouloir m'en excuser.

Quoi qu'il en soit, mes premiers remerciements vont à l'ensemble du jury qui a accepté d'évaluer mes travaux de recherche.

Je tenais également à adresser mes remerciements à l'ensemble des membres du comité de thèse, non seulement pour leur regard critique et leur force de propositions, mais aussi pour leur écoute, leur disponibilité et leur soutien.

Mes plus chaleureux remerciements vont à l'ensemble de mes encadrants de thèses. Merci à ma directrice Agnès Piquet, de m'avoir fait confiance pour mener à bien ce projet : c'est l'aboutissement de longues années de collaboration. Jacques, merci de m'avoir guidée, encouragée et soutenue tout au long de ce projet, et surtout dans cette dernière ligne droite. J'ai énormément appris et évolué en travaillant à tes côtés. Enfin, des remerciements un peu particuliers pour mes deux encadrants Christine Girousse et Vincent Allard : vous m'avez été d'une aide inestimable tant dans le domaine professionnel que pour le soutien moral. Alors merci pour votre disponibilité, votre patience, et votre complémentarité.

L'ensemble de vos expériences et de vos exigences m'ont permis d'acquérir une solide démarche scientifique.

Mes sincères remerciements également pour les personnes sans qui ce projet n'aurait pu aboutir : Stéphane, Richard et toute son équipe. Vous avez été parfaits dans la gestion de notre essai en conditions contrôlées. Votre bonne humeur et votre expérience ont été la clé de cette réussite. Merci à David qui, en plus de m'avoir apporté ses compétences techniques, a toujours été disponible pour changer une pile ou réparer un rideau. Il n'en reste pas moins vrai que j'attends toujours ton cookie aux smarties. Mes derniers remerciements vont à Charlotte, mon amie, qui a aussi été ma collègue de travail pendant quelques mois. Crois-moi, sans toi, il aurait été impossible que je fournisse une telle quantité de données, alors Merci.

Je ne vais pas oublier les moments « détentes » autour de la pause-café. Boris, merci pour ces nombreux fous-rires partagés, mais aussi pour ton aide dans le maintien de mon niveau tennistique. Aurore, merci pour nos différents échanges et messages de soutien. A mon tour de te souhaiter bon courage, je n'ai aucun doute quant à ta réussite.

Quelques remerciements plus personnels qui s'adressent tout d'abord à mes Amis qui ont suivi de près et certainement de trop près ce projet. Miguel, tu as été présent dès le début et m'a soutenue jusqu'à ce dernier point final. J'ai toujours pu compter sur ta présence dès la moindre difficulté. Pour cela, Merci. Elo, et Caro, merci d'avoir pris le temps de relire et d'apporter un regard critique à cette rédaction. Jess, en plus de te remercier pour toutes ces heures de relectures, il faut que je te remercie pour tes capacités en mathématiques, en programmation... Tu as été d'une aide incroyable et je te remercie pour ton soutien tout au long de ce projet. H pour ton soutien et pour tous ces moments de longues discussions et de partages. On le sait, j'ai énormément appris.

Quelques remerciements sportifs : voici la fin de mon absence aux différents entraînements au sein des clubs de Handball et de Rugby à XV dans lesquels je me suis engagée cette année. Merci aux filles et aux coachs pour votre compréhension et pour votre bonne humeur qui m'ont permis de décompresser quelques heures dans la semaine.

Enfin, un grand merci à toutes les personnes qui se sont inquiétées de l'avancement de ce projet : Anthony, Tommy, Mélodie, Charlotte, Cindy, Jeanne, Guillaume, Adrien, Léa, Rosalie, Marion², Alizée, Pauline, Koviéva, Camille, Lucile, Pauline, Charlotte, Marie, Manon, Leslie, Angel, Mégane, Océane...

Je mettrai un point final à cette rédaction en remerciant ma famille : mes parents et mes deux frères. Je n'ai pas besoin d'en écrire plus, vous serez toujours là et je vous remercie de m'avoir soutenue dans ce projet de longue haleine.

Merci à Tous...

Résumé

Distribution de la masse individuelle du grain de blé tendre : analyse de la variabilité de la masse en fonction de la position au sein de l'épi

L'accroissement des surfaces de culture ne pouvant être que limité, l'augmentation des rendements est la principale voie pour répondre à la demande croissante de la production de blé. Une partie de cette augmentation peut être due à la sélection de variétés plus performantes qui devront être capables de maintenir un niveau de rendement élevé, dans des situations plus défavorables liées au changement global. Le poids de mille grains est une des principales composantes du rendement. Elle est calculée à l'échelle de la parcelle et représente la valeur moyenne d'un grand nombre de grains. Cependant, il existe une forte variabilité de la masse individuelle des grains selon leur position dans l'épi. Observer uniquement les valeurs moyennes pourrait cacher une source de variabilité génétique qui permettrait de sélectionner des variétés de blé mieux adaptées aux nouvelles contraintes climatiques imposées par le changement global. L'objectif de ce travail est donc d'identifier le déterminisme écophysologique de la variabilité de la masse individuelle des grains en fonction de leur position au sein de l'épi.

Cette étude est basée sur deux expérimentations : une première, menée au champ avec deux niveaux de fertilisation azotée en 2014, a permis de caractériser la distribution des masses, de définir une méthodologie d'étude de cette distribution, et d'identifier des géotypes contrastés pour apporter un caractère générique aux résultats obtenus. Deux variétés ont ensuite été choisies pour tester, en conditions contrôlées, plusieurs hypothèses pouvant être à l'origine de la variabilité de masse sèche finale des grains.

Les résultats montrent une distribution parabolique de la masse sèche finale des grains le long de l'épi. De plus, les grains proximaux sont plus lourds que les grains distaux au sein d'un épillet. L'ablation d'épillets n'a pas mis en évidence de contraintes physiques inter-épillet pouvant expliquer la variabilité de la matière sèche finale des grains. Le décalage des dates de floraison ainsi que la durée de remplissage des grains n'expliquent pas non plus la variabilité observée. De même, aucune corrélation entre la taille des ovaires à floraison et la masse sèche finale des grains n'est observée. En revanche, les différences de masse sèche finale observées le long de l'épi sont liées à des différences de vitesse de croissance des grains.

Ces travaux ont permis de mettre en évidence des différences de forces de puits au sein de l'épi, et d'identifier des paramètres pouvant jouer sur les différences de masse sèche finale. Nous faisons l'hypothèse que l'allocation des assimilats entre grains est la propriété émergente de forces de puits relatives qui s'exprimeraient de manière différente entre épillets et entre grains d'un même épillet. La suite de ce travail consisterait donc à valider cette hypothèse, et à déterminer l'ensemble des paramètres influant sur la masse sèche finale pour à terme définir, tester et valider des règles d'allocation du carbone vers le grain en fonction de sa position dans l'épi. L'objectif sous-jacent est de créer un modèle mécaniste et dynamique capable de simuler les impacts des facteurs environnementaux et génétiques sur la masse sèche individuelle des grains.

Mots clefs : cinétique de croissance, position et poids individuel des grains, *Triticum aestivum*

Abstract

Distribution of the individual mass of bread wheat grain: analysis of the variability of the mass as a function of position within the ear

As the increase in cultivated areas can only be limited, increasing yield is the main way to meet the growing demand for wheat production. Part of this increase may come from the selection of more efficient varieties. They will have to be able to maintain a high level of performance in more unfavourable conditions related to global change. Thousand grain weight is one of the main yield components. It is estimated at the plot scale and represents the average value of a large number of grains. However, there is a large variability in the individual mass of the grains according to their position within the ear. Observing only average values could hide a source of genetic variability that would allow breeding for wheat varieties better adapted to the new climatic constraints imposed by global change. The objective of this work is therefore to identify the ecophysiological determinism of the variability of the individual grain mass as a function of their position within the ear.

This study is based on two experiments: the first, conducted in the field at two levels of nitrogen fertilization in 2014, allowed to characterize the mass distribution, to define a methodology for studying this distribution, and to identify contrasting genotypes in order to give a generic character to the results obtained. Two varieties were chosen to test in the second experimentation under controlled conditions, several hypotheses that could be at the origin of the variability of the final dry mass of the grains.

Results showed a parabolic distribution of final dry mass of the grains along the ear. Moreover, the proximal grains were heavier than the distal grains within a spikelet. The ablation of spikelets did not highlight physical constraints between spikelets that could explain the variability in final dry matter of the grains. The delay in flowering dates and the duration of grain filling did not seem to explain the variability observed. Similarly, no correlation between the size of ovaries at flowering and the final dry mass of the grains was showed. The differences in final dry mass observed along the ear was finally related to differences in grain growth rate.

This work highlighted differences in sink strength within the ear, and enabled to identify parameters that could affect these differences. We hypothesize that the allocation of assimilates between grains is the emerging property of relative sink strength that would express themselves differently between spikelets and between grains of the same spikelet. The next step after this work would therefore be to validate this hypothesis, and to determine all the parameters influencing the final dry mass in order to define, test and validate rules for the allocation of carbon within the grain according to its position in the ear. The underlying objective is to create a mechanistic and dynamic model capable of simulating the impacts of environmental and genetic factors on individual grain dry mass.

Keywords: growth kinetics, position and individual grain weight, *Triticum aestivum*

Table des matières

Introduction générale	1
REFERENCES	3
Chapitre 1 : Synthèse Bibliographique	5
I Histoire et importance du blé tendre	8
I.1 Origine et évolution du genre <i>Triticum</i>	8
I.2 La production et l'utilisation du blé.....	10
I.3 Enjeux et contextes actuels	11
II Le blé : développement et élaboration du rendement	14
II.1 Organisation d'une plante de blé	14
II.2 Le développement de la plante	19
II.3 L'élaboration du rendement et l'effet de l'environnement	22
III Masse sèche finale du grain : élaboration et variabilité au sein de l'épi.....	24
III.1 Le grain de blé mature	24
III.2 Variabilité de la matière sèche finale des grains au sein de l'épi de blé.....	31
III.3 Déterminants de la variabilité spatiale de la masse finale des grains	36
IV Objectifs de la thèse	43
REFERENCES	47
Chapitre 2 : Caractérisation de la variabilité de la masse sèche du grain	57
I Introduction.....	59
II Matériels et méthodes	62
II.1 Matériel génétique et conception expérimentale	62
II.2 Echantillonnage et mesures effectuées	63
II.3 Analyses statistiques	63
III Résultats.....	65
III.1 Analyse du rendement et des composantes selon les quatre variétés de blé et les deux niveaux d'apports azotés.....	65
III.2 Distribution de la matière sèche totale des grains par épillet au sein de l'épi selon les deux niveaux d'azote	69
III.3 Effet des variétés sur la distribution des grains en fonction de la position des épillets le long de l'épi	77
IV Discussion.....	80
IV.1 Distribution de la matière sèche des grains au sein de l'épi et au sein des épillets ..	80
IV.2 Effet d'un apport en azote sur la distribution de la masse sèche des grains au sein de l'épi	82
IV.3 Effet des variétés sur la distribution de la matière sèche des grains au sein de l'épi	84
REFERENCES	87
ANNEXES	89

Chapitre 3 : Des ablations pour quantifier l'effet des contraintes physiques inter-épillets et l'allocation des assimilats	91
I Introduction.....	93
II Matériel et méthodes.....	94
II.1 Matériel génétique et conception expérimentale	94
II.2 Traitements et échantillonnages.....	95
II.3 Variables calculées et analyses statistiques	97
III Résultats.....	99
III.1 Encombrement stérique inter-épillet sur la matière sèche des grains contenus dans l'épillet central	100
III.2 Effet de la modification du rapport sources-puits sur la matière sèche des grains selon le gradient vertical de l'épi	102
IV Discussion.....	106
IV.1 Nous n'avons pas mis en évidence d'effet d'encombrement inter-épillet au sein de la partie centrale de l'épi.....	107
IV.2 La modification de l'équilibre sources-puits au sein d'un épi.....	109
REFERENCES	113
ANNEXES	115

Chapitre 4 : Different grain-filling rates explain grain-weight differences along the wheat ear	121
I Introduction.....	123
II Materials and methods	125
II.1 Experimental Design.....	125
II.2 Plant sampling and measurements	126
III Results.....	129
III.1 Yield components of the two cultivars	129
III.2 Flowering pattern along the ear for the two cultivars	130
III.3 Grain growth traits according to grain position along the ear	132
IV Discussion.....	135
IV.1 Duration of flowering within an ear.....	135
IV.2 Distribution of individual final grain weight according to the spikelet position along the ear	136
IV.3 Relationship between flowering time shift of individual florets and final grain weight	137
IV.4 Relationship between grain growth traits and final grain weight along the ear.....	137
IV.5 Different physiological hypotheses explaining grain filling rate differences along the ear	138
V Conclusion	139
REFERENCES	141
SUPPLEMENTARY DATA	145

Chapitre 5 : Discussion Générale et Perspectives	151
I Synthèse des résultats marquants.....	153
II L'étude des grains individuels : un défi méthodologique.....	155
II.1 Il existe une grande variabilité de la masse sèche des grains inter-épi.....	155
II.2 Vers l'étude d'un épi modèle.....	156
II.3 L'analyse non-destructive, une perspective intéressante pour gérer la variabilité ?	157
III Origine des gradients de masse au sein de l'épi	158
III.1 Un gradient déterminé dès floraison par la taille des ovaires ?	158
III.2 Un gradient lié au décalage de floraison ?	159
III.3 Effets des contraintes physiques sur le gradient de masse au sein de l'épi	160
III.4 Le système vasculaire est-il un bon candidat pour expliquer les gradients de masses au sein de l'épi ?	161
IV Vers un modèle mécaniste du développement de l'épi.....	161
REFERENCES	163

Table des Figures

Chapitre 1

Figure 1-1 : Relations phylogénétiques entre les différentes céréales. Les nombres représentent les temps de divergence d'un ancêtre commun (en millions d'années).....	7
Figure 1-2 : Origine géographique des blés cultivés.....	8
Figure 1-3 : Histoire évolutive des blés	10
Figure 1-4 : Morphologie du blé tendre	16
Figure 1-5 : Schéma d'organisation d'un épi de blé	17
Figure 1-6 : Schéma d'organisation d'un épillet de blé	17
Figure 1-7 : Schéma d'organisation d'une fleur de blé.....	18
Figure 1-8 : Cycle de développement du blé selon l'échelle de croissance de Zadoks.	19
Figure 1-9 : Schéma simplifié de l'élaboration du rendement de blé au cours du développement de la plante	22
Figure 1-10 : Structure histologique du grain de blé	25
Figure 1-11 : Accumulation de l'amidon et des protéines au cours du développement du grain.	26
Figure 1-12 : Classification des protéines du grain de blé.....	28
Figure 1-13 : Evolution de la masse fraîche, de la masse sèche, et du contenu en eau des grains au cours du développement du grain	30
Figure 1-14 : Evolution des dimensions du grain au cours du développement du grain	31
Figure 1-15 : Représentation schématique du gradient vertical (A), et du gradient horizontal (B) au sein de l'épi	32
Figure 1-16 : Représentation graphique de la distribution de la masse totale des grains en fonction de la position des épillets le long de l'épi (gradient vertical) pour des variétés élites et des ressources génétiques.....	34
Figure 1-17 : Représentation schématique du système vasculaire d'un épillet central de blé.....	39

Chapitre 2

Figure 2-1 : Caractérisation des deux gradients de l'épi de blé.....	60
Figure 2-2 : Relation entre le poids total de grain par épillet et le nombre d'épillets par m ²	68
Figure 2-3 : Distribution de la matière sèche totale des grains le long de l'épi pour chaque variété et pour les deux traitements	71
Figure 2-4 : Distribution du nombre total de grains le long de l'épi pour chaque variété et pour les deux traitements	72
Figure 2-5 : Distribution de la matière sèche moyenne des grains le long de l'épi pour chaque variété et pour les deux traitements	73
Figure 2-6 : Distribution, par variété, des différences moyennes entre les traitements HN et LN pour le nombre total de grains le long de l'épi	74
Figure 2-7 : Distribution, par variété, des différences moyennes entre les traitements HN et LN pour le poids moyen des grains le long de l'épi.....	74
Figure 2-8 : Distribution du nombre moyen de grains le long de l'épi pour chaque variété et pour les deux traitements.....	76
Figure 2-9 : Distribution de la matière sèche moyenne le long de l'épi pour chaque variété et pour les deux traitements.....	77
Figure 2-10 : Distribution de la matière sèche totale des grains par épillet le long de l'épi pour les quatre variétés et les deux traitements	78
Figure 2-11 : Distribution du nombre total de grains, pour (a) le traitement LN, et (b) le traitement HN, le long de l'épi pour les quatre variétés.	79
Figure 2-12 : Distribution de la matière sèche moyenne des grains, pour (a) le traitement LN, et (b) le traitement HN, le long de l'épi pour les quatre variétés.....	79

Chapitre 3

Figure 3-1 : Résumé des différents traitements d'encombrement effectués	97
Figure 3-2 : Découpage de l'épi en trois différentes parties : basale (épillets 1 à 6), centrale (épillets 7 à 15), et apicale (épillets 16 à 21).	99
Figure 3-3 : Effets des différents traitements sur (a) la matière sèche totale et (b) la matière sèche des deux grains proximaux de l'épillet 11 pour les deux variétés Apache (A) et Renan (B).....	102
Figure 3-4 : Effets des différents traitements sur la matière sèche totale des grains par épi pour les deux variétés Apache (A) and Renan (B)	103
Figure 3-5 : Effets des traitements sur (a) la matière sèche totale, (b) la matière sèche des deux grains proximaux, et (c) la matière sèche des grains distaux de l'épillet 11 pour les deux variétés Apache (A) et Renan (B)	104
Figure 3-6 : Effets des différents traitements sur la moyenne de la matière sèche totale des grains par épillet de la partie centrale de l'épi, pour les deux variétés Apache (A) and Renan (B).....	105
Figure 3-7 : Effets des différents traitements sur (a) la matière sèche totale des grains localisés dans la partie basale de l'épi (épillets 1-6), et (b) la matière sèche totale des grains localisés dans la partie apicale de l'épi (épillets 16-21), pour les deux variétés Apache (A) et Renan (B)	106

Chapitre 4

Figure 4-1 : Schematic of a wheat ear at maturity indicating the positions of the spikelets and grains studied	127
Figure 4-2 : Average flowering time shift in relation to spikelet position in the ear and to floret position within the spikelet for cultivars Apache (A) and Renan (B).....	130
Figure 4-3 : The relationship between grain dry weight and thermal time after anthesis	133

Chapitre 5

Figure 5-1 : Visualisation 3D (a) d'une partie de l'épi de blé avant segmentation, (b) de la même partie de l'épi après segmentation, (c) de grains isolés	158
---	-----

Table des Tableaux

Chapitre 2 :

Tableau 2-1 : Effet de la variété, du traitement azoté et de leur interaction sur le rendement et les composantes du rendement mesurés dans une expérimentation au champ conduite à Clermont-Ferrand en 2014	67
Tableau 2-2 : Interaction entre les variétés et les traitements sur le PMG mesuré dans une expérimentation au champ conduite à Clermont-Ferrand en 2014.....	68
Tableau 2-3 : Gammes de variation de la masse sèche totale des grains pour les quatre variétés et les deux traitements.....	70
Tableau 2-4 : Contribution relative du nombre et de la matière sèche des grains, à la matière sèche totale des grains par épillet	75

Chapitre 3 :

Tableau 3-1 : Valeurs des probabilités issues des analyses de la variance entre les différentes formes d'encombrement sur la matière sèche totale des grains de l'épillet 11 (TGW), la matière sèche des deux grains proximaux (GWP), le nombre de grains en positions distales (GND) ainsi que la matière sèche des grains en positions distales (GWD), pour les deux variétés Apache et Renan.	101
--	-----

Table des Annexes

Chapitre 2 :

Annexe F2-1 : Schéma du dispositif de l'expérimentation conduite au champ en 2014 sur le domaine expérimental de l'unité INRA UE Phénotypage Au Champ des Céréales (PHACC) à Clermont-Ferrand..... 89

Annexe T2-1 : Caractéristiques des variétés de blé tendre 90

Chapitre 3 :

Annexe F3-1 : Dispositif expérimental de l'essai mené en serre à Clermont-Ferrand en 2017. 115

Annexe T3-1 : Effet des différents traitements sur la matière sèche totale des grains de l'épillet 11 (TGW), la matière sèche des deux grains proximaux (GWP), le nombre de grains en positions distales (GND) ainsi que la matière sèche des grains en positions distales (GWD), pour les deux variétés Apache et Renan..... 116

Annexe T3-2 : Effet des différents traitements sur la matière sèche totale des grains de l'épi (GW_E) pour les deux variétés Apache et Renan 117

Annexe T3-3 : Effet des différents traitements sur la matière sèche totale des grains de l'épillet 11 (TGW), la matière sèche des deux grains proximaux (GWP) ainsi que la matière sèche des grains en positions distales (GWD), pour les deux variétés Apache et Renan..... 118

Annexe T3-4 : Effet des différents traitements sur la moyenne de la matière sèche totale des grains par épillet de la partie centrale de l'épi (MGW_CP) pour les deux variétés Apache et Renan.. 119

Annexe T3-5 : Effet des différents traitements sur la matière sèche totale des grains présents dans la partie basale de l'épi (TGW_BP) et la matière sèche totale des grains présents dans la partie apicale de l'épi (TGW_AP), pour les deux variétés Apache et Renan..... 120

Chapitre 4 :

S4-1 Figure: Daily averages of environmental values recorded every 15 min from anthesis to maturity	145
S4-2 Figure: Frequency of floret presence according to position within the ear and spikelet for cultivars Apache (A) and Renan (B).....	146
S4-3 Figure: Effects of grain position on (a) the final grain weight and (b) the mean rate of grain filling for cultivars Apache (A) and Renan (B)	147
S4-4 Figure: Effect of thermal time ($^{\circ}\text{Cdays}^{-1}$, base 0°C) on the standardised residuals from the adjusted model against observed values of grain weight.....	148
S4-5 Figure: The relationship between grain dry weight and thermal time after anthesis for the three different ear parts, the four blocks and for cultivars Apache and Renan.....	149
S4-1 Table: Summary of mean yield components between the two wheat cultivars grown in the field in 2014 and in the greenhouse in 2017	150

Introduction générale

Avec 2.2 milliards de tonnes produites annuellement, le maïs, le riz et le blé sont trois céréales indispensables pour la sécurité alimentaire mondiale. Parmi ces trois céréales, le blé est aujourd'hui la céréale la plus cultivée au monde avec plus de 220 millions d'hectares semés chaque année dans des conditions climatiques très diverses et dans de nombreuses régions géographiques (Shiferaw *et al.*, 2013). Elle est également la source de protéines la plus importante au monde et fournit en moyenne 21 % de l'apport quotidien en protéines alimentaires (Shiferaw *et al.*, 2013).

Pour faire face à la crise alimentaire mondiale au cours des années 1960, induite par une forte croissance démographique, des initiatives de recherches et de développement ont été initiées afin d'augmenter la production céréalière et répondre aux demandes de la population. Cette initiative a été à l'origine de ce qui est appelée aujourd'hui la « Révolution verte ». Au cours de cette période, qui a duré une trentaine d'années, la production mondiale a été augmentée de manière spectaculaire (+4.4%/an durant la première décennie (1960-1970), +4% au cours de la deuxième (1970-1980) et +3.2% lors de la troisième (1980-90) (Shiferaw *et al.*, 2013). Cette augmentation des rendements en céréales s'explique par l'amélioration variétale associée au développement de techniques (fertilisation et protection des cultures) et de matériels agricoles adaptés (irrigation, travail du sol, récolte). Cependant, la Révolution Verte n'aura pas été sans conséquence. En effet, la dégradation des sols de culture, la résistance aux molécules de traitement, la surexploitation des ressources non renouvelables ainsi que la pollution des eaux et l'émission de gaz à effet de serre sont des conséquences de l'intensification des systèmes agronomiques sur l'environnement. Une prise de conscience globale de cette situation a amené à revoir la production à partir de la politique agricole commune (PAC) de 1992 en tentant d'établir une agriculture raisonnée et une diversification de l'agriculture. En parallèle, il a été observé une stagnation des rendements, notamment de blé, depuis les années 1995 en France, induite par le dérèglement climatique.

Dans ses projections, l'ONU a estimé que la population mondiale atteindrait les 9.4 milliards d'habitants d'ici 2050, et qu'augmenter les rendements céréaliers sera un nouveau challenge auquel doit face faire la sélection variétale en lien avec le changement global.

L'amélioration variétale du blé a dans le passé contribué à l'augmentation du rendement en sélectionnant des variétés plus productives et plus courtes capables de valoriser au mieux les intrants. De manière générale, le poids du grain n'a pas été un critère direct de sélection pour l'amélioration du potentiel de rendement chez le blé, chez le riz ou le maïs (Fischer, 2007). Cependant, il s'agit d'une composante importante pour le rendement et la qualité (Calderini, *et al.*, 1995).

Ainsi, comprendre la variabilité associée au poids d'un grain et trouver des stratégies pour l'augmenter ou le maintenir en conditions défavorables est une approche qui permettrait d'optimiser la production. Le poids des grains est habituellement considéré au niveau de la parcelle comme le poids moyen d'un grand nombre de grains. Il a toutefois été mis en évidence une forte variabilité du poids individuel des grains au sein de la parcelle. Il a notamment été montré une forte variabilité de la matière sèche des grains en fonction de leur position au sein de l'épi. Le poids final des grains est déterminé par l'accumulation de la matière sèche au cours de la phase de remplissage, et donc par la disponibilité en assimilats au cours de cette période. A l'aide de manipulation du nombre de grains au cours de la croissance de l'épi, il a été montré que l'augmentation de la disponibilité en assimilats permettait une augmentation des poids des grains (Ma *et al.*, 1990; 1996). Ainsi, comprendre les mécanismes à l'origine de la variabilité de la matière sèche au sein de l'épi permettrait de proposer des pistes pour augmenter le poids individuel des grains, composante majeure dans la détermination du rendement final.

Ce manuscrit de thèse débute par une synthèse bibliographique organisée en quatre parties. Les deux premières parties donneront les éléments de base sur le blé et son développement. La troisième partie est une analyse détaillée de la littérature sur la distribution de la masse des grains au sein de l'épi. Sur cette base, une quatrième partie explicitera les objectifs de ma thèse et donnera la plan et le contenu des chapitres composant ce document.

REFERENCES

- Calderini D., Dreccer M., et Slafer G. A.**, 1995. « Genetic improvement in wheat yield and associated traits. A re-examination of previous results and the latest trends ». *Plant Breeding* 114 (avril): 108-12. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.1995.tb00772.x>.
- Fischer R. A.**, 2007. « Understanding the Physiological Basis of Yield Potential in Wheat ». *Journal of Agricultural Science*. <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201300805263>.
- Ma Y. Z., MacKown C. T., et Van Sanford D. A.**, 1990. “Sink Manipulation in Wheat: Compensatory Changes in Kernel Size.” *Crop Science (USA)*. <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US9100925>.
- Ma Y. Z., MacKown C. T., et Van Sanford D. A.**, 1996. “Differential Effects of Partial Spikelet Removal and Defoliation on Kernel Growth and Assimilate Partitioning among Wheat Cultivars.” *Field Crops Research* 47 (2): 201–9. [https://doi.org/10.1016/0378-4290\(96\)00016-0](https://doi.org/10.1016/0378-4290(96)00016-0).
- Shiferaw B., Smale M., Braun H-J., Duveiller E., Reynolds M, et Muricho G.**, 2013. « Crops That Feed the World 10. Past Successes and Future Challenges to the Role Played by Wheat in Global Food Security ». *Food Security* 5 (3): 291-317. <https://doi.org/10.1007/s12571-013-0263-y>.

Chapitre 1 :

Synthèse Bibliographique

Dans ce premier chapitre de thèse, une description générale sur l'origine du blé et son importance sera développée. Le contexte actuel et les enjeux majeurs auxquels doit faire face la production de blé seront également clarifiés. Dans une deuxième partie, l'organisation de la plante de blé ainsi que l'élaboration du rendement en grains seront détaillées tout en faisant un lien avec les effets possibles de l'environnement. La troisième partie de ce chapitre regroupe l'état des connaissances concernant le cœur de mon questionnement, à savoir **l'étude de la variabilité du poids du grain au sein de l'épi**. Ainsi après avoir défini les deux gradients, le long de l'épi et au sein de l'épillet, utilisés pour décrire la distribution de la masse sèche des grains, nous allons présenter et détailler les hypothèses pouvant expliquer cette variabilité de masse sèche finale. Enfin, la dernière partie de ce chapitre sera consacrée aux objectifs de la thèse.

De la domestication du riz (*Oryza sativa*) dans la vallée du Yangtze (en Chine) il y a environ 10 000 ans, à celle du maïs (*Zea mays*) en Amérique et au sud du Mexique, et du blé dans le Croissant Fertile, les céréales sont la principale source d'alimentation de l'homme depuis des milliers d'années (Gustafson *et al.*, 2009). A l'heure actuelle, elles sont la source de calories la plus importante pour la majorité de la population mondiale (Awika, 2011).

Ces espèces céréalières appartiennent à la famille des graminées (*Poaceae*) de la tribu des Triticées et à plus large échelle des angiospermes monocotylédones. Elles sont regroupées au sein de trois principales sous-familles, les *Panicoideae* (sorgho, maïs), les *Ehrhartoideae* (riz) et les *Pooideae* (blé, orge) (Fig. 1-1).

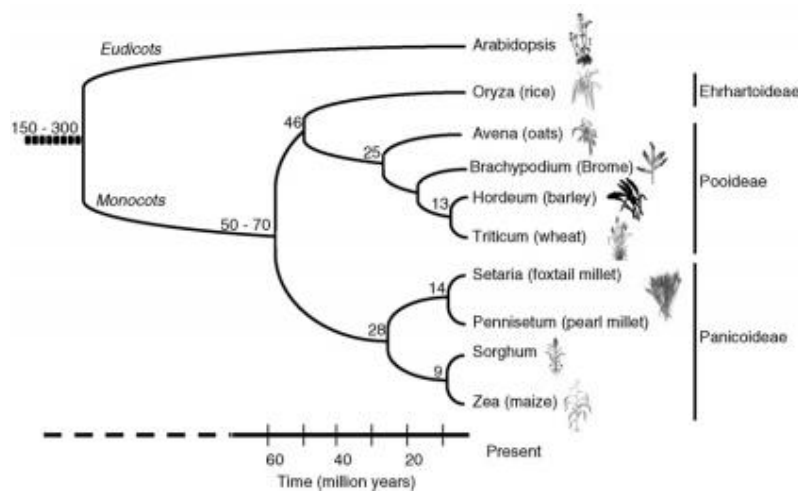


Figure 1-1 : Relations phylogénétiques entre les différentes céréales. Les nombres représentent les temps de divergence d'un ancêtre commun (en millions d'années) (Bolot *et al.*, 2009).

I Histoire et importance du blé tendre

I.1 Origine et évolution du genre *Triticum*

Les céréales font parties des premières espèces à avoir été cultivées, et le blé est l'une des premières à avoir été domestiquée par l'Homme (Charmet, 2011). Ce premier processus de domestication, survenu en Asie, aura été à l'origine de l'évolution des sociétés humaines. En effet, c'est au moment de la révolution néolithique, il y a une dizaine de milliers d'années, que le mode de vie de l'Homme est passé de la chasse et la cueillette pour se nourrir à la culture de différentes espèces, dont les blés. Originaires du sud-est de la Turquie, à l'ouest de Diyarbakir (Fig. 1-2), l'engrain ou petit épeautre (*T. monococcum*) et l'amidonnier cultivé (*T. dicoccon*) ont été les premières formes de blé à être domestiquées par l'Homme (Dubcovsky et Dvorak, 2007; Shewry, 2009; Charmet, 2011)

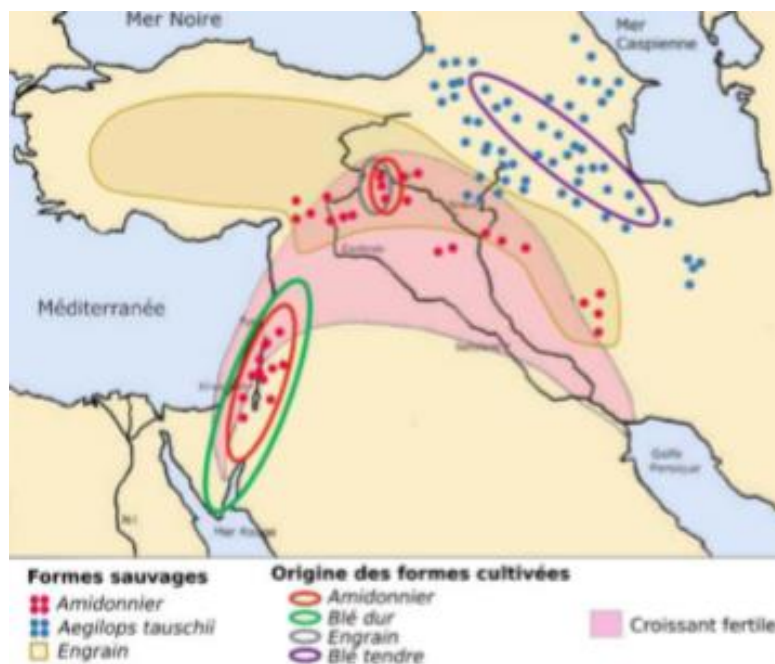


Figure 1-2 : Origine géographique des blés cultivés. Les distributions approximatives de l'amidonnier sauvage et d'*Aegilops tauschii* sont représentées par des points rouges et bleus, respectivement. La zone jaune représente la distribution de l'engrain sauvage. Les zones cerclées correspondent aux régions géographiques d'origine des formes cultivées des différents blés (l'engrain, l'amidonnier sauvage, le blé dur et le blé tendre). D'après Bonnot (2016), adaptée de Dubcovsky et Dvorak (2007).

Charmet (2011) a défini la domestication comme « l'ensemble des changements anatomique et morphologique de la culture orientés vers une adaptation à un nouvel environnement anthropisé ». Chez le blé la domestication a modifié deux principales caractéristiques, la première étant la perte de la fragmentation de l'épi, empêchant la dispersion des grains par le vent ou les animaux à l'origine d'une perte de rendement lors de la récolte ; la deuxième, caractérisée par la mutation dominante au locus Q et entraînant des modifications de l'effet des mutations récessives au niveau du locus Tg (« *Tenacious glume* »), a été la perte de glumes tenaces et collantes du grain (Dubcovsky et Dvorak, 2007 ; Shewry, 2009). L'augmentation de la taille des grains, la diminution du nombre de talles, une croissance plus érigée ainsi que la diminution de la dormance de la graine sont également des caractéristiques évolutives du syndrome de domestication par l'Homme (Dubcovsky et Dvorak, 2007).

Le genre *Triticum* est constitué de plusieurs espèces avec différents niveaux de ploïdie allant de $2n = 14$ à $6n = 42$ chromosomes (Fig. 1-3, Charmet, 2011). Contrairement au petit épeautre et à l'amidonnier qui sont issus d'une domestication de population présente à l'état naturel, le blé tendre (*T. aestivum*) existe seulement à l'état de culture (Shewry, 2009). C'est une espèce allopolyploïde, c'est à dire provenant de l'hybridation entre différentes espèces diploïdes, lui permettant donc d'être adaptée à une plus large gamme de conditions environnementales (Dubcovsky et Dvorak, 2007). Une première hybridation a eu lieu il y a environ 0.5 Ma entre une espèce diploïde *T. urartu* portant le génome AA, et une espèce diploïde inconnue proche de l'espèce *Aegilops speltoides* portant le génome BB. Ce premier événement d'allopoloïdisation est à l'origine d'une nouvelle espèce tétraploïde, l'amidonnier sauvage, (*T. dicoccoides*) portant le génome BBAA. La domestication de cette espèce fut à l'origine d'une nouvelle espèce tétraploïde, l'amidonnier cultivé, partageant le même génome BBAA, qui sera à l'origine du blé dur (*T. durum*). Une deuxième hybridation a eu lieu il y a environ 10 000 ans entre l'amidonnier cultivé et une espèce diploïde présente à l'état naturel et présentant le génome DD, *Ae. tauschii*, donnant naissance au blé tendre allohexaploïde (BBAADD), composé de $6n = 42$ chromosomes (Fig. 1-3, Charmet, 2011).

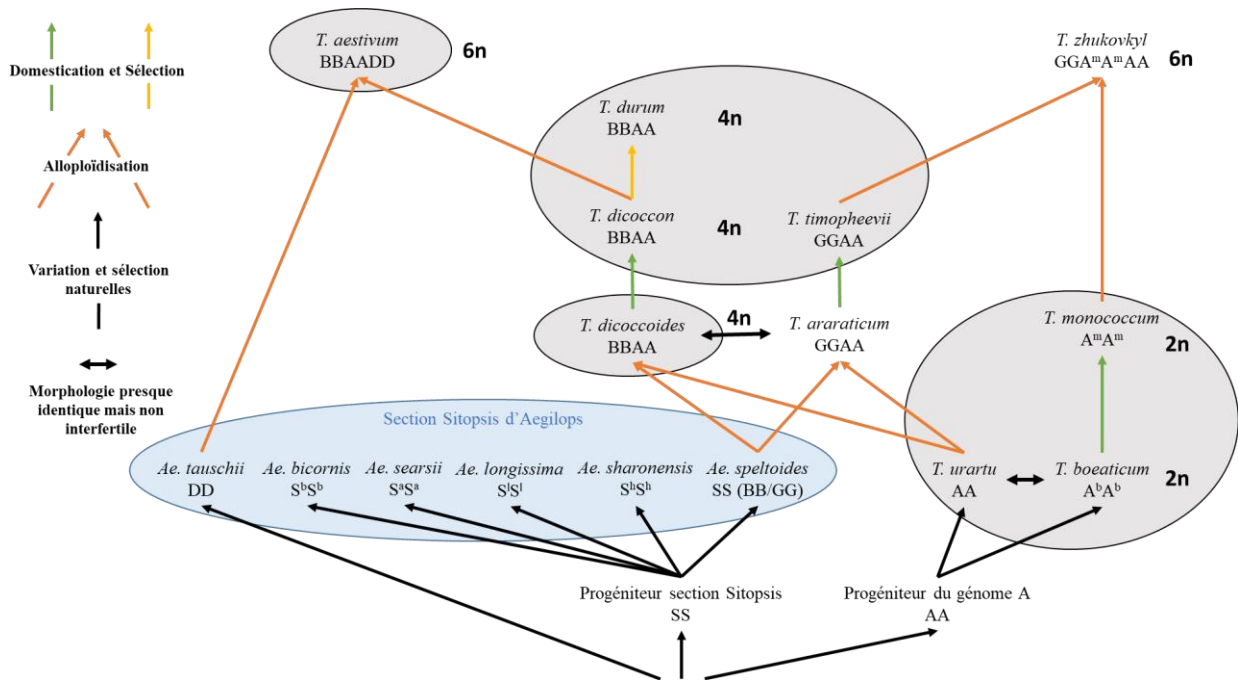


Figure 1-3 : Histoire évolutive des blés. Adaptée de Charmet (2011)

La culture de blé est arrivée en Europe il y a environ 8 000 ans par l'Anatolie, puis la Grèce. Il y a 7 000 ans le blé est entré au Nord de l'Europe à travers les Balkans jusqu'au Danube, mais aussi au Sud de l'Europe par l'Italie, la France et l'Espagne pour finalement atteindre le Royaume-Uni et la Scandinavie il y a 5 000 ans. Puis, il y a 3 000 ans, la culture de blé s'est répandue en Asie centrale via l'Iran et en Afrique à travers l'Égypte. Enfin, c'est au XVI^{ème} et XVIII^{ème} siècle que le blé a été introduit au Mexique par les espagnols et en Australie par les anglais, respectivement (Shewry, 2009).

1.2 La production et l'utilisation du blé

A l'échelle mondiale, le blé est la céréale la plus cultivée (220 millions d'hectares semés), et atteint un record en 2016 avec une production estimée à 742 Mt, derrière le riz et le maïs, ces trois céréales représentant 89% de la production mondiale. Les principaux pays producteurs de blé sont la Chine (111 Mt), l'Inde (72 Mt), les Etats-Unis d'Amérique (59 Mt), la Russie (48 Mt) et la France (36 Mt). Le rendement en blé a connu à partir des années 1960 (au cours de la Révolution Verte) une constante augmentation. Cela s'est principalement expliqué par le développement de

nouvelles variétés de blé à haut rendement, s'accompagnant du développement de nouvelles infrastructures permettant l'irrigation des cultures, l'utilisation d'engrais et de produits chimiques pour lutter contre les maladies et les ravageurs. Ainsi, bien que très contrasté selon les pays, le niveau moyen actuel du rendement mondial se situe autour des 3.0 tonnes par hectare. Bien supérieur à la moyenne, le rendement moyen en Europe se situait autour de 5.6 t/ha en 2017. Il montre toutefois une tendance à stagner depuis les années 1990. Ce plafonnement est principalement expliqué en France par les effets liés au changement climatique à l'origine d'épisodes plus fréquents de sécheresse au cours de la phase de montaison ou de fortes températures au cours de la phase de remplissage du grain (Brisson *et al.*, 2010). Cultivée principalement dans cinq régions (Grand Est, Nouvelle Aquitaine, Hauts de France, Centre-Val de Loire et Normandie), et représentant 54% des terres arables, la production française de blé tendre avoisine les 37 Mt pour l'année 2017 (Source : FAOSTAT 2018).

Les stocks mondiaux de blé atteignent un niveau estimé à 276.7 millions de tonnes en 2017/18. Les échanges mondiaux de blé sont évalués à 173.6 millions de tonnes. Le plus gros exportateur mondial est désormais la Russie, qui devance largement l'Union Européenne, qui est presque à égalité avec les Etats-Unis. Les prévisions pour 2019 de la FAO avancent une production mondiale de blé autour de 746.6 millions de tonnes (Source : FAOSTAT 2018)

Bien que le blé soit majoritairement utilisé dans l'alimentation humaine (utilisation de la farine de blé) et animale (blés fourragers), il est également utilisé à des fins industrielles dans l'amidonnerie et la glutennerie, pour l'industrie cosmétique, la papeterie, et plus récemment pour la fabrication de matériaux plastiques biodégradables ainsi que pour la production de bioéthanol (Poitrat, 1999).

I.3 Enjeux et contextes actuels

I.3.1 Le changement climatique

Changement climatique ou dérèglement climatique sont des termes utilisés pour parler des conséquences dues au réchauffement climatique. En effet, la température moyenne mesurée à la surface de la terre est en constante augmentation, et a progressé d'environ 0.8°C depuis la fin du XIXème siècle. Ce dérèglement climatique est à l'origine des modifications du climat telles que l'observation de fortes canicules ou à l'inverse, de fortes précipitations. Les origines de ce phénomène sont clairement anthropiques. En effet, les gaz à effet de serre sont présents à l'état

naturel dans l'atmosphère et ils empêchent une partie du rayonnement infrarouge réémis par la Terre de s'échapper dans l'espace, permettant de maintenir une température moyenne habitable. Cependant, les activités humaines ont modifié cet équilibre en augmentant la quantité de gaz à effet de serre dans l'atmosphère via l'utilisation massive des énergies fossiles (charbon, gaz, pétrole), l'agriculture intensive (augmentation de la quantité de méthane et d'oxyde nitreux) et la déforestation (la forêt captant le dioxyde de carbone). Ainsi, si aucune mesure n'est prise, les scientifiques s'accordent à penser que la température moyenne augmentera de 1.5 à 5.3°C d'ici 2100 (IPCC, 2018).

Les dérèglements météorologiques, à travers des épisodes plus nombreux de sécheresse, de fortes précipitations mais aussi d'épisodes caniculaires et d'aggravation de phénomènes climatiques extrêmes tels que les tempêtes, les cyclones ou les ouragans, sont des effets négatifs de l'évolution du climat. Ce phénomène est également à l'origine de l'élévation du niveau des océans, de la fonte des glaces mais aussi du recul des glaciers, sans oublier l'acidification des océans qui n'est pas sans conséquence sur les êtres vivants. Enfin, les bouleversements climatiques perturbent les écosystèmes entraînant la disparition de nombreuses espèces endémiques et dans une plus large mesure une chute drastique de la biodiversité. En ce qui concerne l'agriculture et plus précisément la culture de blé tendre, il a été mis en évidence que le dérèglement climatique était en grande partie la conséquence de la stagnation des rendements observée depuis la fin des années 1990 (Brisson *et al.*, 2010 ; Oury *et al.*, 2012).

Ainsi, le réchauffement climatique doit être considéré comme un enjeu actuel, et les nouvelles variétés de blé devront être capables de maintenir un rendement élevé dans des conditions climatiques défavorables et plus variables.

1.3.2 La fertilisation azotée

L'azote est un macronutriment majeur souvent limitant pour la croissance de la plante (Hawkesford, 2014; Efreteui *et al.*, 2016). En effet, il a deux impacts essentiels sur la production de la plante. Il (i) permet le développement d'une surface photosynthétique plus grande qui maximise l'interception lumineuse et donc la production de biomasse, et (ii) est remobilisé dans le grain à partir des feuilles et de la tige lors de la maturation et la senescence de la plante pour constituer les protéines du grain. Cet élément est disponible dans le sol grâce à la minéralisation de la matière organique, et est absorbé par la plante grâce au système racinaire. La quantité d'azote présente dans le sol au moment de l'hiver est généralement suffisante pour alimenter les besoins

de la plante. Cependant, cette dernière aura besoin d'apports supplémentaires au printemps pour maximiser sa croissance et par conséquent augmenter le rendement (Efretuei *et al.*, 2016). Ainsi, la quantité d'engrais apportés a augmenté de manière drastique au cours du XX^{ème} siècle pendant la « Révolution Verte » grâce à l'utilisation de nouveaux génotypes capables de répondre à un apport d'azote. En effet, ces nouvelles variétés, présentant une tige plus courte et par conséquent plus rigide, peuvent accumuler plus de biomasse dans l'épi sans perte de rendement causée par la verse (Hawkesford, 2014). Après un certain seuil, un apport supérieur n'augmentera pas les valeurs de rendement mais peut augmenter la concentration en protéines contenues dans les grains (Hawkesford, 2014). En France, le raisonnement de la fertilisation azotée est basé sur la méthode du bilan prévisionnel proposée par Rémy et Hébert (1977). En effet, l'utilisation excessive de l'azote est à l'origine de problèmes environnementaux tels que l'acidification du sol et de l'eau, la pollution des eaux de surface et souterraines, l'appauvrissement de l'ozone stratosphérique, les émissions d'oxyde nitreux, qui est un puissant gaz à effet de serre, la perte de biodiversité des écosystèmes marins et terrestres, et la production de particules en suspension dans l'air causant des maladies respiratoires et cardiovasculaires (Galloway *et al.*, 2008; Sutton *et al.*, 2011). Ainsi, maintenir ou améliorer la productivité de la plante tout en réduisant l'apport d'engrais azotés est un des challenges auquel doit faire face l'agriculture. Un des leviers possibles serait d'augmenter l'efficacité de l'apport en azote soit par la sélection de nouvelles variétés (avec par exemple un système racinaire plus efficace), soit par une meilleure gestion de l'apport en azote (Barraclough *et al.*, 2010).

1.3.3 L'utilisation des pesticides

Bien que le blé tendre ne fasse pas partie des espèces les plus exigeantes en termes de protection phytosanitaire, compte tenu de la surface de terres arables utilisée pour sa culture (5 sur 16 millions d'hectares), la protection phytosanitaire de cette espèce s'élève à environ 35% des doses appliquées en France, et place ainsi le blé comme l'espèce la plus consommatrice de pesticides (Urruty *et al.*, 2016). Peu coûteuse et facile à l'emploi, l'utilisation des pesticides a largement contribué à l'augmentation des rendements (Popp *et al.*, 2013). Cependant, compte tenu des risques pour l'environnement (Aubertot *et al.*, 2005) et la santé humaine (INSERM, 2013), l'utilisation de ces produits est actuellement remise en cause.

Ainsi dans un contexte où une augmentation d'environ un milliard de tonnes de la production céréalière est attendue d'ici 2050 pour nourrir environ 2.3 milliards de personnes supplémentaires (Charmet, 2011), il a été déterminé que l'augmentation des rendements est la principale voie pour répondre à cette demande car l'accroissement des surfaces de culture ne peut être que limité. Une partie de cette augmentation peut être permise grâce à la sélection de variétés plus performantes. Elles devront être capables de maintenir un niveau de rendement élevé, dans des situations plus défavorables liées au changement global. Cela inclut notamment des contraintes abiotiques plus fortes, en relation avec l'évolution du climat et en relation avec le développement de systèmes à bas niveaux d'intrants ainsi que la réduction de l'usage de pesticides, pour des raisons économiques et environnementales (Cormier *et al.*, 2016).

II Le blé : développement et élaboration du rendement

II.1 Organisation d'une plante de blé

Le blé est une plante herbacée, annuelle et à croissance définie pouvant être semée en automne ou au printemps. Contrairement au blé de printemps, le blé d'hiver aura besoin d'une exposition au froid, appelée « vernalisation ». Pour un développement complet de la plante, c'est à dire pour permettre le passage de la phase végétative à la phase reproductive, la température de cette période de vernalisation devra être comprise entre 4 et 10°C. Le blé d'hiver est donc semé en automne et fleurit au printemps. Ce besoin de vernalisation n'existant pas chez le blé de printemps, la phase de reproduction est initiée par la mise en place des feuilles. Ce dernier est donc semé au printemps et fleurira la même année.

Deux systèmes racinaires différents sont présents. Le premier groupe des racines séminales, se développant directement à partir de la graine lors de la levée. Elles peuvent croître jusqu'à deux mètres de profondeur et suffiront à la plante en attendant l'apparition des racines nodales. Le deuxième système racinaire est dit fasciculé et est constitué de racines nodales plus épaisses, qui se développent dès l'apparition des premières talles et à partir de nœuds situés au niveau du plateau de tallage. La plupart des racines de la plante seront localisées dans les trente premiers centimètres du sol (Fig. 1-4, Setter et Carlton, 2000 ; Kirby, 2002).

La partie aérienne du blé regroupe le brin maître et les talles qui sont constitués d'une tige, de feuilles et d'un épi. Les feuilles se mettent en place dès la germination de façon alterne. La feuille étendard, appelée également feuille drapeau, est la dernière à se mettre en place avant

l'émergence de l'épi. Ces feuilles, décrites comme longues et étroites, sont constituées de deux éléments : la gaine et le limbe. En encerclant l'entrenœud correspondant, la gaine permet de renforcer la rigidité d'une partie de la tige. Le limbe est le premier élément photosynthétique de la plante. Ces deux composants se rejoignent au niveau de la ligule, qui est une membrane poilue se situant sur la surface interne de la feuille. Enfin, des oreillettes également poilues sont une caractéristique du blé et sont présentes à la base du limbe, de chaque côté de la ligule (Fig. 1-4, Setter et Carlton, 2000).

La tige principale, aussi appelée brin-mâître, est issue du bourgeon apical. Des tiges primaires (appelées « talles »), ayant des caractéristiques similaires à la tige principale, peuvent apparaître à partir des bourgeons axillaires des feuilles situées sur le brin maître. Elles sont généralement désignées en fonction de l'axe de la feuille à partir de laquelle elles se développent. Ainsi, la talle numéro 1 se développera à partir de la première feuille du brin-mâître. Chaque talle primaire pourra donner naissance à des talles secondaires. Chaque tige est entourée par les gaines des feuilles la rendant plus rigide. A l'état de jeune plante, la tige est constituée de plusieurs nœuds (entre huit et douze) séparés de quelques millimètres dont les bourgeons seront à l'origine de l'apparition des feuilles. Lors de l'élongation de la tige, les entrenœuds s'allongeront et formeront la tige mature (Fig. 1-4, Setter et Carlton, 2000 ; Kirby, 2002).

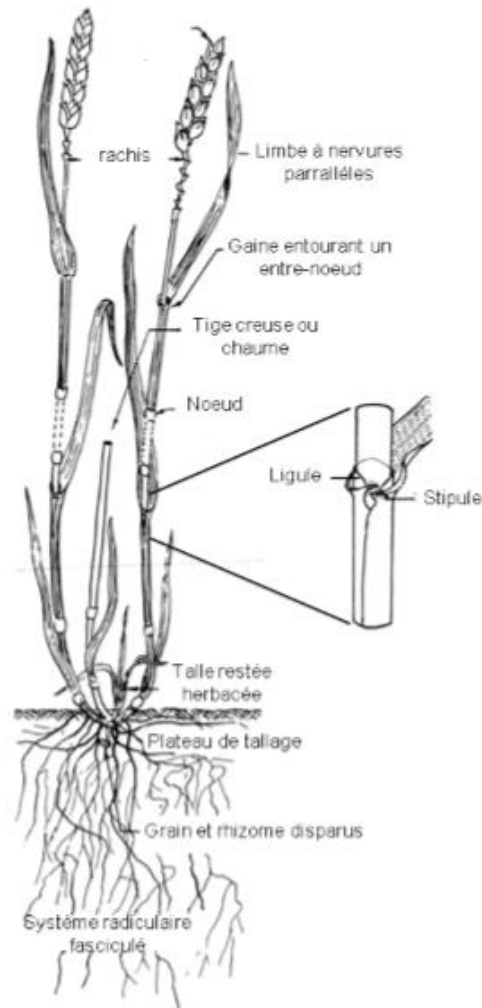


Figure 1-4 : Morphologie du blé tendre. La partie souterraine est constituée d'un système racinaire fasciculé, et la partie aérienne de talles. Chaque talle est formée d'une tige feuillée (chaume) portant à son extrémité une inflorescence, l'épi. Les feuilles sont engainantes et issues chacune d'un nœud. D'après (Soltner, 1988).

L'inflorescence du blé, appelée épi, est dite « composée » (Fig. 1-5). En effet, l'épi de blé est constitué de deux rangs de sous-entités appelées épillets arrangées de part et d'autres de l'axe principal, le rachis. Ce dernier est composé d'un certain nombre de nœuds, séparés par des entrenœuds, auxquels les épillets sont rattachés par des rachilletts. Ainsi, le nombre de nœuds constitutifs du rachis correspond au nombre d'épillets. Chaque épillet constitutif de l'épi est enfermé par deux bractées florales, les glumes. La glume qui est la plus proche du rachillet est la glume externe ou supérieure, la glume interne ou intérieure étant plus ou moins emboîtée dans la première. Ces deux glumes peuvent renfermer jusqu'à dix fleurs individuelles appelées fleurons et disposées en alternance le long du rachillet (Fig. 1-6, Setter et Carlton, 2000 ; Kirby, 2002).

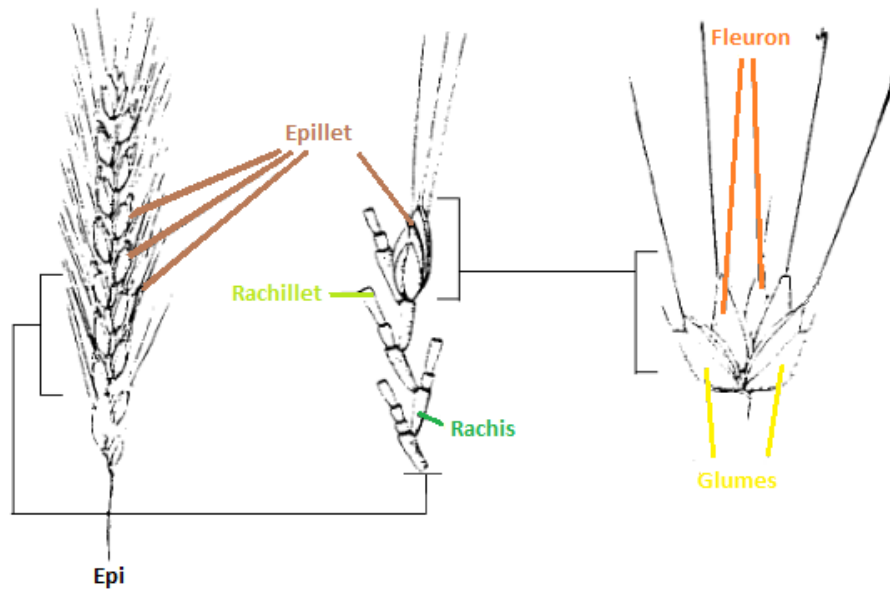


Figure 1-5 : Schéma d'organisation d'un épi de blé. Un épi de blé est composé de deux rangées d'épillets arrangées de part et d'autre du rachis. Ces épillets sont attachés au rachis par des rachillettes. Un épillet est entouré par deux glumes, et peut contenir jusqu'à dix fleurons. Adaptée de Setter et Carlton (2000).

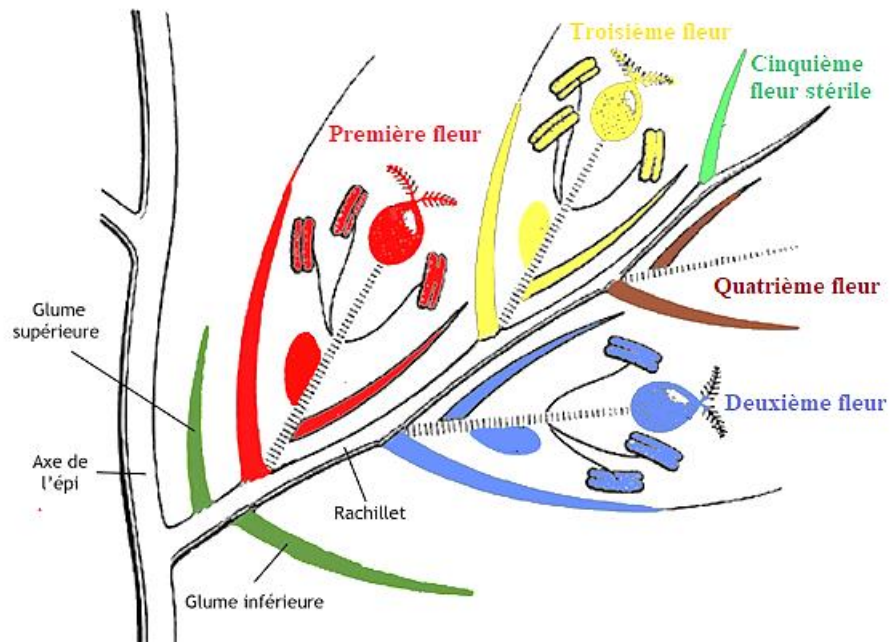


Figure 1-6 : Schéma d'organisation d'un épillet de blé. Un épillet est enfermé par deux glumes et peut contenir jusqu'à dix fleurs arrangées de part et d'autre du rachillet. Adaptée de <http://botarela.fr>.

Chacune de ces fleurs est protégée par deux lames membraneuses, les glumelles. La lemme est la glumelle inférieure localisée à la base de la fleur. Certaines variétés sont dites barbues ou aristées car elles développent de longs appendices (appelés « barbes ») à partir de l'extrémité de la lemme. Plus ou moins enveloppée par la première, la deuxième glumelle est la paléole. La fleur de blé est constituée d'un verticille de trois étamines eux-mêmes composés d'anthères contenant le pollen. Elle contient également un carpelle composé d'un ovaire supère et uniloculaire surmonté de deux styles prolongés en stigmates plumeux qui retiennent facilement le pollen. Un seul ovule est présent au sein de cet ovaire. Enfin, elle comporte deux lodicules qui contribuent à l'ouverture des glumelles pour faciliter la sortie des anthères et des stigmates lors de la floraison (Fig. 1-7, Setter et Carlton, 2000 ; Kirby, 2002).

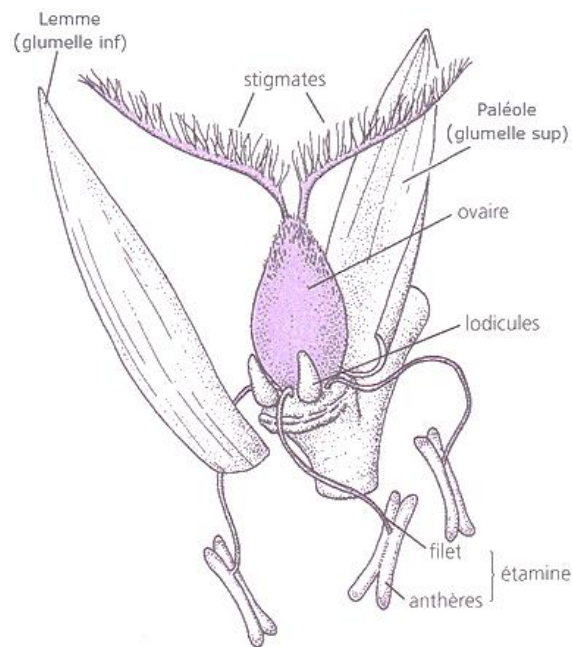


Figure 1-7 : Schéma d'organisation d'une fleur de blé. La fleur est entourée par deux glumelles, et contient les éléments nécessaires à la fécondation de l'ovule par le pollen. Adaptée de <http://botarela.fr>.

La fleur de blé est dite cléistogame. En effet, le pollen est relâché avant que les étamines ne sortent de la fleur, ce qui lui permet de s'attacher aux stigmates, permettant la fécondation. Ainsi, l'autofécondation est le mode de reproduction le plus fréquent chez le blé.

II.2 Le développement de la plante

Les échelles de croissance sont un bon moyen de suivre les différents stades de développement des plantes, et sont régulièrement utilisées pour une application raisonnée des herbicides, pesticides et des intrants afin de maximiser la performance de ces produits sur les rendements. Bien adaptée au Nord-Est de l'Europe, l'échelle de croissance de Feekes (Large, 1954) était la plus connue et la plus utilisée pour les céréales à petits grains (notamment le blé) (Zadoks *et al.*, 1974). Cependant, elle n'était pas utilisable pour le blé et d'autres céréales, comme le riz, le seigle, l'orge ou l'avoine, dans d'autres régions du monde. Ainsi, l'échelle de Zadoks établie en 1974 a été répandue et largement reconnue comme la meilleure échelle de croissance disponible. Cette dernière, basée sur l'observation de plante individuelle, utilise un code décimal divisé en dix principaux stades de croissance, eux-mêmes subdivisés en stades de croissance secondaires. Ainsi, chaque stade de croissance sera décrit à l'aide de deux chiffres, le premier allant de Z0 à Z9, et le deuxième de Z00 à Z99 (Fig. 1-8).

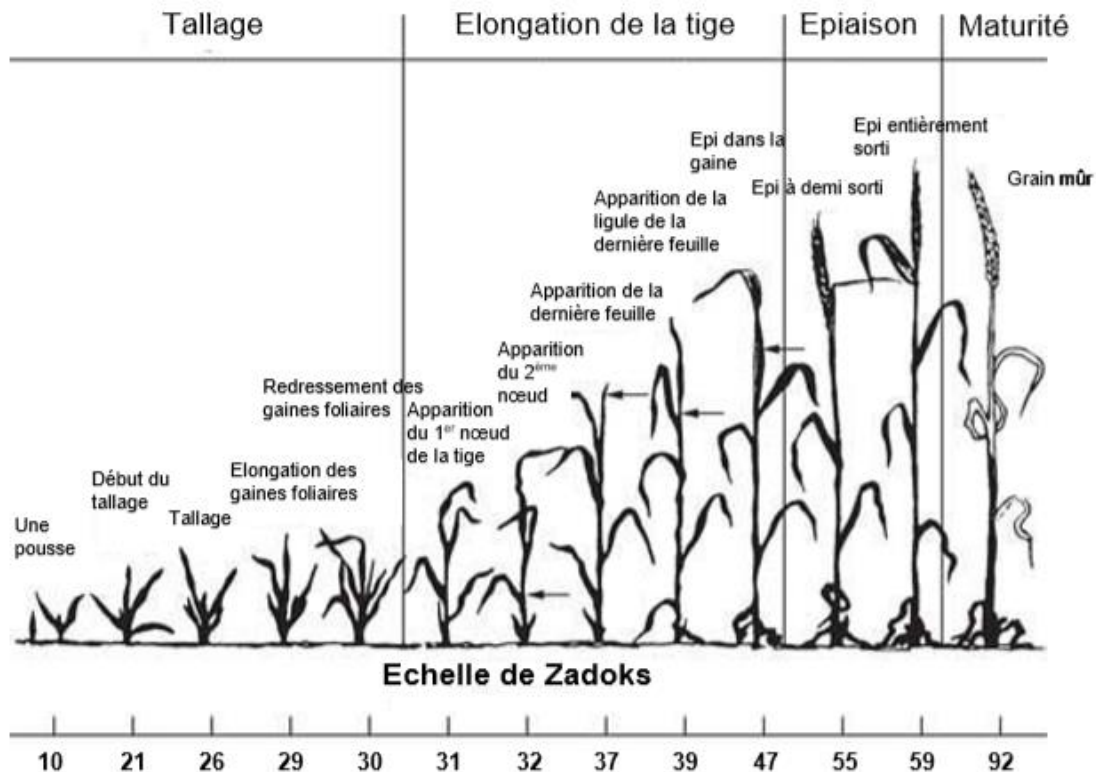


Figure 1-8 : Cycle de développement du blé selon l'échelle de croissance de Zadoks. Les stades clés de développement de la plante sont repérés par un nombre allant de Z00 à Z99. D'après Zadoks *et al.* (1974).

Le développement de la plante est divisé en trois différentes périodes, la germination (correspondant au Z0 sur l'échelle de Zadoks), une période végétative (allant de Z01 à Z49) et une période reproductive (définie entre les stades Z50 et Z99) (Setter et Carlton, 2000 ; (Acevedo *et al.*, 2002).

Pour que la graine puisse germer, plusieurs conditions doivent être réunies. En effet, ne devant pas dépasser 35°C, les conditions optimales pour la germination de la graine de blé se situent entre 20 et 25°C. De plus, il est nécessaire qu'elle contienne au minimum 35 à 40% d'eau. Enfin, un approvisionnement en oxygène, généralement présent dans les sols bien drainés, est nécessaire pour permettre la germination du blé. Bien que la taille de la graine n'affecte pas le processus de germination, dans certaines conditions une plus grosse graine permettra une croissance plus rapide, un nombre de talles plus élevé et par conséquent un rendement supérieur (Spilde, 1989). La phase de germination correspond à l'émergence de la radicule suivie de très près par celle du coléoptile (défini comme une gaine protégeant la première feuille et l'apex de la future plante). Rapidement des racines séminales se développent et les premières feuilles sont poussées hors du sol grâce à l'élongation d'un entrenœud entre le coléoptile et le point de croissance. Ce processus correspond à l'émergence de la plante et est caractérisé par l'arrêt de croissance du coléoptile (Setter et Carlton 2000 ; Acevedo *et al.*, 2002).

La phase de germination est suivie par la période végétative de la plante où vont se développer les structures indispensables à l'établissement du rendement. Cette phase se divise en plusieurs stades : la croissance de la plantule, le tallage, l'élongation de la tige et l'apparition de la dernière feuille (Setter et Carlton 2000 ; Acevedo *et al.*, 2002).

C'est au cours du développement de la jeune plantule, que les feuilles émergent à partir de *primordia* situés sur le côté de l'apex. La croissance des feuilles est ascendante et parallèle à celle de l'axe de la tige. Les feuilles sont numérotées à partir de la base de la tige, la plus vieille étant donc la première à se développer. Le phyllochrone est l'intervalle d'environ 100°Cj⁻¹ qui sépare l'émergence d'une feuille et la suivante (Setter et Carlton 2000 ; Acevedo *et al.*, 2002).

Le début du tallage est le deuxième grand stade de la phase végétative. Il n'est pas un bon moyen d'étudier le développement de la plante parce que le nombre de talles est dépendant des éléments nutritifs et de la densité de semis. Cependant, les deux premières talles apparaissent lorsque le brin maître est composé d'environ trois et quatre feuilles, respectivement. Certaines talles avorteront avant l'anthèse et par conséquent, ne produiront pas d'épis. Au moment du

tallage, la croissance de la plante est principalement corrélée à la quantité de rayonnement lumineux interceptée par les organes photosynthétiques (principalement par la feuille). L'orientation ainsi que la surface foliaire sont donc des éléments importants pour la croissance de la plante. En parallèle, le système racinaire se développe par division et expansion des cellules des méristèmes situés au bout de chaque racine. Sa croissance est fonction de la température, de la texture et de l'humidité du sol (Setter et Carlton, 2000 ; Acevedo *et al.*, 2002).

La phase reproductive démarre lorsque l'apex de la plante cesse de former des feuilles pour initier le développement de l'épi. Ce dernier sera formé lorsque l'épillet terminal (c'est-à-dire le dernier épillet situé au sommet de l'épi) sera mis en place. **Les premiers épillets se forment d'abord au centre de l'épi, les suivants se développant vers la base et le sommet de l'épi.** Ainsi débute l'élongation de la tige qui est le quatrième stade de développement (correspond aux stades Z30 à Z39 sur l'échelle de Zadoks). Le stade Z30 équivaut au stade « épi 1 cm » et correspond à la longueur entre la base de l'insertion de la tige et le sommet de l'épi. Puis l'épi et la tige se développent rapidement, associés au développement des fleurons, à la régression et à l'avortement d'épillets, de fleurons et de certaines talles. La phase d'élongation de la tige se termine lorsque la dernière feuille est ligulée (Setter et Carlton, 2000).

Le cinquième stade est repéré par le gonflement de l'épi à l'intérieur de la gaine, et se termine lorsque les premières barbes de l'épi sont visibles.

L'émergence de l'épi correspond au sixième stade de développement. Il se termine lorsque l'épi formé est entièrement visible.

L'anthèse est le septième stade de développement et correspond à la floraison de l'épi. C'est à ce moment-là que la fécondation des épillets situés au centre de l'épi va avoir lieu. **La floraison est généralement notée lorsque les étamines sont visibles à l'extérieur de l'épi** (Setter et Carlton, 2000).

Puis les grains vont se développer selon trois grandes phases : la phase exponentielle de croissance, la phase linéaire de croissance, et la maturation physiologique. Les deux premières phases correspondent au huitième stade de développement, par conséquent la troisième phase de croissance des grains est associée au neuvième et dernier stade de développement du blé (Setter et Carlton, 2000). Une description plus détaillée de ces trois phases de développement du grain sera faite dans la troisième partie (Chapitre 1, §III.1.3) de ce premier chapitre.

II.3 L'élaboration du rendement et l'effet de l'environnement

Le rendement en grains est une valeur finale de masse de grains exprimée par unité de surface. Il peut être décomposé en différentes variables appelées composantes de rendement. Les principales composantes sont le nombre de grains par mètre carré et le poids de mille grains (PMG). La première se divise en deux sous-composantes, le nombre d'épis par mètre carré et le nombre de grains par épi. Le nombre d'épis par mètre carré est étudié à travers le nombre de plantes par mètre carré et le nombre d'épis par plante. Quant au nombre de grains par épi, il se divise en nombre d'épillets par épi et en nombre de grains par épillet. Le PMG est la valeur moyenne de la matière sèche individuelle d'un très grand nombre de grains situés au sein des épis.

Il existe des compensations au sein des composantes de rendement provenant des interactions entre les différents organes de la plante. Ainsi, si une composante présente une valeur diminuée causée par un stress abiotique par exemple, la composante suivante aura tendance à compenser cette diminution en augmentant sa propre valeur.

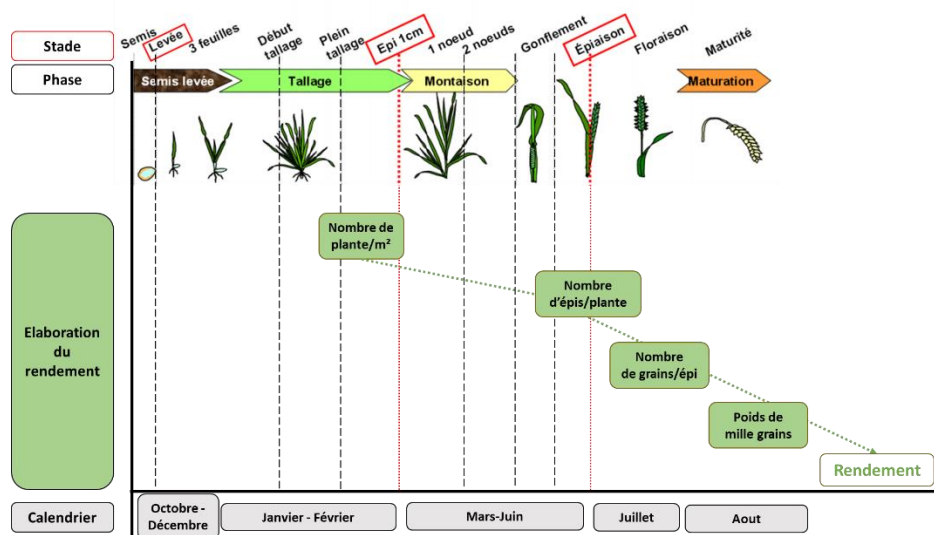


Figure 1-9 : Schéma simplifié de l'élaboration du rendement de blé au cours du développement de la plante. Adaptée d'Arvalis-Institut du Végétal (2016)

Le nombre d'épis par plante est l'une des premières composantes à s'établir au cours du développement de la plante (Fig. 1-9). Elle est dépendante d'une part de la densité de semis (et donc du nombre de plantes par m^2), mais aussi du nombre de talles qui se développeront au sein de chacune des plantes. Le nombre d'épis se met en place dès la levée, puisque les graines peuvent déjà être soumises aux stress abiotiques tels que l'engorgement des sols en eau et la compaction

du sol. Ces deux processus vont ralentir la diffusion de l'oxygène dans le sol qui est nécessaire au processus de germination de la graine (Setter et Carlton, 2000). Bien que la sécheresse aura moins d'impact sur la germination des grosses graines (Bouaziz et Hicks, 1990), des températures élevées diminueront leur émergence. Le nombre de talles, et par conséquent le nombre potentiel de grains par plante, sera également diminué si un stress thermique intervient au moment du tallage (Midmore *et al.*, 1984; Acevedo *et al.*, 2002). Si c'est un stress hydrique, le nombre de talles pourra être divisé par deux (Rickman *et al.*, 1983; Peterson *et al.*, 1984).

Le nombre d'épillets par épi est la deuxième composante de rendement à se mettre en place (Fig. 1-9). Elle s'établit à la fin de la période végétative, lors de l'initiation de l'épi et précède la phase d'élongation de la tige. Cette composante de rendement sera diminuée, si un stress hydrique intervient au moment du tallage, avant l'initiation des fleurons (Oosterhuis et Cartwright, 1983).

Le nombre potentiel de grains, déterminé par le nombre potentiel de fleurons fertiles, se met en place lors de la période reproductive, environ 20 à 30 jours avant l'anthèse (Fig. 1-9). Les fleurons se forment juste avant que l'initiation des épillets ne cesse. Il est estimé que seulement 30 à 40% des fleurons initiés seront à l'origine d'un grain après anthèse. Ainsi, la production et la survie des fleurons sont des éléments importants dans la mise en place du nombre de grains. Un stress hydrique à ce stade de développement aura des impacts sévères sur le rendement, diminuant brutalement la production de fleurons (Hochman, 1982). De plus, si ce stress hydrique intervient dix jours avant l'émergence de l'épi, il entrainera la mort des fleurons situés à la base et au sommet de l'épi (Oosterhuis et Cartwright, 1983). Enfin, une diminution des températures après l'initiation des fleurons entrainera une diminution du nombre de grains par mètre carré. En effet, il est estimé que l'augmentation d'un degré de la température moyenne trente jours avant l'anthèse, entrainera une diminution de 4% du nombre de grains par mètre carré (causée par une diminution du nombre de talles fertiles et du nombre de grains par épi) (Warrington *et al.*, 1977 ; Fischer, 1985).

Enfin, le poids des grains est la dernière composante de rendement à se mettre en place, et s'établit au cours de la phase de remplissage (Fig. 1-9). La masse sèche finale des grains dépend de deux sources majeures de carbone, la première provenant de la photosynthèse des feuilles et de l'épi. La deuxième, contribuant entre 20 et 30% de la masse finale (Wardlaw et Willenbrink, 2000; Ehdai *et al.*, 2008), provient de la remobilisation des carbohydrates solubles stockés dans la tige sous forme de fructanes (Blum, 1986). En cas de stress abiotique sévère, ces réserves stockées dans la tige sont remobilisées, et permettent de maintenir la croissance des grains. Elles

contribueront alors à plus de 50% de la masse finale du grain (Ehdaie *et al.*, 2008). En effet, ce stade de développement est très sensible aux effets environnementaux. Au cours de la phase de remplissage des grains, il a été estimé que l'augmentation d'un degré de la température moyenne diminuera de 4% la matière sèche finale des grains (Acevedo *et al.*, 2002). De plus, la sécheresse réduit la capacité photosynthétique des feuilles réduisant l'approvisionnement des grains en assimilats. Ainsi, bien que la vitesse de croissance des grains soit maintenue, la durée de remplissage sera raccourcie et la masse sèche finale des grains sera diminuée (Sofield *et al.*, 1977; Blum *et al.*, 1994).

La matière sèche du grain étant le cœur de notre étude, la partie suivante va se focaliser sur la variabilité de la masse sèche observée au sein de l'épi. Après avoir brièvement décrit les processus d'élaboration de la matière sèche du grain ainsi que ses constituants, les deux gradients d'étude de la variabilité de la masse sèche finale des grains seront présentés, et les différents déterminants à l'origine de cette variabilité spatiale seront détaillés.

III Masse sèche finale du grain : élaboration et variabilité au sein de l'épi

III.1 Le grain de blé mature

III.1.1 Les compartiments du grain de blé

Plus communément appelé grain, le caryopse est le nom botanique donné au fruit chez les graminées. Lors du battage à maturité, le grain de blé (contrairement au grain du riz, par exemple) se sépare facilement des glumelles qui l'entoure, il est donc qualifié de grain nu (Pomeranz, 1982). A maturité, la longueur du grain ainsi que sa forme varient selon la variété étudiée. Généralement la longueur des grains est classée selon trois catégories : court (4 à 6 mm de longueur), mi-long (6 à 8 mm de longueur) ou long (8 à 10 mm de longueur) (Bayles et Clark, 1954). La forme est décrite comme ovoïde, ovale ou elliptique, selon l'observation de la partie dorsale du grain. De plus, elle est influencée par sa position au sein de l'épi et de l'épillet (Bayles et Clark, 1954). Le grain de blé contient trois principaux éléments : l'embryon et l'albumen, entourés de plusieurs enveloppes formant la paroi du grain (Brouns *et al.*, 2012) (Fig. 1-10).

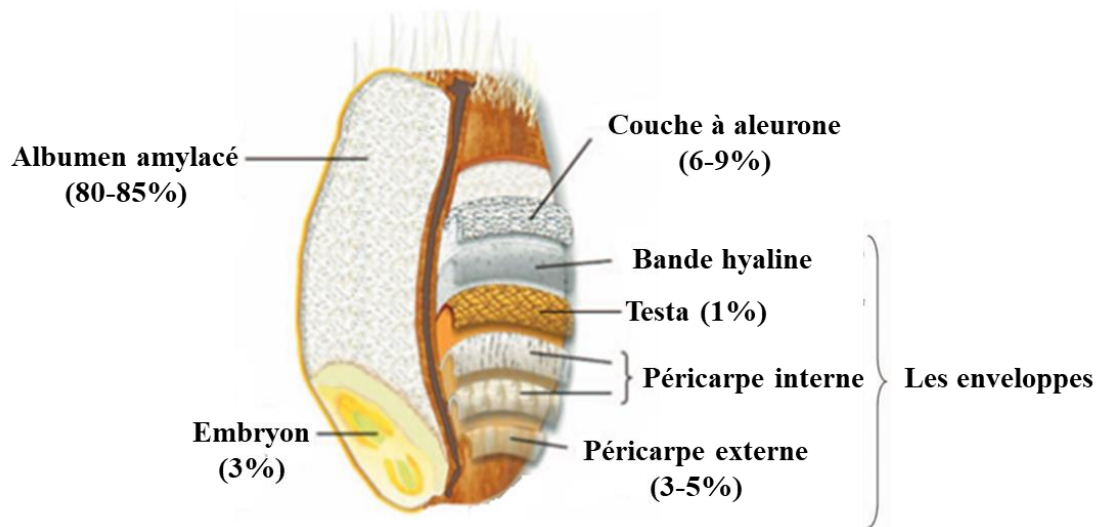


Figure 1-10 : Structure histologique du grain de blé. Le grain de blé est constitué de trois principaux compartiments : l'embryon, l'albumen et les enveloppes. Les pourcentages représentent la contribution des compartiments à la masse sèche finale du grain. Adaptée de Brouns *et al.* (2012), et de Surget et Barron (2005).

L'embryon du grain de blé est issu de la fusion entre les gamètes mâle et femelle au moment de la fécondation. Il se décompose en deux différentes parties, la première étant l'axe embryonnaire, lui-même composé de la plumule (germe de la partie aérienne de la plante) et de la radicule (germe de la partie souterraine de la plante) connectées entre elles par le mésocotyle. Entouré d'une couche épithéliale et servant d'organe de réserve de nutriments, le scutellum est la deuxième partie de l'embryon, à l'origine du cotylédon de la graine. L'embryon contient la plus grande concentration en lipides et représente entre 2 et 3% de la matière sèche du grain (Fig. 1-10, Pomeranz, 1982; Evers et Millar, 2002; Surget et Barron, 2005).

L'albumen est constitué de deux tissus : l'albumen amylicé et la couche à aleurone (Fig. 1-10). Ce premier représente 80 à 85% de la matière sèche du grain. Il est composé de trois populations différentes de cellules dans lesquelles les granules d'amidon vont être incorporées au sein d'une matrice protéique. Les cellules périphériques représentent le premier groupe de cellules formant une simple couche sous-aleuronique. Au-dessous de cette première couche et, agencées en colonne, se situent les cellules prismatiques. La dernière population de cellules sont les cellules centrales se retrouvant donc au centre du grain de blé (Evers et Millar, 2002; Surget et Barron, 2005). D'un point de vue botanique, la couche à aleurone est considérée comme la partie externe de l'albumen.

Les enveloppes du grain sont composées de plusieurs assises cellulaires complexes évoluant dans le temps. A maturité, elles sont composées d'une couche nucellaire (ou bande hyaline), de la testa, du péricarpe interne et enfin du péricarpe externe (Fig. 1-10). L'ensemble de ces enveloppes ne représentent qu'une faible proportion de la masse sèche du grain à maturité mais sont particulièrement riches en fibres et en vitamines.

III.1.2 La composition du grain de blé

A maturité, le grain de blé est essentiellement constitué d'amidon et de protéines qui représentent 80-85% et 10-13% de sa masse sèche totale, respectivement (Fig. 1-10). Le profil d'accumulation de ces deux constituants dans le grain est similaire (Fig. 1-11), (Laudencia-Chingcuanco *et al.*, 2007; Shewry *et al.*, 2012). Enfin, les quelques pourcents restants sont constitués par les fibres, (principaux constituants des enveloppes), les lipides, la cellulose, les minéraux et les vitamines.

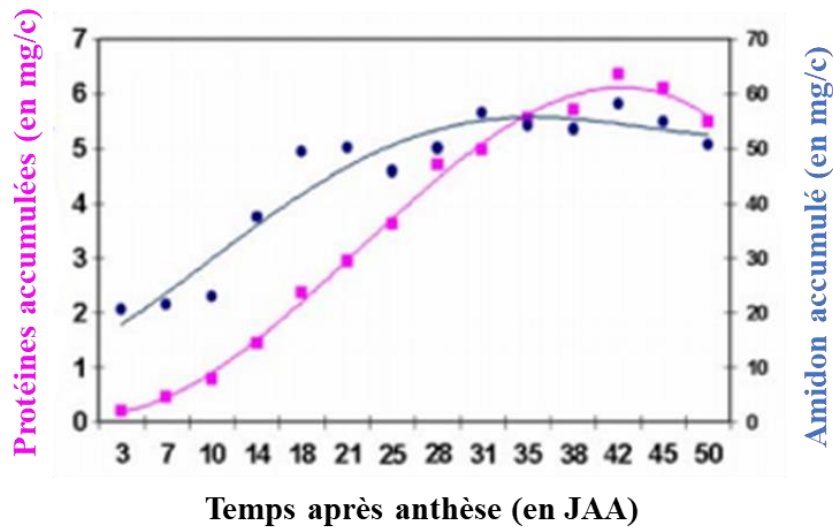


Figure 1-11 : Accumulation de l'amidon et des protéines au cours du développement du grain. Le profil d'accumulation (mg/caryopse) des deux composés est similaire dans le temps. Adaptée de Laudencia-Chingcuanco *et al.* (2007).

Principale ressource énergétique de la plantule pendant le processus de germination, l'amidon est localisé au sein de l'albumen amylicé. L'amidon est organisé en plusieurs granules de taille et de forme différentes. En effet, trois classes de granules d'amidon ont été mis en évidence (Bechtel *et al.*, 1990; Bechtel et Wilson, 2003).

- Les granules de type A, de diamètre supérieur à 16 μ m et de forme lenticulaire ou elliptique. Ils représentent environ 70% du poids de l'amidon et 3% du nombre total de granules au sein de l'albumen. Ces granules peuvent apparaître dès quatre jours après floraison.
- Les granules moyens de type B de diamètre compris entre 5.3 et 15.9 μ m et de forme sphérique. Contrairement aux granules de type A, ils représentent environ 90% du nombre total de granules et seulement 30% du poids total de l'amidon. Ils n'apparaissent qu'à partir de la deuxième semaine après la floraison.
- Les petits granules de type C sont de diamètre inférieur à 5.3 μ m, et n'apparaissent au sein de l'albumen qu'à partir de la troisième semaine après la floraison.

Les protéines sont localisées dans l'ensemble des tissus du grain avec des concentrations plus élevées dans l'embryon et la couche à aleurone. Une classification de ces protéines en deux principaux groupes a été proposée par Shewry *et al.* (1986) (Fig. 1-12 ; Feillet, 2000) :

- Les protéines métaboliques ou cytoplasmiques, qui sont les albumines et les globulines, représentent 15 à 20% des protéines totales de la farine de blé. Elles participent à l'accumulation des réserves et par conséquent à la formation du grain (Vensel *et al.*, 2005).
- Les protéines de réserve, divisées en deux groupes (les gliadines et les gluténines), sont les constituants du gluten, et représentent 80 à 85% des protéines totales de la farine de blé. Alors que les gliadines, divisées en plusieurs classes (α/β -, γ - et ω -gliadines), permettent l'extensibilité de la pâte, les gluténines, également divisées en deux classes (de faible et de hauts poids moléculaire), sont responsables des propriétés élastiques du gluten (Branlard *et al.*, 2001).

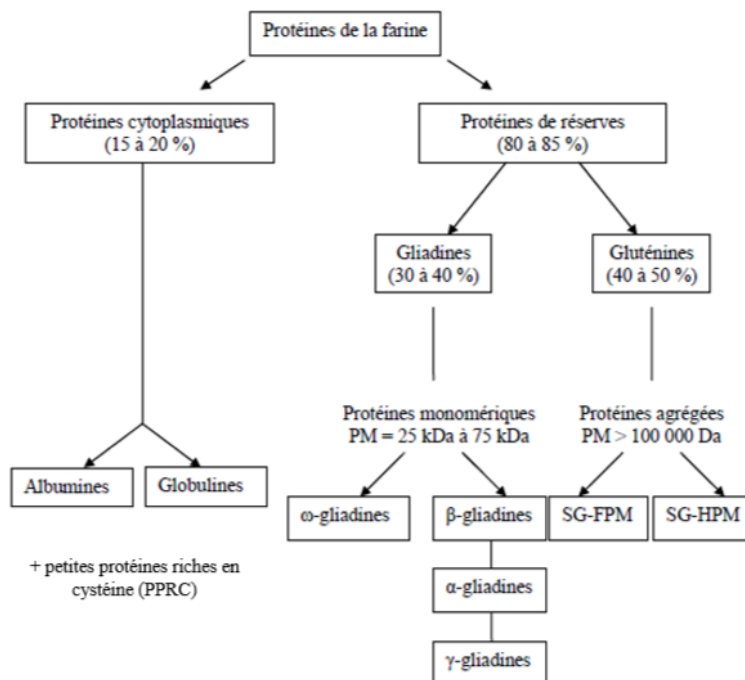


Figure 1-12 : Classification des protéines du grain de blé. Les pourcentages représentent la part de chaque classe de protéines par rapport aux protéines totales. D’après Feillet (2000).

III.1.3 Développement du grain

A partir de la fécondation (ou anthèse), les stades de développement du grain de blé peuvent être identifiés soit par le nombre de jours après l’anthèse (JAA), soit par le temps thermique exprimé en degré-jour après anthèse ($^{\circ}\text{Cj}^{-1}$). Ce dernier est calculé en additionnant les températures moyennes journalières supérieures à 0°C accumulées au cours du développement par le grain. Les fluctuations de températures pouvant influencer le développement du grain, cette deuxième méthode de calcul permet une meilleure estimation des différentes phases de développement.

Le développement du grain de blé est généralement divisé en trois grandes phases contenant plusieurs événements cellulaires se déroulant dans l’albumen (Shewry *et al.*, 2012) :

- Une phase de division cellulaire qui se déroule de 0 à 14 JAA (ou de 0 à $280^{\circ}\text{Cj}^{-1}$),
- Une phase de remplissage qui se déroule de 14 à 28 JAA (ou de 280 à $600^{\circ}\text{Cj}^{-1}$),
- Une phase de maturation qui se déroule de 28 à 42 JAA (ou de 600 à $800^{\circ}\text{Cj}^{-1}$).

Cependant, les processus biologiques étant spatialisés au sein de l’albumen, il est difficile de définir précisément les limites de chacun d’entre eux.

III.1.3.1 La phase de division cellulaire

La double-fécondation est le processus à la base du développement du grain. En effet, au contact des stigmates, un tube pollinique se développe et les deux noyaux mâles migrent jusqu'au sac embryonnaire par l'intermédiaire du micropyle. Une première fécondation aura donc lieu entre le premier noyau (gamète mâle) et le noyau de l'ovule (gamète femelle), et sera à l'origine de l'embryon. Une deuxième fécondation aura lieu simultanément entre le deuxième noyau du grain de pollen et les deux noyaux polaires, et donnera naissance à l'albumen, tissu triploïde qui servira de réserve pour nourrir l'embryon (Evers et Millar, 2002; Sabelli et Larkins, 2009).

Ce noyau triploïde va subir plusieurs divisions synchrones sans formation de la paroi cellulaire, créant le syncytium contenant environ 2 000 noyaux (Olsen, 2001; Evers et Millar, 2002; Sabelli et Larkins, 2009). Trois à quatre jours après la fécondation, l'albumen en développement va subir un processus de cellularisation à partir de l'enveloppe de chaque noyau. Plusieurs divisions mitotiques vont s'effectuer de 9 à 14 JAA ($175^{\circ}\text{Cj}^{-1}$ à $280^{\circ}\text{Cj}^{-1}$) remplissant le sac embryonnaire de cellules et formant ainsi l'albumen. Au cours de cette phase, des protéines métaboliques (albumines et globulines) ; ainsi que du carbone structurel vont s'accumuler dans les parois des cellules.

A la fin de cette phase, la longueur maximale du grain est quasi fixée, et le grain contient environ 80% d'eau (Fig. 1-13 et 1-14, Nadaud *et al.*, 2010; Chateigner-Boutin *et al.*, 2018).

III.1.3.2 La phase de remplissage des grains

L'expansion cellulaire est le premier processus déterminant le début de la phase de remplissage des grains. Au même moment, des processus d'endoréplication sont observés à l'origine de plus gros noyaux et par conséquent de plus grosses cellules, permettant une synthèse et une accumulation plus rapide des réserves (Sabelli et Larkins, 2009). La dynamique d'accumulation du carbone (à l'origine de l'amidon) et de l'azote (à l'origine des protéines de réserves) est relativement similaire, et débute aux environs de 10 JAA ($190^{\circ}\text{Cj}^{-1}$) et augmente rapidement jusque 21 JAA ($400^{\circ}\text{Cj}^{-1}$) et plus lentement jusqu'à 42 JAA ($800^{\circ}\text{Cj}^{-1}$) (Fig. 1-13, Shewry *et al.*, 2012). La quantité maximale d'amidon et de protéines de réserves accumulées sera dépendante du nombre de cellules. Brocklehurst (1977) a mis en évidence une corrélation entre le nombre de cellules de l'albumen et la masse sèche finale du grain. Cela indique que la phase de division cellulaire est une étape clé dans le développement de l'albumen et l'établissement du rendement.

Au cours de cette phase de remplissage, la largeur et l'épaisseur du grain augmentent (Fig. 1-14, Chateigner-Boutin *et al.*, 2018). De plus, le contenu en eau du grain étant constante, le stade du « palier hydrique » est atteint (Fig. 1-13). A la fin de cette phase de remplissage, le processus de mort programmée des cellules est initié (Berger, 1999).

III.1.3.3 Phase de maturation

Cette phase de maturation est caractérisée par la polymérisation des protéines de réserve et la déshydratation du grain. Le grain a alors atteint sa matière sèche finale et maximale (Fig. 1-13, Berger, 1999).

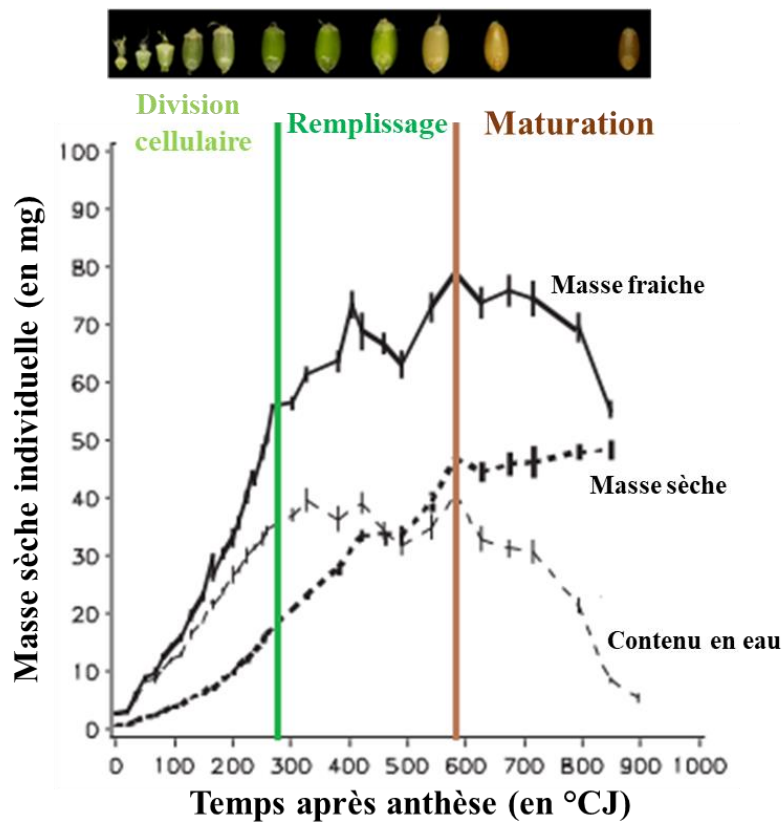


Figure 1-13 : Evolution de la masse fraîche, de la masse sèche, et du contenu en eau des grains au cours du développement du grain. Adaptée de Nadaud *et al.* (2010).

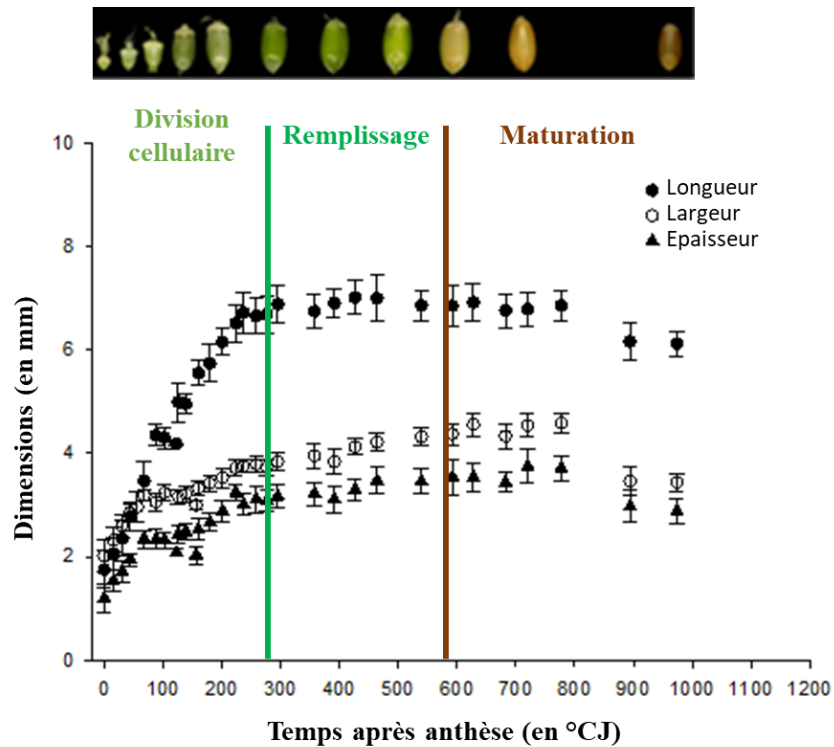


Figure 1-14 : Evolution des dimensions du grain au cours du développement du grain.
Adaptée de Chataigner-Boutin *et al.* (2018).

III.2 Variabilité de la matière sèche finale des grains au sein de l'épi de blé

Chez le blé, tout comme chez le maïs, le sorgho ou le tournesol, la matière sèche finale des grains est corrélée au volume des grains (Millet et Pinthus, 1984a; Gambin *et al.*, 2007; Rondanini *et al.*, 2009; Yang *et al.*, 2009; Hasan *et al.*, 2011). Ce dernier est déterminé par les dimensions (largeur, longueur et surface de grains) elles-mêmes corrélées à la masse sèche finale du grain. De plus, que ce soit chez le blé (Xie *et al.*, 2015), le maïs (Borràs *et al.*, 2003; Gambin *et al.*, 2007) ou le tournesol (Rondanini *et al.*, 2009), la masse sèche finale du grain est également corrélée au contenu maximal en eau. Par ailleurs, la longueur du grain étant fixée bien avant la teneur en eau maximale des grains (Fig. 1-13 et 1-14), cette dimension pourrait être déterminante pour le contenu maximal en eau du grain, et donc pour la matière sèche finale du grain (Hasan *et al.*, 2011).

A maturité, il a été montré l'existence d'une variabilité de la matière sèche individuelle des grains en fonction de leur position au sein de l'épi. Cette variabilité peut être étudiée selon deux gradients : le gradient vertical et/ou le gradient horizontal (Fig. 1-15).

Le gradient vertical fait référence à la position de l'épillet qui est généralement numérotée de la base vers le sommet de l'épi. Bien que cette variabilité puisse être étudiée au sein de chacun des épillets constitutifs de l'épi, dans la majorité des études, l'épi est divisé en plusieurs parties dans lesquelles plusieurs épillets sont regroupés (Fig. 1-15A). Ce gradient est généralement utilisé pour étudier la matière sèche totale des grains, le nombre total de grains et la matière sèche moyenne des grains au sein d'un épillet ou au sein d'une partie de l'épi.

Le gradient horizontal est représenté par la position individuelle des grains au sein d'un épillet. Le grain le plus proche du rachis, généralement numéroté 1, correspond au grain proximal. A l'opposé, le grain le plus éloigné du rachis (numéroté 5 sur la Fig. 1-15B) est généralement appelé grain distal. Bien que dans certaines études les deux grains proximaux soient regroupés car difficilement différenciables, ce gradient est généralement utilisé pour étudier chacun des grains constitutifs d'un l'épillet.

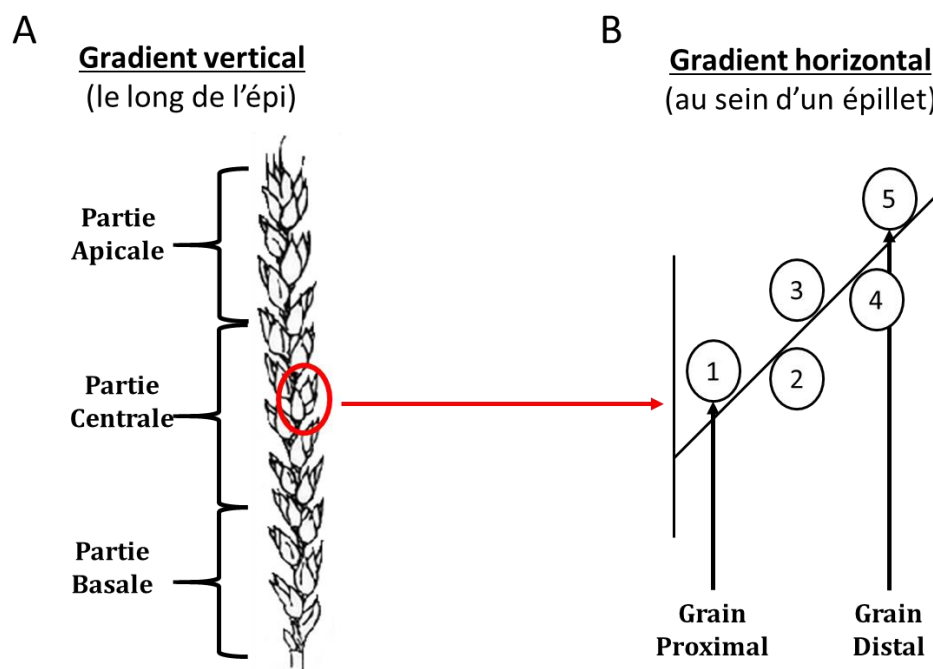


Figure 1-15 : Représentation schématique du gradient vertical (A), et du gradient horizontal (B) au sein de l'épi. Le gradient vertical peut être étudié au sein de chacun des épillets, ou en divisant l'épi en plusieurs parties (trois parties différentes sur ce schéma : basale, centrale et apicale). Le gradient horizontal correspond à la position du grain individuel au sein d'un épillet, le plus proche du rachis étant le grain proximal, le grain distal étant le plus éloigné.

III.2.1 Le gradient vertical

La variabilité de la matière sèche des grains selon le gradient vertical de l'épi peut donc être étudiée en considérant chacun des épillets de l'épi ou différentes zones regroupant plusieurs épillets. Dans ce dernier cas, bien que l'épi puisse être divisé en quatre ou cinq parties (Herzog et Stamp, 1983; Yildirim, 2013), la majorité des études utilisant cette méthodologie regroupent les épillets au sein de trois différentes parties : basale, centrale et apicale (Fig. 1-15.A) (Bremner, 1972; Slafer et Miralles, 1992; Miralles et Slafer, 1995). **Quelle que soit la division de l'épi effectuée, la matière sèche des grains est plus élevée dans la partie centrale de l'épi.** En revanche, les résultats sont plus contrastés concernant les deux autres parties, ne montrant dans certains cas aucune différence de matière sèche des grains entre les parties basale et apicale (Rawson et Evans, 1970; Rawson et Ruwali, 1972), dans d'autres cas les matières sèches des grains des parties basale et centrale sont similaires mais supérieures à celle des grains de la partie apicale (Herzog et Stamp, 1983). Enfin, dans d'autres cas encore, les grains de la partie centrale ont une matière sèche plus élevée que ceux de la partie basale, eux même présentant une matière sèche supérieure à celle des grains de la partie apicale (Bremner, 1972 ; Miralles et Slafer, 1995).

L'étude de la variabilité de chacun des épillets permet une description plus détaillée, montrant une distribution parabolique de la matière sèche des grains au sein de l'épi. En effet, la matière sèche des grains augmente des épillets situés à la base de l'épi jusqu'aux épillets localisés au centre, où ils atteignent une valeur maximale. Puis, cette valeur diminue plus les épillets se situent proche du sommet de l'épi (Fig. 1-16, Li *et al.*, 2016; Feng *et al.*, 2018; Philipp *et al.*, 2018). Cette forme de distribution n'a pas évolué au cours des processus de sélection, montrant que la contribution de chacun des épillets constitutifs de l'épi n'a pas changé entre les anciennes et les nouvelles variétés. Ainsi, le rendement a augmenté uniformément le long de l'épi, indiquant que ces traits n'ont pas été ciblés dans les processus de sélection. (Philipp *et al.*, 2018).

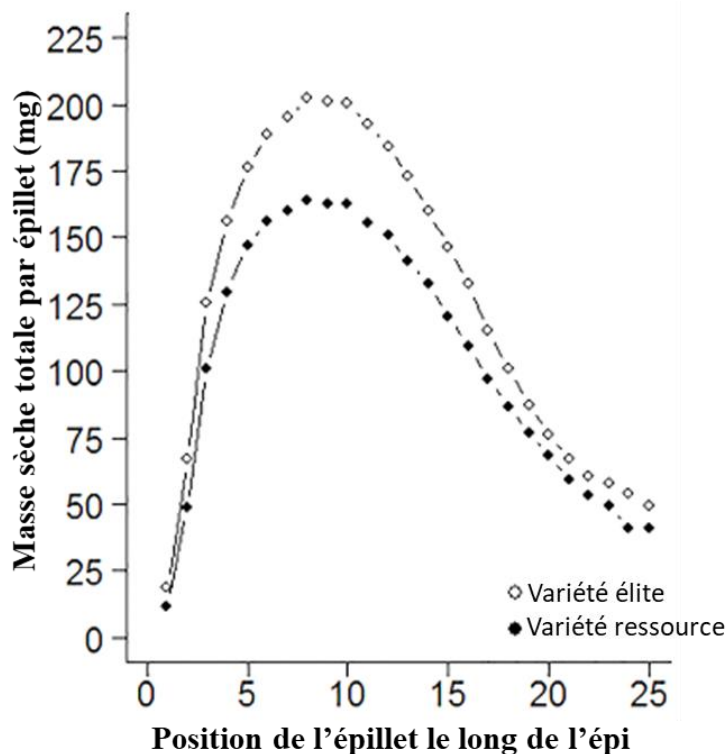


Figure 1-16 : Représentation graphique de la distribution de la masse totale des grains en fonction de la position des épillets le long de l'épi (gradient vertical) pour des variétés élites et des ressources génétiques. La matière sèche totale des grains augmente des épillets localisés à la base de l'épi jusqu'au centre de l'épi (matière sèche maximale atteinte), avant de diminuer au sein des épillets localisés vers le sommet de l'épi. Adaptée de Philipp *et al.* (2018).

III.2.2 Le gradient horizontal

Il est clairement établi que la matière sèche des grains proximaux (les plus proches du rachis, Fig. 1-15B) est plus élevée que celle des grains les plus distaux (les plus éloignés du rachis (Fig. 1-15B) (Miralles et Slafer, 1995; Li *et al.*, 2016; Feng *et al.*, 2018). Néanmoins, des résultats contrastés sont observés dans la littérature concernant les différences de matière sèche des deux grains proximaux. En effet, dans certains cas aucune différence n'est mise en évidence entre les deux grains les plus proches du rachis (Feng *et al.*, 2018), dans d'autres cas, il est montré que la masse sèche du grain le plus proximal est plus élevée que celle du grain localisé en deuxième position au sein d'un épillet (Herzog et Stamp, 1983). Enfin, d'autres études ont montré que la matière sèche finale du deuxième grain au sein d'un épillet était plus élevée que celle du grain proximal (Rawson et Evans, 1970; Rawson et Ruwali, 1972; Herzog et Stamp, 1983; Calderini et Reynolds, 2000; Hasan *et al.*, 2011; Xie *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2016).

En conclusion, il est bien établi que les grains les plus lourds sont localisés (i) au sein des épillets situés au centre de l'épi, et (ii) en position proximale au sein d'un épillet. Cependant les résultats sont moins consensuels particulièrement en ce qui concerne les parties basale et apicale de l'épi, et la taille des deux grains proximaux.

III.2.3 Effet de l'augmentation de la température sur la matière sèche finale des grains de blé

Comme nous l'avons détaillé dans la partie précédente (Chapitre 1, §II.3), les variables de l'environnement affectent le développement et par conséquent le rendement du blé dès la phase de germination de la graine. Dans cette partie, seuls les effets liés à l'augmentation de la température sur la matière sèche des grains seront développés.

Tout d'abord, comme nous l'avons vu, la période de mise en place des organes floraux est importante dans l'établissement de la matière sèche potentielle des grains. L'impact de la température a principalement été étudié. Ainsi une augmentation de la température moyenne (de 4°C à 5°C) entre l'épiaison et la floraison diminuera la taille moyenne de l'ovaire d'environ 24% (moyenne sur deux variétés étudiées). Néanmoins, cette diminution varie selon la position du carpelle au sein d'un épillet, et la masse des carpelles en position distale sera plus impactée que celle des carpelles en position proximale (Calderini *et al.*, 1999).

Au cours de la phase de remplissage des grains, une relation négative a été mise en évidence entre la matière sèche finale des grains et l'augmentation de la température moyenne (Asana et Williams, 1965; Wiegand et Cuellar, 1981). En effet, cette diminution de la matière sèche finale des grains dès lors que la température moyenne est augmentée de 15°C après anthèse entraîne une augmentation de la vitesse de croissance du grain, mais une réduction de la durée de remplissage. Ainsi, bien que la vitesse de croissance augmente elle ne suffit pas à compenser la perte de rendement due à la réduction de deux tiers de la durée de remplissage des grains (Sofield *et al.*, 1977).

En ce qui concerne les différents gradients, l'augmentation de la température moyenne n'aura pas les mêmes effets selon la position du grain au sein de l'épi. Ainsi, les grains situés dans la partie basale de l'épi, et ceux situés en position distale au sein d'un épillet sont plus sensibles que les grains localisés dans la partie apicale de l'épi, ou en position proximale au sein d'un épillet (Tashiro et Wardlaw, 1990).

III.3 Déterminants de la variabilité spatiale de la masse finale des grains

Dans la partie précédente, la variabilité de la matière sèche des grains a été caractérisée en fonction de deux gradients. La variabilité observée doit être en partie traduite par des forces de puits différentes entre les grains constitutifs d'un même épi. Cela peut être dû à une différence du nombre de cellules de l'albumen (Brockelurst, 1977). Cependant à notre connaissance aucun travail n'a été effectué pour confirmer cette hypothèse. En revanche, beaucoup d'études se sont focalisées sur les deux paramètres descriptifs du développement du grain pour expliquer la variabilité de la masse sèche finale : la vitesse de croissance et la durée de remplissage.

III.3.1 La vitesse de croissance et la durée de remplissage des grains

La vitesse de croissance et la durée de remplissage des grains ont largement été étudiées chez le blé tendre, mais également chez d'autres espèces telles que le blé dur, le riz, le maïs, le sorgho, le pois et le soja. Il existe une forte corrélation entre la matière sèche et la durée de remplissage des grains chez le maïs, le soja et le blé dur (Daynard *et al.*, 1971; Cross, 1975; Egli *et al.*, 1978; Gebeyehou *et al.*, 1982). Pour les autres céréales, bien que les deux paramètres soient corrélés à la matière sèche finale des grains (Bremner, 1972; Herzog et Stamp, 1983), les différences observées au sein de l'épi sont plutôt expliquées par des différences de vitesse de croissance (Fussell et Pearson, 1978; Jones *et al.*, 1979; Miralles et Slafer, 1995; Calderini et Reynolds, 2000; Atta *et al.*, 2004; Charmet *et al.*, 2005; Xie *et al.*, 2015). Cette corrélation est plus forte lors des deux premières phases de croissance du grain, et la vitesse de croissance au cours de la phase linéaire contribue le plus à la matière sèche finale (Calderini et Reynolds, 2000; Xie *et al.*, 2015).

Selon le gradient vertical de l'épi, les grains situés dans la partie centrale ont une croissance plus rapide que ceux de la partie basale, eux-mêmes grandissant plus vite que les grains situés dans la partie apicale (Herzog et Stamp, 1983; Miralles et Slafer, 1995). Cependant, ces quelques études n'ont pas utilisé des méthodes statistiques robustes pour comparer la cinétique de croissance des grains selon leur position le long de l'épi.

Au sein d'un épillet, les résultats sont plus contrastés. En effet, alors que dans certains cas, le grain en seconde position au sein d'un épillet se développe plus rapidement que le grain le plus proximal (Herzog et Stamp, 1983; Hasan *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2016), dans d'autres cas aucune différence de vitesse de croissance n'est mise en évidence entre les deux grains (Feng *et al.*, 2018).

En revanche, la matière sèche plus faible des grains les plus distaux est en partie expliquée par une vitesse de croissance plus faible que les deux grains en position proximale (Miralles et Slafer, 1995). Cependant, bien que la matière sèche du troisième grain soit généralement plus faible que les deux grains proximaux (Feng *et al.*, 2018), la suppression des deux grains proximaux au sein d'un épillet a permis de mettre en évidence une vitesse potentielle de croissance du troisième grain plus élevée que celles des grains en position proximale d'un épi témoin (Radley, 1978).

Ainsi, la vitesse de croissance au cours de la phase linéaire de développement du grain est en grande partie responsable des différences de matière sèche observées au sein de l'épi. Cependant, cela ne préjuge en rien des mécanismes sous-jacents qui peuvent être en lien avec le développement du grain, et/ou avec l'architecture de l'épi, et/ou la physiologie de l'épi. Bien que ces différentes hypothèses ne soient pas exclusives, pour permettre une meilleure explication, elles seront scindées en différentes parties dans la suite de cette synthèse.

III.3.2 Les différentes hypothèses causales

III.3.2.1 Architecturale

III.3.2.1.1 Les contraintes physiques

Comme nous l'avons précisé dans la partie précédente, la matière sèche finale des grains est corrélée au volume des grains (Millet et Pinthus, 1984a; Gambin *et al.*, 2007; Rondanini *et al.*, 2009; Yang *et al.*, 2009; Hasan *et al.*, 2011). Plusieurs contraintes peuvent limiter la croissance volumique du grain au cours de son développement, la première étant liée à la taille et la rigidité des enveloppes du grain (péricarpe). En effet, il sera décrit dans le paragraphe suivant (Chapitre 1, §III.3.2.2.1) que le nombre de cellules contraint la taille de la paroi ovarienne, cette dernière étant liée à la matière sèche finale des grains. Le péricarpe du grain étant issu de la paroi ovarienne, la restriction du volume imposée par cette dernière aura un effet négatif sur la matière sèche finale des grains. Ainsi, il a été supposé chez le blé tout comme chez le maïs, qu'une contrainte physique imposée par le nombre de cellule de la paroi ovarienne limitera la capacité du grain à se développer impactant ainsi la masse sèche du grain à maturité (Millet et Pinthus, 1984a; Calderini *et al.*, 1999; Ugarte *et al.*, 2007; Hasan *et al.*, 2011.).

D'autres contraintes physiques ont été listées chez le blé comme pouvant affecter la matière sèche finale des grains. Ainsi, le volume de la cavité au sein de laquelle se développe les grains, mais aussi la rigidité des bractées florales (glumes et glumelles) ainsi que la compacité de l'épi

liée à la présence rapprochée des épillets les uns contre les autres, peuvent potentiellement limiter la croissance volumique du grain. (Boshnakian, 1918; Millet et Pinthus, 1984a).

En ce qui concerne le gradient vertical de l'épi, et seulement pour le blé dur, caractérisé par des épillets plus serrés et des glumes plus petites, les grains de la partie centrale sont plus uniformes et symétriques que ceux localisés dans la partie apicale de l'épi (Boshnakian, 1918; Millet et Pinthus, 1984b).

En ce qui concerne le gradient horizontal, la matière sèche des différents grains d'un épillet est corrélée à la rigidité et à la taille des bractées florales (Millet et Pinthus, 1984b), et plus les glumes seront rigides, plus l'espace de croissance du grain situé d'un côté ou de l'autre du rachis sera limité (Boshnakian, 1918). Pour les grains en position distale, même si les glumelles sont plus souples, le volume de la cavité florale est plus faible, ce qui peut expliquer une masse finale plus faible que pour les grains proximaux (Millet et Pinthus, 1984b; Millet, 1986). Enfin le degré d'aplatissement des deux grains proximaux va dépendre de la pression exercée par la taille des grains distaux qui se développent au sommet de l'épillet (Boshnakian, 1918; Grafius, 1978). De manière similaire, les grains proximaux, se développant en premier, pourraient potentiellement exercer une contrainte physique sur le développement des grains distaux au sein d'un épillet.

Très peu d'études se sont focalisées sur l'effet des contraintes physiques sur la croissance des grains au sein de l'épi. Il est difficile de déterminer les limites entre l'effet d'un potentiel encombrement stérique de celle d'une compétition entre les grains pour les assimilats disponibles. Par exemple, la suppression d'un ou plusieurs grains en position proximale au sein d'un épillet, entraînant une augmentation de la matière sèche des grains en position plus distale (Calderini et Reynolds, 2000), pourrait aussi bien être la conséquence d'une contrainte physique limitant l'espace de croissance des grains, qu'une diminution de la compétition pour les assimilats.

III.3.2.1.2 Le système vasculaire

Bien que le système vasculaire soit essentiel pour l'alimentation des grains en assimilats, très peu d'études se sont focalisées sur son architecture chez les céréales à paille. En effet, seulement quelques études sur le blé (Hanif et Langer, 1972 ; Whingwiri *et al.*, 1981 ; O'Brien *et al.*, 1985), sur l'orge (Kirby et Rymer, 1974) et sur le riz (Kawahara *et al.*, 1977 [cité par O'Brien *et al.*, 1985]) sont disponibles.

Chez le blé, les grains ne sont pas alimentés par les mêmes vaisseaux selon leur position le long de l'épi. En effet, le nombre et le diamètre de ces vaisseaux diminuent de la base vers le sommet de l'épi. Ainsi, la croissance des grains localisés dans les épillets du sommet de l'épi peut être limitée par la quantité d'assimilats arrivant jusqu'à ces grains. De plus, contrairement aux épillets situés à la base de l'épi, les épillets localisés au centre sont alimentés par des vaisseaux plus larges et non ramifiés qui pourrait être à l'origine d'une plus faible résistance au transport des assimilats (Whingwiri *et al.*, 1981).

Au sein d'un épillet situé au centre de l'épi, les grains ne sont pas fournis en assimilats par les mêmes vaisseaux. Alors que les trois premiers grains sont alimentés par le système vasculaire principal provenant du rachis, les grains les plus distaux sont alimentés par des vaisseaux plus petits provenant de la ramification du plus gros vaisseau arrivant à l'insertion du grain (Fig. 1-17). Ainsi, une quantité plus faible d'assimilats arrivant aux grains les plus distaux peut expliquer leur matière sèche plus faible. La même architecture du système vasculaire a été observée au sein des épillets situés à la base de l'épi, mais une petite différence existe pour ceux situés au sommet. En effet, au sein de ces derniers, les deux grains en position proximale sont alimentés par des vaisseaux indépendants, alors que le troisième grain est alimenté par des vaisseaux provenant de la ramification du vaisseau arrivant à l'insertion du grain (Hanif et Langer, 1972).

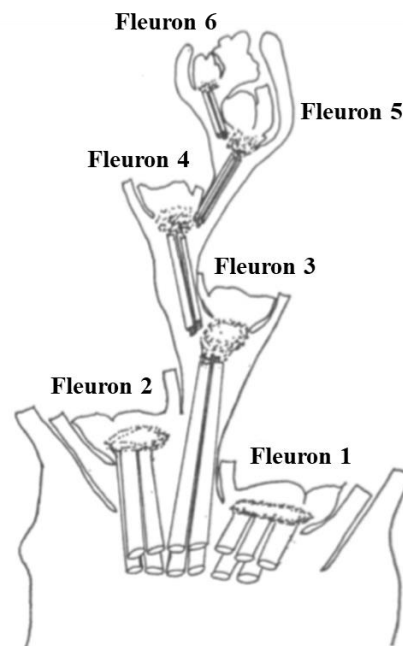


Figure 1-17 : Représentation schématique du système vasculaire d'un épillet central de blé.
Adaptée de Hanif et Langer (1972)

III.3.2.2 Développementale

III.3.2.2.1 La taille de l'ovaire

Que ce soit chez les fruits, tels que le kiwi (Cruz-Castillo *et al.*, 2002) ou l'olive (Rosati *et al.*, 2009), ou chez les céréales à paille, telles que le blé (Hasan *et al.*, 2011 ; Xie *et al.*, 2015) ou l'orge (Scott *et al.*, 1983), le tournesol (Cantagallo *et al.*, 2004), le sorgho (Yang *et al.*, 2009), la taille et/ou le poids de l'ovaire sont fortement corrélés à la matière sèche du fruit/grain. Cette corrélation est vraie pour différentes variétés de blé et de sorgho (Calderini *et al.*, 2001; Yang *et al.*, 2009; Hasan *et al.*, 2011; Xie *et al.*, 2015), différentes positions au sein d'un épillet (Calderini *et al.*, 1999 ; Hasan *et al.*, 2011) et différentes conditions environnementales, telles que les effets de la température (Calderini *et al.*, 1999-2001), la disponibilité en azote ou la densité de plante (Benincasa *et al.*, 2017). Par exemple, Xie *et al.* (2015) rapportent une relation linéaire entre la taille des ovaires à floraison et la matière sèche finale des grains avec une corrélation de $r^2 = 0.12$ ($P < 0.01$) et $r^2 = 0.20$ ($P < 0.01$) pour deux saisons de culture, différentes positions au sein de l'épi et plusieurs variétés de blé d'hiver.

Chez beaucoup d'espèces fruitières telles que le kiwi (Cruz-Castillo *et al.*, 1991) ou encore l'olive (Rosati *et al.*, 2011), les différences de tailles d'ovaires sont expliquées par des différences de nombre de cellules. Chez les céréales à grains telles que le sorgho (Yang *et al.*, 2009) et le blé (Reale *et al.*, 2017), la taille plus élevée de l'ovaire est également expliquée par un nombre plus grand de cellules au sein de la paroi ovarienne. De plus, la taille de l'ovaire est fonction des conditions environnementales (telles que la densité de plante ou l'apport d'azote), mais aussi des variétés étudiées (Reale *et al.*, 2017).

A notre connaissance, aucune étude n'a analysé les différences de taille d'ovaire le long de l'épi. En revanche, la taille des ovaires les plus distaux au sein d'un épillet (gradient horizontal) est plus faible que celle des ovaires proximaux (Calderini *et al.*, 1999; Hasan *et al.*, 2011; Xie *et al.*, 2015).

Il a cependant été montré que l'ablation des fleurs en position proximale au sein d'un épillet augmentent la matière sèche finale des grains en position distale (Herzog et Stamp, 1984; Calderini et Reynolds, 2000). Ainsi, bien que la taille de l'ovaire à floraison soit corrélée à la masse finale des grains chez le blé, elle n'est certainement pas le critère le plus influençant dans le développement et la détermination de la masse sèche finale du grain. En revanche, une corrélation

entre la taille de l'ovaire et la vitesse de croissance des grains a été mise en évidence ($r = 0.48$, $P < 0.05$, Calderini *et al.*, 1999-2000; Xie *et al.*, 2015).

Ainsi, la taille de l'ovaire pourrait avoir un effet sur la variabilité de la masse sèche des grains au sein de l'épi à travers son effet sur la vitesse de croissance des grains au cours de la phase de remplissage.

III.3.2.2.2 *Le décalage de floraison*

Le décalage de floraison entre les fleurs d'un même épi pourrait expliquer une partie des différences de matière sèche observées au sein de l'épi de blé. En effet, la floraison des fleurs ne s'effectue pas au même moment selon leur position au sein de l'épi et des épillets (Evans et Bingham, 1970; Rawson et Evans, 1970; De Vries, 1973; Willenborg *et al.*, 2009).

Les fleurs localisées dans la partie centrale de l'épi sont les premières à fleurir, suivi des fleurs situées dans la partie apicale environ 15°Cj^{-1} après. Celles se trouvant dans la partie basale de l'épi fleurissent environ 40°Cj^{-1} après les premières floraisons, et sont donc les dernières à fleurir (Rawson et Evans, 1970).

Au sein d'un épillet, et quelle que soit sa position le long de l'épi, la fleur proximale est la première à fleurir, et celle en position la plus distale fleurit en dernier. Ainsi, un décalage de floraison pouvant aller jusqu'à 3 à 4 jours est observé entre la floraison de la première et de la dernière fleur au sein d'un épillet (Rawson et Evans, 1970).

Par conséquent, il existe au sein de l'épi un décalage de 2 à 6 jours entre la floraison de la première et de la dernière fleur (Evans et Bingham, 1970; Rawson et Evans, 1970). Ces décalages de floraison peuvent se traduire par des différences finales de poids si l'arrêt du remplissage se produit avant que les grains n'aient atteint leur taille potentielle.

Il serait donc intéressant de comparer les vitesses de croissance et les durées de remplissage des grains en prenant en compte leur date de floraison.

III.3.2.3 *Gradients hormonaux*

Il existe deux types de substances chimiques ayant un effet régulateur sur la croissance des grains : les hormones et les polyamines.

Les hormones jouent un rôle important dans la régulation du développement du grain des céréales. Chez le blé, des concentrations plus élevées de cytokinines (CTKs), telles que la zéatine

(Z) et la zéatine riboside (ZR), et d'auxine (IAA), sont observées dans l'albumen dont il est supposé qu'elles favorisent la division cellulaire pendant les premiers stades de développement. Cela suppose leur implication dans la détermination de la force du puits (Liu *et al.*, 2013). De plus, la concentration en acide abscissique (ABA) est plus élevée dans les grains proximaux de la partie centrale (définie par les épillets 4 à 12) contrairement aux grains distaux de ces mêmes épillets. A l'opposé, la concentration en éthylène (ETH) est plus élevée dans les grains en position basale. Par ailleurs, la vitesse de remplissage des grains est corrélée positivement aux rapports ABA/ETH et Z+ZR/ETH, pouvant donc expliquer en partie les différences de masse sèche finale observées chez l'épi de blé (Yang *et al.*, 2006). En ce qui concerne les gibbérellines, bien qu'elles soient présentes dans les grains de riz au moment de l'anthèse (Kurogochi *et al.*, 1979), elles n'ont pas de rôle clé dans la régulation du remplissage des grains de blé (Liu *et al.*, 2013).

Les polyamines sont des composés organiques possédant deux ou plusieurs fonctions amines qui ont été décrits comme des régulateurs endogènes de la croissance des plantes. Il existe trois principales polyamines qui régulent la croissance de la plante, son développement et les réponses face aux stress abiotiques : la putrescine (Put), la spermidine (Spd) et la spermine (Spm) (Alcázar *et al.*, 2006; Kusano *et al.*, 2007). Chez le riz, la matière sèche des grains est plus élevée au sommet de la panicule et plus faible à la base. Ce résultat est en partie expliqué par la présence des polyamines Spd et Spm et l'absence de la polyamine Put. En effet, alors que la concentration en polyamine Put est corrélée négativement avec la vitesse moyenne et maximale de croissance, et avec la masse finale du grain, les deux autres polyamines montrent une corrélation positive. Par conséquent, la présence des polyamines Spd et Spm dans les grains supérieurs permet une masse sèche finale plus élevée notamment grâce à une vitesse de croissance plus rapide au cours de la première moitié du développement du grain (Tan *et al.*, 2009 [cité par Liu *et al.*, 2013]). Des résultats similaires ont récemment été mis en évidence chez le blé, à savoir qu'il existe une corrélation positive entre la concentration en polyamines Spm et Spd et la vitesse moyenne et maximale de croissance ainsi que la masse sèche finale des grains (en moyenne $r^2 = 0.93$, $P < 0.01$ pour les trois paramètres). Cependant, la présence de la polyamine Put n'est pas corrélée avec la masse sèche finale des grains (Liu *et al.*, 2013). Ces résultats sont renforcés par des traitements avec des polyamines qui montrent que des applications exogènes de Spd et de Spm augmentent de façon significative la vitesse de remplissage et le poids du grain, alors qu'une application de Put exogène n'a eu aucun effet significatif.

Ces études montrent l'importance des hormones individuelles mais aussi de l'équilibre entre elles dans la régulation du remplissage du grain. Par ailleurs, les polyamines sont nécessaires pour maintenir cet équilibre hormonal et ainsi réguler le remplissage des grains. En effet, il semblerait que les polyamines Spd et Spm favorisent le contenu en Z+ZR, ABA, et IAA des grains et inhibent la synthèse de l'éthylène. Au contraire, la polyamine Put augmenterait la concentration en ETH des grains et par conséquent ne favoriserait pas leur développement (Liu *et al.*, 2013).

Ainsi, les hormones et les polyamines sont des éléments clés contrôlant la matière sèche finale des grains, et agissant dès la division cellulaire de l'albumen. A notre connaissance aucune étude ne s'est focalisée sur le gradient vertical notamment en fonction des trois parties de l'épi (basale, centrale et apicale, Fig. 1-15A). Néanmoins, un gradient horizontal est mis en évidence à savoir que la matière sèche plus faible des grains distaux au sein des épillets centraux serait en partie liée à une faible concentration en ABA, en CTK et en IAA pendant les premiers stades de développement, et à une concentration plus élevée en ETH au cours du remplissage.

IV Objectifs de la thèse

Le nombre de grains par mètre carré, qui est déterminé avant l'anthèse, et le poids de mille grains qui s'établit au cours de la phase de remplissage, sont les deux composantes principales à l'origine du rendement. Le poids de mille grains est généralement calculé à l'échelle de la parcelle et représente la masse moyenne d'un très grand nombre de grains individuels. Notre postulat est que derrière les valeurs moyennes des composantes de rendement, et de la masse des grains en particulier, une source de variabilité génétique inexplorée réside dans la variance associée à ces traits, qui permettrait donc de sélectionner des variétés de blé mieux adaptées aux nouvelles contraintes abiotiques imposées par le changement climatique. Ainsi, pour poursuivre une stratégie d'amélioration génétique du poids de mille grains basée sur la variation du poids individuel du grain, il est nécessaire de comprendre quels sont les mécanismes écophysologiques qui sont associés à cette variabilité.

Comme nous l'avons vu la littérature offre une information détaillée sur la variabilité spatiale de la distribution individuelle des poids des grains dans l'épi et sur la dynamique de croissance de grains spécifiques. Elle est par contre peu importante concernant l'analyse de la dynamique de croissance des grains dans différentes régions de l'épi et dans l'épillet. Seules quelques études tentent de le faire mais elles ne présentent souvent pas une comparaison statistique

robuste des paramètres cinétiques des grains dans les différentes parties de l'épi. De plus, l'ensemble des paramètres pouvant décrire le remplissage des grains (date de floraison de chaque fleur, poids des grains à floraison, vitesse et durée de remplissage) est rarement considéré simultanément. Enfin, certaines hypothèses pouvant expliquer les gradients de masse de grains n'ont pas été testées expérimentalement.

L'objectif de ma thèse est donc d'identifier le déterminisme écophysologique de la variabilité de la masse individuelle des grains en fonction de leur position au sein de l'épi et de l'épillet. Pour cela, nous avons décomposé le travail en trois parties :

La première partie avait pour objectif de caractériser la variabilité de la masse sèche des grains de quatre géotypes et deux environnements différents. Pour cela, nous avons étudié à maturité la distribution de la matière sèche individuelle des grains au sein de l'épi. Ce premier axe de recherche était considéré comme une étude préliminaire devant nous permettre de sélectionner des géotypes différents, et d'apporter des éléments méthodologiques d'étude de la distribution qui seront utilisés dans les parties suivantes. Cette première partie fait l'objet du Chapitre 2.

La seconde partie avait pour principal objectif de tester une hypothèse architecturale pouvant être à l'origine de la variabilité de la masse sèche des grains. Nous avons supposé que la présence rapprochée des épillets dans la partie centrale de l'épi pouvait engendrer une contrainte mécanique empêchant le grain d'atteindre sa taille potentielle. Afin de tester si la croissance des grains était totalement, partiellement ou pas du tout limitée par la croissance des autres grains à proximité, nous avons créé différentes formes d'encombrement au sein de l'épi. Pour cela des ablations ont été effectuées à floraison et les effets sur la matière sèche finale des grains ont été étudiés à maturité. Cette étude a été menée en conditions contrôlées avec deux variétés choisies à partir de l'étude préliminaire. L'expérimentation ainsi que les résultats font l'objet du Chapitre 3

Dans une dernière partie, l'objectif était d'étudier les cinétiques de croissance au cours du développement du grain. Nous avons supposé que la vitesse de croissance ainsi que la durée de remplissage pouvaient être à l'origine des différences de masse sèche finale observées le long de l'épi. Tout en prenant en compte le décalage de floraison entre les différentes fleurs de l'épi, nous avons effectué plusieurs prélèvements au cours du temps pour suivre la croissance de certains grains de l'épi. Cette expérimentation a également été effectuée en conditions contrôlées avec les deux mêmes variétés issues de l'étude préliminaire. La description de cette étude ainsi que les

résultats obtenus sont présentés dans le Chapitre 4 qui a été publié : **Baillet N., Girousse C., Allard V., Piquet-Pissaloux A., and Le Gouis J.**, 2018. “Different Grain-Filling Rates Explain Grain-Weight Differences along the Wheat Ear.” *PloS ONE* 13 (12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209597>.

Enfin une discussion générale fait l’objet du Chapitre 5 où les résultats des différentes parties seront rediscutés et mis en perspective.

REFERENCES

- Acevedo E., Silva P., et Silva H.**, 2002. « Growth and wheat physiology, development ». In *Bread wheat: improvement and production*, FAO, 567. Curtis BC, Rajaram S, Gomez Macpherson H.
- Alcázar R., Marco F., Cuevas J. C., Patron M., Ferrando A., Carrasco P., Tiburcio A. F., et Altabella T.**, 2006. « Involvement of Polyamines in Plant Response to Abiotic Stress ». *Biotechnology Letters* 28 (23): 1867-76. <https://doi.org/10.1007/s10529-006-9179-3>.
- Arvalis-Institut du végétal**, (2016) Comment s'élabore le rendement des céréales à paille? Available at: <http://www.arvalis-infos.fr/comment-s-elabore-le-rendement--@/view16191-arvarticle.html>.
- Asana R. D., et Williams R. F.**, 1965. « The Effect of Temperature Stress on Grain Development in Wheat ». *Australian Journal of Agricultural Research* 16 (1): 1-13. <https://doi.org/10.1071/ar9650001>.
- Atta S., Maltese S., et Cousin R.**, 2004. « Protein content and dry weight of seeds from various pea genotypes ». *Agronomie* 24 (5): 257-66. <https://doi.org/10.1051/agro:2004025>.
- Aubertot J.N., Barbier J.M., Carpentier A., Gril J. J., Guichard L., Lucas P., Savary S., Savini I., et Voltz M.**, 2005. *Pesticides, agriculture et environnement. Réduire l'utilisation des pesticides et limiter leurs impacts environnementaux. Expertise scientifique collective, synthèse du rapport, INRA et Cemagref (France)*.
- Awika J. M.**, 2011. « Major Cereal Grains Production and Use around the World ». In *Advances in Cereal Science: Implications to Food Processing and Health Promotion*, 1089:1-13. ACS Symposium Series 1089. American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/bk-2011-1089.ch001>.
- Barraclough P. B., Howarth J. R., Lopez-Bellido J. J. R., Parmar S., Shepherd C. E., et Hawkesford M. J.**, 2010. « Nitrogen efficiency of wheat: Genotypic and environmental variation and prospects for improvement ». *European Journal of Agronomy* 33 (1): 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2010.01.005>.
- Bayles B. B., et Clark J. A.**, 1954. *Classification of Wheat Varieties Grown in the United States in 1949*. U.S. Dept. of Agriculture.
- Bechtel D. B., et Wilson J. D.**, 2003. « Amyloplast Formation and Starch Granule Development in Hard Red Winter Wheat ». *Cereal Chemistry* 80 (2): 175-83. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.2003.80.2.175>.
- Bechtel D. B., Zayas I., Kaleikau L., et Pomeranz Y.**, 1990. « Size-Distribution of Wheat Starch Granules during Endosperm Development ». *Cereal Chemistry (USA)*. <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US9026714>.
- Benincasa P., Reale L., Tedeschini E., Ferri V., Cerri M., Ghitarrini S., Falcinelli B., Frenguella G., Ferrantia F., Ayanob B. E., Porfirib O., et Rosatic A.**, 2017. « The relationship between grain and ovary size in wheat: An analysis of contrasting grain weight cultivars under

different growing conditions ». *Field Crops Research* 210 (août): 175-82. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2017.05.019>.

Berger F., 1999. « Endosperm Development ». *Current Opinion in Plant Biology* 2 (1): 28-32.

Blum A., 1986. « The Effect of Heat Stress on Wheat Leaf and Ear Photosynthesis ». *Journal of Experimental Botany* 37 (1): 111-18. <https://doi.org/10.1093/jxb/37.1.111>.

Blum A., Sinmena B., Mayer J., Golan G., et Shpiler L., 1994. « Stem Reserve Mobilisation Supports Wheat-Grain Filling Under Heat Stress ». *Functional Plant Biology* 21 (6): 771-81. <https://doi.org/10.1071/pp9940771>.

Bolot S., Abrouk M., Masood-Quraishi U., Messing N. S. J., Feuillet C., et Salse J., 2009. « The “inner Circle” of the Cereal Genomes ». *Current Opinion in Plant Biology* 12 (2): 119-25. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2008.10.011>.

Bonnot T., 2016. « Réponse du grain de blé à la nutrition azotée et soufrée : étude intégrative des mécanismes moléculaires mis en jeu au cours du développement du grain par des analyses - omiques ». Clermont-Ferrand: Université Clermont Auvergne.

Borràs L., Westgate M. E., et Otegui M. E., 2003. « Control of Kernel Weight and Kernel Water Relations by Post-flowering Source–sink Ratio in Maize ». *Annals of Botany* 91 (7): 857-67. <https://doi.org/10.1093/aob/mcg090>.

Boshnakian S., 1918. « The Mechanical Factors Determining the Shape of the Wheat Kernel ». *Agronomy Journal* 10 (5): 205-9. <https://doi.org/10.2134/agronj1918.00021962001000050003x>.

Bouaziz A., et Hicks D. R., 1990. « Consumption of Wheat Seed Reserves during Germination and Early Growth as Affected by Soil Water Potential ». *Plant and Soil* 128 (2): 161-65. <https://doi.org/10.1007/BF00011105>.

Branlard G., Dardevet M., Saccomano R., Lagoutte F., et Gourdon J., 2001. « Genetic Diversity of Wheat Storage Proteins and Bread Wheat Quality ». *Euphytica* 119 (1): 59-67. <https://doi.org/10.1023/A:1017586220359>.

Bremner P. M., 1972. “Accumulation of Dry Matter and Nitrogen by Grains in Different Positions of the Wheat Ear as Influenced by Shading and Defoliation.” *Australian Journal of Biological Sciences* 25 (4): 657. <https://doi.org/10.1071/BI9720657>.

Brisson N., Gate P., Gouache D., Charmet G., Oury F.-X. et Huard, F., (2010) Why are wheat yields stagnating in Europe? A comprehensive data analysis for France. *F. Crop. Res.*, 119, 201–212.

Brocklehurst P. A., 1977. « Factors Controlling Grain Weight in Wheat ». *Nature* 266 (5600): 348. <https://doi.org/10.1038/266348a0>.

Brouns F., Hemery Y., Price R., et Anson N. M., 2012. « Wheat Aleurone: Separation, Composition, Health Aspects, and Potential Food Use ». *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 52 (6): 553-68. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.589540>.

Calderini D. F., Abeledo L. G., Savin R., et Slafer G. A., 1999. « Effect of Temperature and Carpel Size during Pre-Anthesis on Potential Grain Weight in Wheat ». *The Journal of Agricultural Science* 132 (4): 453-59.

Calderini D. F., et Reynolds M. P., 2000. « Changes in Grain Weight as a Consequence of De-Graining Treatments at Pre- and Post-Anthesis in Synthetic Hexaploid Lines of Wheat (*Triticum durum* x *T. tauschii*) ». *Australian Journal of Plant Physiology*. <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201302951992>.

Calderini D.F., Savin R., Abeledo L.nG., Reynolds M. P, et Slafer G. A., 2001. « The Importance of the Period Immediately Preceding Anthesis for Grain Weight Determination in Wheat ». *Euphytica* 119 (1): 199-204. <https://doi.org/10.1023/A:1017597923568>.

Cantagallo J. E., Medan D., et Hall A. J., 2004. « Grain number in sunflower as affected by shading during floret growth, anthesis and grain setting ». *Field Crops Research* 85 (2): 191-202. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(03\)00160-6](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(03)00160-6).

Charmet G., 2011. « Wheat Domestication: Lessons for the Future ». *Comptes Rendus Biologies* 334 (3): 212-20. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2010.12.013>.

Charmet G., Robert N., Branlard G., Linossier L., Martre P., et Tribouï E., 2005. « Genetic Analysis of Dry Matter and Nitrogen Accumulation and Protein Composition in Wheat Kernels ». *Theoretical and Applied Genetics* 111 (3): 540-50. <https://doi.org/10.1007/s00122-005-2045-1>.

Chateigner-Boutin A-L., Lapierre C., Alvarado C., Yoshinaga A., Barron C., Bouchet B., Bakan B., Saulnier L., Devaux M-F., Girousse C., et Guillon F., 2018. « Ferulate and lignin cross-links increase in cell walls of wheat grain outer layers during late development ». *Plant Science* 276 (novembre): 199-207. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2018.08.022>.

Cormier F., Foulkes J., Hirel B., Gouache D., Moenne-Loccoz Y., et Le Gouis J., 2016. « Breeding for increased nitrogen-use efficiency: a review for wheat (*T. aestivum*L.) ». *Plant Breeding* 135 (3): 255-78. <https://doi.org/10.1111/pbr.12371>.

Cross, H. Z., 1975. « Diallel Analysis of Duration and Rate of Grain Filling of Seven Inbred Lines of Corn 1 ». *Crop Science* 15 (4): 532-35. <https://doi.org/10.2135/cropsci1975.0011183X001500040023x>.

Cruz-Castillo J.G., Lawes G.S., and Woolley D.J., 1991. «The influence of the time of anthesis, seed factors, and the application of a growth regulator mixture on the growth of kiwifruit. » *Acta Hort.* 297:475–480.

Cruz-Castillo J. G., Woolley D. J., et Lawes G. S., 2002. « Kiwifruit size and CPPU response are influenced by the time of anthesis ». *Scientia Horticulturae* 95 (1): 23-30. [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(01\)00384-3](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(01)00384-3).

Daynard T. B., Tanner J. W., et Duncan W. G., 1971. « Duration of the Grain Filling Period and Its Relation to Grain Yield in Corn, *Zea Mays* L. 1 ». *Crop Science* 11 (1): 45-48. <https://doi.org/10.2135/cropsci1971.0011183X001100010015x>.

De Vries A. Ph., 1973. « Some Aspects of Cross-Pollination in Wheat (*Triticum aestivum* L.) 2. Anther Extrusion and Ear and Plant Flowering Pattern and Duration ». *Euphytica* 22 (3): 445-56. <https://doi.org/10.1007/BF00036640>.

Dubcovsky J., et Dvorak J., 2007. « Genome Plasticity a Key Factor in the Success of Polyploid Wheat under Domestication ». *Science (New York, N.Y.)* 316 (5833): 1862-66. <https://doi.org/10.1126/science.1143986>.

Efretuei A., Gooding M., White E., Spink J., et Hackett R., 2016. « Effect of Nitrogen Fertilizer Application Timing on Nitrogen Use Efficiency and Grain Yield of Winter Wheat in Ireland ». *Irish Journal of Agricultural and Food Research* 55 (1): 63-73. <https://doi.org/10.1515/ijafr-2016-0006>.

Egli D. B., Leggett J. E., et Wood J. M., 1978. « Influence of Soybean Seed Size and Position on the Rate and Duration of Filling 1 ». *Agronomy Journal* 70 (1): 127-30. <https://doi.org/10.2134/agronj1978.00021962007000010029x>.

Ehdaie B., Alloush G. A., et Waines J. G., 2008. « Genotypic variation in linear rate of grain growth and contribution of stem reserves to grain yield in wheat ». *Field Crops Research* 106 (1): 34-43. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2007.10.012>.

Evans L. T., and Bingham J., 1970. “The Pattern of Grain Set Within Ears of Wheat.” *Australian journal of biological sciences* 23(4):753-764. DOI: 10.1071/B19700753

Evers T., et Millar S., 2002. « Cereal Grain Structure and Development: Some Implications for Quality ». *Journal of Cereal Science* 36 (3): 261-84. <https://doi.org/10.1006/jcrs.2002.0435>.

Feillet P., (2000) Le grain de blé : composition et utilisation INRA., Paris.

Feng F., Han Y., Wang S., Yin S., Peng Z., Zhou M., Gao W., Wen X., Qin X., et. Siddique K. H. M., 2018. “The Effect of Grain Position on Genetic Improvement of Grain Number and Thousand Grain Weight in Winter Wheat in North China.” *Frontiers in Plant Science* 9: 129. doi.org/10.3389/fpls.2018.00129.

Fischer R. A., 1985. « Physiological Limitations to Producing Wheat in Semitropical and Tropical Environments and Possible Selection Criteria ». p. 209-230. In *Wheats for More Tropical Environments*. Proceeding of the International Symposium. Mexico, D.F. 25-28 Sep. CIMMYT.

Fussell L. K., et Pearson C. J., 1978. « Course of grain development and its relationship to black region appearance in *Pennisetum americanum* ». *Field Crops Research* 1 (janvier): 21-31. [https://doi.org/10.1016/0378-4290\(78\)90004-7](https://doi.org/10.1016/0378-4290(78)90004-7).

Galloway J. N., Townsend A. R., Erisman J. W., Bekunda M., Cai Z., Freney J. R., Martinelli L. A., Seitzinger S. P., et Sutton M.A., 2008. « Transformation of the Nitrogen Cycle: Recent Trends, Questions, and Potential Solutions ». *Science (New York, N.Y.)* 320 (5878): 889-92. <https://doi.org/10.1126/science.1136674>.

Gambin B. L., Borrás L., Otegui M. E., 2007. « Is maize kernel size limited by its capacity to expand? » *Maydica* ;52:431-441

Gebeyehou G., Knott D. R., and Baker R. J., 1982. “Rate and Duration of Grain Filling in Durum Wheat Cultivars 1.” *Crop Science* 22 (2): 337-40. doi.org/10.2135/cropsci1982.0011183X002200020033x.

Grafius J. E., 1978. “Multiple Characters and Correlated Response.” *Crop Science (USA)* 18 (6): 931-34. <https://doi.org/10.2135/cropsci1978.0011183X001800060004x>.

- Gustafson P., Raskina O., Ma X., et Nevo E.**, 2009. « Wheat Evolution, Domestication, and Improvement ». In *Wheat Science and Trade*, 3-30. John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9780813818832.ch1>.
- Hanif M., et Langer R. H. M.**, 1972. « The Vascular System of the Spikelet in Wheat (*Triticum aestivum*) ». *Annals of Botany* 36 (4): 721-27. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a084628>.
- Hasan A. K., Herrera J., Lizana C., and Calderini D. F.**, 2011. “Carpel Weight, Grain Length and Stabilized Grain Water Content Are Physiological Drivers of Grain Weight Determination of Wheat.” *Field Crops Research* 123 (3): 241–47. doi.org/10.1016/j.fcr.2011.05.019.
- Hawkesford M. J.**, 2014. « Reducing the reliance on nitrogen fertilizer for wheat production ». *Journal of Cereal Science*, Cereal Science for Food Security, Nutrition and Sustainability, 59 (3): 276-83. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2013.12.001>.
- Herzog H., and Stamp P.**, 1983. “Dry Matter and Nitrogen Accumulation in Grains at Different Ear Positions in ‘Gigas’, Semidwarf and Normal Spring Wheats.” *Euphytica* 32 (2): 511–20. doi.org/10.1007/BF00021463.
- Hochman Z.**, 1982. « Effect of water stress with phasic development on yield of wheat grown in a semi-arid environment ». *Field Crops Research* 5 (janvier): 55-67. [https://doi.org/10.1016/0378-4290\(82\)90006-5](https://doi.org/10.1016/0378-4290(82)90006-5).
- INSERM.**, 2013. *Pesticides : effets sur la santé. Synthèse et recommandations de l'expertise collective*. Inserm (France).
- IPCC.** Masson-Delmotte V., Zhai P., Pörtner H. O., Roberts D., Skea J., Shukla P. R., Pirani A., Moufouma-Okia W., Péan C., Pidcock R., Connors S., Matthews J. B. R., Chen Y., Zhou X., Gomis M. I., Lonnoy E., Maycock T., Tignor M., Waterfield T., 2018. *Summary for Policymakers. In: Global warming of 1.5°C. An IPCC Special Report on the impacts of global warming of 1.5°C above pre-industrial levels and related global greenhouse gas emission pathways, in the context of strengthening the global response to the threat of climate change, sustainable development, and efforts to eradicate poverty*. World Meteorological Organization. Geneva, Switzerland
- Jones D. B., Peterson M. L., et Geng S.**, 1979. « Association Between Grain Filling Rate and Duration and Yield Components in Rice 1 ». *Crop Science* 19 (5): 641-44. <https://doi.org/10.2135/cropsci1979.0011183X001900050023x>.
- Kawahara H., Matsuda T., et Chonan N.**, 1977. « Studies on Morphogenesis in Rice Plant : IX. On the Structure of Vascular Bundles and Phloem Transport in the Spikelet ». *Japanese Journal of Crop Science* 46 (1): 82-90. <https://doi.org/10.1626/jcs.46.82>.
- Kirby E. J. M.**, 2002. « Botany of the wheat plant ». In *Bread wheat, improvement and production*, FAO. Rome: Curtis B, Rajaram S, Macpherson H.
- Kirby E. J. M., et Rymer J. L.**, 1974. « Development of the Vascular System in the Ear of Barley ». *Annals of Botany* 38 (3): 565-73. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a084842>.

- Kuroguchi S., Murofushi N., Ota Y., et Takahashi N.,** 1979. « Identification of Gibberellins in the Rice Plant and Quantitative Changes of Gibberellin A19 throughout Its Life Cycle ». *Planta* 146 (2): 185-91. <https://doi.org/10.1007/BF00388230>.
- Kusano T., Yamaguchi K., Berberich T., et Takahashi Y.,** 2007. « Advances in Polyamine Research in 2007 ». *Journal of Plant Research* 120 (3): 345-50. <https://doi.org/10.1007/s10265-007-0074-3>.
- Large E. C.,** 1954. « Growth Stages in Cereals Illustration of the Feekes Scale ». *Plant Pathology* 3 (4): 128-29. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.1954.tb00716.x>.
- Laudencia-Chingcuanco D. L., Stamova B. S., You F. M, Lazo G. R., Beckles D. M., et Anderson O. D.,** 2007. « Transcriptional Profiling of Wheat Caryopsis Development Using CDNA Microarrays ». *Plant Molecular Biology* 63 (5): 651-68. <https://doi.org/10.1007/s11103-006-9114-y>.
- Li Y., Cui Z., Ni Y., Zheng M., Yang D., Jin M., Chen J., Wang Z., and Yin Y.,** 2016. “Plant Density Effect on Grain Number and Weight of Two Winter Wheat Cultivars at Different Spikelet and Grain Positions.” *PLoS ONE* 11 (5): e0155351. doi.org/10.1371/journal.pone.0155351.
- Liu Y., Gu D., Wu W., Wen X., and Liao Y.** 2013., “The Relationship between Polyamines and Hormones in the Regulation of Wheat Grain Filling.” *PLoS ONE* 8 (10): e78196. doi.org/10.1371/journal.pone.0078196.
- Midmore D. J., Cartwright P. M., et Fischer R. A.,** 1984. « Wheat in tropical environments. II. Crop growth and grain yield ». *Field Crops Research* 8 (janvier): 207-27. [https://doi.org/10.1016/0378-4290\(84\)90064-9](https://doi.org/10.1016/0378-4290(84)90064-9).
- Millet E.,** 1986. « Relationships Between Grain Weight and the Size of Floret Cavity in the Wheat Spike ». *Annals of Botany* 58 (3): 417-23.
- Millet E., et Pinthus M. J.,** 1984a. « The association between grain volume and grain weight in wheat ». *Journal of Cereal Science* 2 (1): 31-35. [https://doi.org/10.1016/S0733-5210\(84\)80005-3](https://doi.org/10.1016/S0733-5210(84)80005-3).
- Millet E., et Pinthus M. J.,** 1984b. « Effects of Removing Floral Organs, Light Penetration and Physical Constraint on the Development of Wheat Grains ». *Annals of Botany* 53 (2): 261-70. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a086687>.
- Miralles D. J., et Slafer G. A.,** 1995. « Individual grain weight responses to genetic reduction in culm length in wheat as affected by source-sink manipulations ». *Field Crops Research* 43 (2): 55-66. [https://doi.org/10.1016/0378-4290\(95\)00041-N](https://doi.org/10.1016/0378-4290(95)00041-N).
- Nadaud I., Girousse C., Debiton C., Chambon C., Bouzidi M. F., Martre P., et Branlard G.,** 2010. « Proteomic and Morphological Analysis of Early Stages of Wheat Grain Development ». *Proteomics* 10 (16): 2901-10. <https://doi.org/10.1002/pmic.200900792>.
- O'Brien T. P., Sammut M. E., Lee J. W., et Smart M. G.,** 1985. « The Vascular System of the Wheat Spikelet ». *Functional Plant Biology* 12 (5): 487-511. <https://doi.org/10.1071/pp9850487>.
- Olsen O-A.,** 2001. « ENDOSPERM DEVELOPMENT: Cellularization and Cell Fate Specification ». *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 52 (juin): 233-67. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.52.1.233>.

- Oosterhuis D. M., et Cartwright P. M.,** 1983. « Spike Differentiation and Floret Survival in Semidwarf Spring Wheat as Affected by Water Stress and Photoperiod 1 ». *Crop Science* 23 (4): 711-17. <https://doi.org/10.2135/cropsci1983.0011183X002300040026x>.
- Oury F-X., Godin C., Mailliard A., Chassin A., Gardet O., Giraud A., Heumez E., Morlais J-Y., Rolland B., Rousset M., Trottet M., et Charmet G.,** 2012. « A study of genetic progress due to selection reveals a negative effect of climate change on bread wheat yield in France ». *European Journal of Agronomy* 40 (juillet): 28-38. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2012.02.007>.
- Peterson C. M., Klepper B., Pumphrey F. V., et Rickman R. W.,** 1984. « Restricted Rooting Decreases Tillering and Growth of Winter Wheat 1 ». *Agronomy Journal* 76 (5): 861-63. <https://doi.org/10.2134/agronj1984.00021962007600050034x>.
- Philipp N., Weichert H., Bohra U., Weschke W., Schulthess A. W., and Weber H.,** 2018. “Grain Number and Grain Yield Distribution along the Spike Remain Stable despite Breeding for High Yield in Winter Wheat.” Edited by Aimin Zhang. *PloS ONE* 13 (10): e0205452. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205452>.
- Poitrat E.,** 1999. « The potential of liquid biofuels in France ». *Renewable Energy, Renewable Energy Efficiency, Policy and the Environment*, 16 (1): 1084-89. [https://doi.org/10.1016/S0960-1481\(98\)00414-5](https://doi.org/10.1016/S0960-1481(98)00414-5).
- Pomeranz Y.,** 1982. « Grain Structure and End-Use Properties ». *Food Structure* 1 (2). <https://digitalcommons.usu.edu/foodmicrostructure/vol1/iss2/2>.
- Popp J., Petó K., et Nagy J.,** 2013. « Pesticide Productivity and Food Security. A Review ». *Agronomy for Sustainable Development* 33 (1): 243-55. <https://doi.org/10.1007/s13593-012-0105-x>.
- Radley M.,** 1978. « Factors Affecting Grain Enlargement in Wheat ». *Journal of Experimental Botany* 29 (4): 919-34. <https://doi.org/10.1093/jxb/29.4.919>.
- Rawson H. M., et Evans L. T.,** 1970. “The Pattern of Grain Growth within the Ear of Wheat.” *Australian Journal of Biological Sciences* 23 (4): 753. <https://doi.org/10.1071/BI9700753>.
- Rawson H. M., et Ruwali K. N.,** 1972. “Ear Branching as a Means of Increasing Grain Uniformity in Wheat.” *Australian Journal of Agricultural Research - AUST J AGR RES* 23 (January). <https://doi.org/10.1071/AR9720551>.
- Reale L., Rosati A., Tedeschini E., Ferri V., Cerri M., Ghitarrini S., Timorato V., Ayano B. E., Porfiri O., Frenguelli F., et Benincasa P.,** 2017. « Ovary Size in Wheat (*fishes*) Is Related to Cell Number ». *Crop Science* 57 (2): 914-25. <https://doi.org/10.2135/cropsci2016.06.0511>.
- Rémy J.-C., et Hébert J.,** 1977. « Le devenir des engrais dans le sol ». *Compte Rendu de l'Académie d'Agriculture de France* 63: 700-710.
- Rickman R.W., Klepper B. L., et Peterson C. M.,** 1983. « Time distribution for describing appearance of specific culms of winter wheat ». *Agronomy Journal* 75: 551-56.
- Rondanini D. P., Mantese A. I., Savin R., et Hall A. J.,** 2009. « Water content dynamics of achene, pericarp and embryo in sunflower: Associations with achene potential size and dry-down ». *European Journal of Agronomy* 30 (2): 53-62. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2008.07.002>.

- Rosati, A., Caporali S., Hammami S. B. M., Moreno-Alías I., Paoletti A., et Rapoport H. F.,** 2011. « Differences in ovary size among olive (*Olea europaea* L.) cultivars are mainly related to cell number, not to cell size ». *Scientia Horticulturae* 130 (1): 185-90. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.06.035>.
- Rosati A., Zipančić M., Caporali S., et Padula G.,** 2009. « Fruit weight is related to ovary weight in olive (*Olea europaea* L.) ». *Scientia Horticulturae* 122 (3): 399-403. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2009.05.034>.
- Sabelli P. A., et Larkins B. A.,** 2009. « The Development of Endosperm in Grasses ». *Plant Physiology* 149 (1): 14-26. <https://doi.org/10.1104/pp.108.129437>.
- Scott W. R., Appleyard M., Fellowes G., et Kirby E. J. M.,** 1983. « Effect of Genotype and Position in the Ear on Carpel and Grain Growth and Mature Grain Weight of Spring Barley ». *The Journal of Agricultural Science* 100 (2): 383-91. <https://doi.org/10.1017/S0021859600033530>.
- Setter T. L., et Carlton G.,** 2000. « Germination, vegetative and reproductive growth ». In *The wheat book: Principles and practice*, Department of Agriculture and Food, 37-54. Western Australia, Perth: Anderson WK, Garlinge JR.
- Shewry P. R.,** 2009. « Wheat ». *Journal of Experimental Botany* 60 (6): 1537-53. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp058>.
- Shewry P. R., Mitchell R. A. C., Tosi P., Wan Y., Underwood C., Lovegrove A., Freeman J., Toole G. A., Clare Mills E. N., et Ward J. L.,** 2012. « An integrated study of grain development of wheat (cv. Hereward) ». *Journal of Cereal Science*, n° 56: 21-30.
- Shewry P. R., Tatham A. S., Forde J., Kreis M., et Mifflin B. J.,** 1986. « The classification and nomenclature of wheat gluten proteins: A reassessment ». *Journal of Cereal Science* 4 (2): 97-106. [https://doi.org/10.1016/S0733-5210\(86\)80012-1](https://doi.org/10.1016/S0733-5210(86)80012-1).
- Slafer G. A., et Miralles D. J.,** 1992. « Green Area Duration during the Grain Filling Period of an Argentine Wheat Cultivar as Influenced by Sowing Date, Temperature and Sink Strength ». *Journal of Agronomy and Crop Science* 168 (3): 191-200. <https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.1992.tb00998.x>.
- Sofield I., Evans L. T., Cook M. G., et Wardlaw I. F.,** 1977. « Factors Influencing the Rate and Duration of Grain Filling in Wheat ». *Functional Plant Biology* 4 (5): 785-97. <https://doi.org/10.1071/pp9770785>.
- Soltner D.,** 1988. *Les grandes productions végétales*. Collection sciences et techniques agricoles.
- Spilde L. A.,** 1989. « Influence of Seed Size and Test Weight on Several Agronomic Traits of Barley and Hard Red Spring Wheat ». *Journal of Production Agriculture* 2 (2): 169-72. <https://doi.org/10.2134/jpa1989.0169>.
- Surge A., et Barron C.,** 2005. « Histologie du grain de blé ». *Industrie des Céréales* 145: 3-7.
- Sutton M. A., Oenema O., Erisman J. W., Leip A., Grinsven H., et Winiwarter W.,** 2011. « Too Much of a Good Thing ». *Nature* 472 (avril): 159-61. <https://doi.org/10.1038/472159a>.

- Tan G-L., Zhang H., Fu J., Wang Z-Q., Liu L-J., et Yang J-C.,** 2009. « Post-Anthesis Changes in Concentration of Polyamine in Superior and Inferior Spikelets and Their Relationship with Grain Filling of Super Rice ». *Acta Agronomica Sinica* 35 (12): 2225-33. [https://doi.org/10.1016/S1875-2780\(08\)60119-4](https://doi.org/10.1016/S1875-2780(08)60119-4).
- Tashiro T., et Wardlaw I. F.,** 1990. « The Effect of High Temperature at Different Stages of Ripening on Grain Set, Grain Weight and Grain Dimensions in the Semi-Dwarf Wheat 'Banks' ». *Annals of Botany* 65 (1): 51-61. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a087908>.
- Ugarte C., Calderini D. F., et Slafer G. A.,** 2007. « Grain weight and grain number responsiveness to pre-anthesis temperature in wheat, barley and triticale ». *Field Crops Research* 100 (2): 240-48. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2006.07.010>.
- Urruty N., Deveaud T., Guyomard H., et Boiffin J.,** 2016. « Impacts of agricultural land use changes on pesticide use in French agriculture ». *European Journal of Agronomy* 80 (octobre): 113-23. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2016.07.004>.
- Vensel W. H., Tanaka C. K., Cai N., Wong J. H., Buchanan B. B., et Hurkman W. J.,** 2005. « Developmental Changes in the Metabolic Protein Profiles of Wheat Endosperm ». *Proteomics* 5 (6): 1594-1611. <https://doi.org/10.1002/pmic.200401034>.
- Wardlaw I. F., et Willenbrink J.,** 2000. « Mobilization of Fructan Reserves and Changes in Enzyme Activities in Wheat Stems Correlate with Water Stress during Kernel Filling ». *New Phytologist* 148 (3): 413-22. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2000.00777.x>.
- Warrington I. J., Dunstone R. L., et Green L. M.,** 1977. « Temperature Effects at Three Development Stages on the Yield of the Wheat Ear ». *Australian Journal of Agricultural Research* 28 (1): 11-27. <https://doi.org/10.1071/ar9770011>.
- Whingwiri E. E., Kuo J., and Stern W. R.,** 1981. "The Vascular System in the Rachis of a Wheat Ear." *Annals of Botany* 48 (2): 189–202. doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a086113.
- Wiegand C. L., et Cuellar J. A.,** 1981. « Duration of Grain Filling and Kernel Weight of Wheat as Affected by Temperature 1 ». *Crop Science* 21 (1): 95-101. <https://doi.org/10.2135/cropsci1981.0011183X001100010027x>.
- Willenborg C. J., Luschei Ed C., Brule-Babel A. L., and Van Acker R. C.,** 2009. "Crop Genotype and Plant Population Density Impact Flowering Phenology and Synchrony between Cropped and Volunteer Spring Wheat." *Agronomy Journal* 101 (November). doi.org/10.2134/agronj2009.0137.
- Xie Q., Mayes S., et Sparkes D. L.,** 2015. « Carpel Size, Grain Filling, and Morphology Determine Individual Grain Weight in Wheat ». *Journal of Experimental Botany* 66 (21): 6715-30. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv378>.
- Yang J., Zhang J., Liu K., Wang Z., and Liu L.,** 2006. "Abscisic Acid and Ethylene Interact in Wheat Grains in Response to Soil Drying during Grain Filling." *The New Phytologist* 171 (2): 293–303. doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01753.x.
- Yang Z., Oosterom E. J., Jordan D. R., et Hammer G. L.,** 2009. « Pre-anthesis ovary development determines genotypic differences in potential kernel weight in sorghum ». *Journal of Experimental Botany* 60 (4): 1399-1408. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp019>.

Yildirim M., 2013. “The effect of water stress on spikelet position weight variation in wheat.” *Turkish Journal of Field Crops* 18(2), 144-1507.

Zadoks J. C., Chang T. T., et Konzak C. F., 1974. « A decimal code for the growth stages of cereals ». *Weed Research* 14 (6): 415-21. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.1974.tb01084.x>.

Chapitre 2 :
Caractérisation de la
variabilité de la masse sèche
du grain

I Introduction

Ce premier chapitre constitue une étude préliminaire devant nous permettre de préciser à la fois des aspects méthodologiques (expérimentaux et statistiques), mais aussi de sélectionner des génotypes et/ou un traitement expérimental engendrant des distributions différentes de matière sèche finale des grains au sein des épis. Cette étape est nécessaire à l'approfondissement du déterminisme de cette variabilité de distribution dans les chapitres suivants. Pour cela, nous avons choisi d'étudier la distribution de la matière sèche finale des grains de quatre génotypes différents de blé tendre d'hiver en faisant varier, comme facteur de l'environnement, la fertilisation azotée. En effet, cette dernière est non seulement un facteur facilement maîtrisable, mais il est aussi connu pour ses effets sur le poids de mille grains mais surtout sur le nombre de grains par épi (Meynard, 1985).

Le chapitre précédent a permis de souligner que la croissance de l'épi coïncidait avec la phase d'élongation de la tige, entraînant une compétition pour les assimilats nécessaires à leur développement. La compétition entre processus concurrents est au cœur de l'évolution des caractères du blé qui a pu être observée au cours des 60 dernières années. En particulier l'augmentation du rendement au cours de la Révolution Verte a été réalisée principalement via la sélection de variétés plus performantes, pouvant répondre à l'augmentation des apports en azote. Ces nouvelles variétés avaient comme caractère principal une tige plus courte et plus rigide permettant, (i) d'allouer une plus grande quantité d'assimilats pour le développement de l'épi et, (ii) d'augmenter la résistance de la tige face à la verse. Ainsi, au cours des programmes de sélection ultérieurs, le gain de rendement s'est principalement fait via une augmentation du nombre de grains par épi (Slafer et Miralles, 1993; Sadras et Slafer, 2012). Cette augmentation du nombre de grains a été à l'origine d'une forte variabilité du poids individuel des grains (Feng *et al.*, 2018). Cette variabilité peut être associée à deux gradients au sein d'un épi de blé (Fig. 2-1). Le premier, à l'échelle de l'épi (gradient vertical, Fig. 2-1A), montre une distribution parabolique avec plus de grains et de plus gros grains dans les épillets se situant au centre de l'épi par rapport aux épillets se situant plutôt vers la base ou le sommet (Pinthus et Millet, 1978; Li *et al.*, 2016; Feng *et al.*, 2018; Philipp *et al.*, 2018). Le deuxième, à l'échelle d'un épillet (gradient horizontal, Fig. 2-1B), montre que les grains proximaux (les plus proches du rachis) sont plus gros que les grains distaux (les plus éloignés du rachis), et cela quelle que soit la position de l'épillet sur l'épi (Pinthus et Millet, 1978; Miralles et Slafer, 1995; Li *et al.*, 2016; Feng *et al.*, 2018).

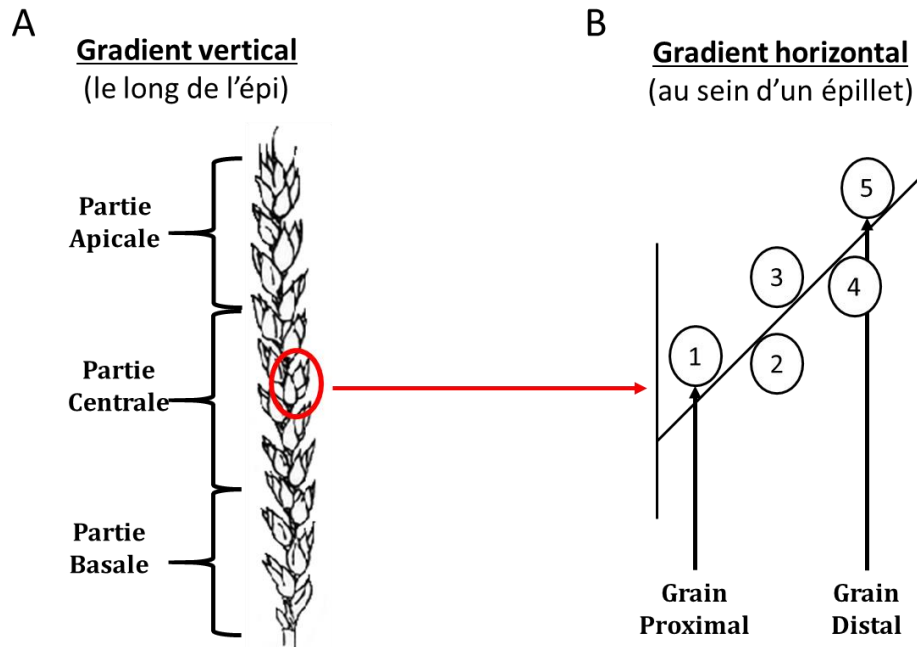


Figure 2-1 : Caractérisation des deux gradients de l'épi de blé. A : Gradient vertical, généralement divisé en plusieurs parties (variable selon le nombre d'épillets par épi et les auteurs) : la partie basale, la partie centrale et la partie apicale ; B : Gradient horizontal, allant du grain proximal (le plus proche de l'axe de l'épi) vers le grain distal (le plus éloigné de l'axe de l'épi).

Comprendre le déterminisme variétal et environnemental de cette hétérogénéité permettrait de concevoir de nouveaux génotypes, en particulier si elle est une source de réponse différentielle à des stress abiotiques pendant la phase de remplissage des grains.

Malgré cela, très peu d'études ont analysé l'effet variétal et environnemental sur la distribution de la matière sèche finale des grains au sein de l'épi. Des distributions différentes du nombre de grains et de la matière sèche individuelle des grains par épillet ont été mises en évidence pour quatre variétés de blé tendre (Pinthus et Millet, 1978). En comparant deux variétés anciennes et deux variétés modernes, Feng *et al.* (2018) ont montré, que la fréquence de présence des trois premiers grains et la matière sèche totale des quatre premiers grains au sein des épillets situés au centre et à la base de l'épi ont été augmentées depuis les années 50. Un effet un peu différent a été souligné par Philipp *et al.* (2018), qui, en comparant 210 variétés élites à 180 ressources génétiques, ont montré que la matière sèche et le nombre de grains par épillet ont augmenté de manière homogène tout le long de l'épi. Cette apparente contradiction présente dans les quelques études disponibles dans la littérature justifie, à notre sens, un approfondissement de la

compréhension de la variabilité génétique associée à la variabilité de la taille des grains au sein de l'épi.

Au-delà de la composante variétale, il est évident que la variabilité de la taille des grains au sein de l'épi est aussi fortement affectée par les variables environnementales. En premier lieu, les effets de la densité du couvert ont été investigués et ont montré que l'augmentation de la densité diminuait le nombre et le poids des grains des épillets localisés dans la partie basale de l'épi, les parties centrale et apicale n'étant pas impactées. De plus, un effet d'interaction entre la densité et les variétés a été mis en évidence, à savoir que la variété ayant relativement peu de talles était plus sensible aux effets de la densité sur les distributions du nombre et de la matière sèche des grains, qu'une variété ayant un nombre de talles plus élevée (Li *et al.*, 2016). L'effet d'un stress hydrique a également été mis en évidence, montrant que les variétés sensibles à la sécheresse maintenaient une quantité de matière sèche de grain semblable aux variétés tolérantes dans les épillets localisés au sein de la partie centrale de l'épi. La quantité de matière sèche des grains situés dans les parties basale et apicale était cependant plus faible pour les variétés sensibles (Yildirim, 2013). Enfin, en étudiant chacun des grains individuels des quatre épillets centraux de deux variétés, Calderini *et al.* (1999) ont montré qu'une augmentation des températures avant anthèse avait un impact sur le poids des ovaires à floraison, entraînant une diminution du poids final des grains plus forte pour les grains distaux (les plus éloignés du rachis), que pour les grains proximaux (les plus proches du rachis). Ainsi, ces quelques éléments bibliographiques disparates suggèrent que, (i) la sélection variétale a pu, en augmentant le nombre de grains par épi, entraîner des modifications de la distribution de la matière sèche totale des grains par épillet le long de l'épi, et (ii) des fluctuations environnementales affectent de manière prioritaire la masse sèche finale des grains situés dans les parties apicales et basales. Malgré l'importance du rôle de l'azote dans l'élaboration du nombre de grains par épi et donc potentiellement sur la variabilité de la masse finale des grains (Feng *et al.*, 2018), aucune étude n'a, à notre connaissance, porté sur les effets d'interaction entre les variétés et l'apport d'azote sur la distribution de la matière sèche totale des grains par épillet au sein de l'épi.

Ainsi, l'objectif de ce chapitre est d'étudier la distribution de la matière sèche totale des grains, en fonction de deux facteurs : l'apport d'azote et les variétés. L'effet de ces deux facteurs sur la distribution de la matière sèche totale des grains a été analysé selon deux composantes : le nombre de grains et la matière sèche moyenne des grains par épillet. Cette étude a d'abord été

effectuée à l'échelle de l'épi (Fig. 2-1A), puis à l'échelle de l'épillet (Fig. 2-1B). Pour cela, quatre variétés de blé tendre, se différenciant par leurs composantes de rendement, ont été cultivées en plein champ avec deux niveaux de fertilisation azotée. Des épis prélevés à maturité ont permis de décrire la distribution des grains en fonction de la position des épillets au sein de l'épi.

II Matériels et méthodes

II.1 Matériel génétique et conception expérimentale

Pour cette étude quatre variétés de blé tendre d'hiver ont été utilisées : Apache, Hendrix, Renan et Scherzo. Inscrite au catalogue depuis 1997, Apache est une variété précoce qui a été très cultivée nationalement. Renan et Skerzzo sont des variétés dérogeant à la relation négative rendement en grain / concentration en protéines (GPD, Monaghan *et al.*, 2001; Oury et Godin 2007). Enfin, tout comme la variété Skerzzo, Hendrix est une variété barbue, nouvellement inscrite au catalogue (Annexe T2-1).

L'expérimentation a été conduite au champ durant la saison 2013-2014 à Clermont-Ferrand en France (45°78' N, 3°08' E, altitude 401 m). Le site expérimental présentait un sol argilo-limoneux calcaire avec une capacité d'échange cationique élevée (264 meq.kg⁻¹) et un pH alcalin (8.29). Le reliquat à la sortie de l'hiver (mesuré le 10 janvier 2014) était de 72 kgN.ha⁻¹ dans les 90 premiers cm. Les conditions climatiques ont été suivies tout au long de la période d'étude grâce à une station météorologique située à environ 1km du site. Une augmentation d'environ 4°C des températures moyennes est observée du stade « épi 1 cm » au stade « floraison ». Quant aux précipitations, elles n'ont pas dépassé les 5 mm, ce qui a pu être à l'origine d'un stress hydrique.

L'essai comportait 32 micro-parcelles mesurant chacune 4.8 m de long et contenant huit rangs espacés de 0.16 cm. Ces micro-parcelles étaient réparties en deux blocs adjacents correspondant chacun à un traitement azoté. Le premier traitement (Low Nitrogen, LN) est considéré comme « traitement témoin » puisqu'aucun apport d'azote n'a été effectué, contrairement au traitement optimal (High Nitrogen, HN) où trois apports d'azote (au total 120 kg N.ha⁻¹ sous forme d'ammonitrate) ont été effectués (Annexe F2-1). Le premier apport a été appliqué à la sortie de l'hiver (40 kg N.ha⁻¹, le 24 février 2014), le deuxième au stade « épi 1 cm » (40 kg N.ha⁻¹, le 27 mars 2014) et le dernier apport a été effectué lors de l'apparition de la dernière feuille ligulée (40 kg N.ha⁻¹, le 24 avril 2014). Au sein de chaque traitement, les variétés étaient réparties de façon aléatoire au sein des quatre blocs de répétitions.

Le blé a été semé en Novembre 2013 et récolté en Juillet 2014. Trois cent kilogrammes d'engrais (20% P₂O₅ et 30% K₂O) ont été apportés sur la parcelle avant le semis. De plus, la parcelle a été désherbée un peu avant le stade « épi 1 cm » à l'aide de 75 g.ha⁻¹ de Presite® SX® et 30 g.ha⁻¹ de Gratil®. Les insectes et les maladies ont été contrôlés lors de l'épiaison à l'aide d'un traitement fongicide (3 L.ha⁻¹ d'Osiris® Win) et d'un traitement insecticide (3 L.ha⁻¹ de PROTEUS®).

II.2 Echantillonnage et mesures effectuées

Sur chacun des deux rangs centraux des micro-parcelles, deux prélèvements (chacun de 50 cm) ont été récoltés à maturité. A partir de ces prélèvements, le nombre d'épis par plante, le nombre d'épis par m², le nombre de grains par m², le poids de mille grains (après passage des grains à l'étuve pendant 48h à 80°C) et le rendement ont été mesurés.

Sur un troisième rang central de chacune des micro-parcelles, un prélèvement de 25 cm a été effectué afin d'étudier la distribution spatiale des grains au sein de l'épi. Pour cela, deux plantes composées d'un même nombre de talles, et représentatives du prélèvement, ont été gardées (soit 8 plantes par traitement et par variété). Les grains des différents brin-maitres ont été numérotés selon leur position au sein de chacun des épis (épillet numéroté de la base vers le sommet de l'épi, et grain au sein de chaque épillet numéroté comme indiqué sur la Figure 2-1B), puis séchés à 60°C pendant 48h. La matière sèche individuelle des grains a été déterminée à l'aide d'une balance de précision (Précision, 0.001 mg, Mettler-Toledo AX205 DR, Switzerland).

II.3 Analyses statistiques

Une analyse de la variance a été effectuée pour étudier les effets des variétés, des apports en azote, et leur interaction sur le rendement et les composantes de rendement. Pour cela le modèle mixte suivant a été utilisé :

$$Y_{ijk} = \mu + V_i + T_j + V_i \times T_j + r_k \times T_j + r_k \times V_i \times T_j + \epsilon_{ijk} \text{ (Eq. 1)}$$

Où Y_{ijk} est la valeur de la variable pour la variété i dans le traitement j et la répétition k . μ est la moyenne générale, V_i est le premier facteur fixe représentant la variété, T_j est le deuxième facteur fixe représentant les traitements en azote, r_k est un facteur aléatoire représentant les répétitions

hiérarchisées au traitement et ϵ_{ijk} est l'erreur résiduelle. Après chacune des analyses, des tests de comparaisons multiples de moyennes (Newmann-Keuls) ont été effectués au seuil 5%.

Dans un premier temps, la distribution des grains a été étudiée le long de l'axe vertical de l'épi selon trois principales composantes : la matière sèche totale des grains par épillet, le nombre total de grains par épillet et la matière sèche moyenne des grains par épillet. La valeur de ces composantes a été calculée par épillet pour chacun des huit épis. Une première analyse de la variance a été effectuée sur la matière sèche totale des grains afin de tester l'interaction entre les traitements et la position des épillets au sein de l'épi. Puis, des analyses de la variance sur les trois composantes ont été effectuées par épillet afin de tester l'effet des traitements. Un simple modèle mixte à un facteur fixe a été utilisé et est présenté en équation 2. Une correction de Bonferroni a été appliquée sur le seuil de risque de première espèce pour tenir compte des tests multiples.

$$Y_{jkl} = \mu + T_j + r_k \times T_j + \epsilon_{jkl} \text{ (Eq. 2)}$$

Où Y_{jkl} est la valeur de la variable pour le traitement j , la répétition k et la plante l . μ est la moyenne générale, T_j est le facteur fixe représentant les traitements en azote, r_k est un facteur aléatoire représentant les répétitions et ϵ_{jkl} est l'erreur résiduelle. Après chacune des analyses, des tests de comparaison multiple de moyennes (Newmann-Keuls) ont été effectués au seuil 5%.

Puis, pour permettre la comparaison entre les variétés de la distribution de la matière sèche totale et moyenne par épillet ainsi que celle du nombre de grains, la position des épillets a été standardisée (de 1, le premier épillet observé à la base de l'épi, à 100, le dernier épillet observé au sommet de l'épi) pour chacun des 32 épis étudiés (8 répétitions \times 4 variétés) (Eq. 3). A partir de cette standardisation, une valeur moyenne de la matière sèche et du nombre de grains a été calculée.

$$SP_{stdi} = \frac{SP_i \times 100}{N_{\text{éto}}t} \text{ (Eq. 3)}$$

Où SP_{stdi} est la position standardisée de l'épillet i , SP_i est la position réelle de l'épillet i au sein de l'épi, et $N_{\text{éto}}t$ est le nombre total d'épillets de l'épi.

Dans un deuxième temps, les distributions du nombre de grains et la matière sèche moyenne des grains individuels ont été étudiées selon le gradient horizontal de l'épi, c'est-à-dire

selon la position des grains au sein de chacun des épillets. Plusieurs études ne montrant aucune différence de matière sèche finale entre les deux grains proximaux (les plus proches du rachis) au sein des épillets (Feng *et al.*, 2018; Baillot *et al.*, 2018), il a été décidé d'étudier ces deux grains proximaux ensemble, ainsi que de regrouper les deux grains distaux (les plus éloignés du rachis).

La contribution de la matière sèche moyenne des grains (GWC) et celle du nombre total de grains (GNC) au poids total de l'épillet a été calculée pour chaque position de l'épillet selon la méthode de décomposition proposée par Moll *et al.* (1982) :

$$\text{GWC} = (r_{y,x_{gw}}) * S_{x_{gw}} / S_y \text{ (Eq.4)}$$

$$\text{GNC} = (r_{y,x_{gn}}) * S_{x_{gn}} / S_y \text{ (Eq. 5)}$$

Où $r_{y,x_{gw}}$ et $r_{y,x_{gn}}$ sont les coefficients de corrélation entre y , le logarithme de la matière sèche totale des grains par épillet, et x_{gw} , le logarithme de la matière sèche moyenne d'un grain par épillet ou x_{gn} , le logarithme du nombre total de grains par épillet. $S_{x_{gw}}$, $S_{x_{gn}}$ et S_y sont les écarts types pour les logarithmes de la matière sèche moyenne des grains, le nombre total de grains et la matière sèche totale des grains par épillet, respectivement.

Toutes les analyses statistiques ont été effectuées en utilisant l'environnement statistique R v3.4.1 (R Core Team, 2017).

III Résultats

III.1 Analyse du rendement et des composantes selon les quatre variétés de blé et les deux niveaux d'apports azotés

Les quatre variétés de blé ont été choisies dans cette expérimentation au champ pour représenter une gamme de variation importante en termes de composantes du rendement. Les deux traitements azotés avaient de plus pour principal objectif d'impacter ces composantes de rendement pour chaque variété. Une analyse de la variance a été effectuée afin de tester les effets des facteurs variété et traitement ainsi que leur interaction sur les composantes du rendement. Les résultats ainsi que les valeurs moyennes pour les quatre variétés et les deux niveaux d'azote sont présentés dans les Tableaux 2-1 et 2-2.

Le rendement de la variété Apache est 49% plus élevé que celui de la variété Renan, et 23% supérieur à celui de la variété Skerzzo. Ce résultat est principalement expliqué par un plus grand nombre de grains par m² (61% et 22%, respectivement). Pour la variété Skerzzo, le faible nombre de grains par m² est expliqué par un plus faible nombre d'épis par m². Pour la variété Renan, ce résultat est expliqué par un plus faible nombre de grains par épi, lui-même expliqué par un faible nombre d'épillets par épi. Cependant, il est important de noter que la variété Renan présente des valeurs de PMG supérieures aux trois autres variétés, même si cela ne compense pas le nombre de grains plus faible (Tableau 2-2).

L'apport de 120 kgN.ha⁻¹ a permis d'augmenter le rendement, le nombre de grains par m² et par épi de 56%, 61% et 36%, respectivement pour les quatre variétés confondues. Il n'a cependant pas impacté le nombre d'épillets par épi, mais a eu un impact négatif sur le PMG (Tableaux 2-1 et 2-2). Un effet d'interaction entre les variétés et l'azote apporté est toutefois à noter pour le PMG, expliqué par la variété Hendrix qui montre une forte différence de PMG entre les deux doses d'azote (Tableau 2-2). Les interactions pour les autres variables ne sont pas significatives.

Tableau 2-1 : Effet de la variété, du traitement azoté et de leur interaction sur le rendement et les composantes du rendement mesurés dans une expérimentation au champ conduite à Clermont-Ferrand en 2014. Les ANOVAs ont été effectuées en considérant 8 répétitions. L'interaction V×T du test F de chaque ANOVA est présentée. Les valeurs moyennes suivies d'une même lettre au sein d'une ligne pour chaque facteur ne sont significativement pas différentes (au seuil 5%) selon le test post-hoc de Newman-Keuls. NE/m² = nombre d'épis par m², Né/E = nombre d'épillets par épi, Né/m² = nombre d'épillets par m², NG/é = nombre de grains par épillet, NG/E = nombre de grains par épi, NG/m² = nombre de grains par m², MS/E = matière sèche moyenne par épi (mg). HN = Fort niveau d'azote ; LN = Faible niveau d'azote.

	V×T	Variété (V)				Traitement (T)	
	F(test)	Apache	Hendrix	Renan	Skerzzo	LN	HN
NE/m²	ns	442 ^a	381 ^{ab}	380 ^{ab}	364 ^b	332 ^b	452 ^a
Né/E	ns	18.8 ^a	18.3 ^a	16.4 ^b	18.4 ^a	18.0 ^a	18.0 ^a
Né/m²	ns	8 274 ^a	6 961 ^b	6 204 ^b	6 704 ^b	5 972 ^b	8 100 ^a
NG/é	ns	2.1 ^a	1.9 ^{ab}	1.7 ^b	1.9 ^{ab}	1.7 ^b	2.1 ^a
NG/E	ns	41 ^a	37 ^a	29 ^b	36 ^a	31 ^b	40 ^a
NG/m²	ns	13 597 ^a	12 090 ^{ab}	8 468 ^c	11 112 ^b	8 683 ^b	13 950 ^a
MS/E (mg)	ns	1 778 ^a	1 623 ^{ab}	1 453 ^b	1 567 ^{ab}	1 401 ^b	1 806 ^a
Rendement (t.ha⁻¹)	ns	5.57 ^a	4.99 ^{ab}	4.01 ^b	4.52 ^b	3.73 ^b	5.81 ^a

Tableau 2-2 : Interaction entre les variétés et les traitements sur le PMG mesuré dans une expérimentation au champ conduite à Clermont-Ferrand en 2014. Les ANOVAs ont été effectuées à partir de 8 répétitions. Les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont significativement pas différentes (au seuil 5%) selon le test post-hoc de Newman-Keuls. PMG = Poids de Mille Grains (g). HN = Fort niveau d’azote ; LN = Faible niveau d’azote.

PMG (g)	Variété			
	Apache	Hendrix	Renan	Skerzzo
HN	40.8 ^c	40.1 ^c	47.2 ^a	40.5 ^c
LN	41.2 ^c	43.1 ^b	47.6 ^a	41.2 ^c

Afin de mesurer l’effet de l’apport d’azote sur la relation sources-puits au sein de l’épi, la relation entre la matière sèche totale des grains au sein d’un épillet (moyennée sur 64 épis), et le nombre d’épillets par m², a été étudiée (Fig. 2-2). Une corrélation significative et positive ($r = 0.83$ et $p < 0.01$) est montrée entre ces deux variables. Cependant cette corrélation est induite par le niveau d’azote. En effet au sein de chaque traitement, il n’existe pas de corrélation significative entre les deux variables ($r = 0.52$ et $p = 0.48$ pour le traitement LN, $r = 0.11$ et $p = 0.89$ pour le traitement HN). Ainsi, à même nombre d’épillets par m², plus de matière sèche est disponible par épillet en condition HN qu'en condition LN.

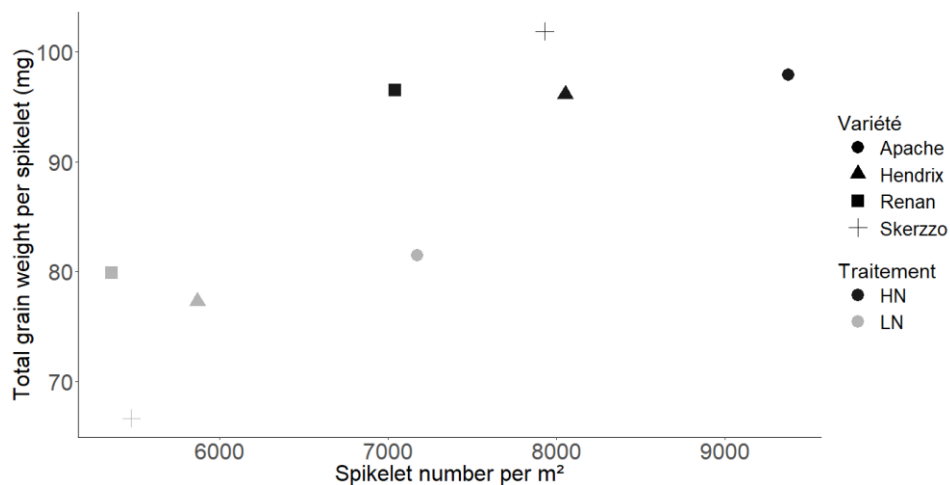


Figure 2-2 : Relation entre le poids total de grain par épillet et le nombre d’épillets par m². Chaque point est la moyenne de 64 épis.

III.2 Distribution de la matière sèche totale des grains par épillet au sein de l'épi selon les deux niveaux d'azote

L'apport de 120 kgN.ha⁻¹ n'a pas impacté le nombre d'épillets par épi toutes variétés confondues (Tableau 2-1). Cependant, les variétés ayant des nombres d'épillets par épi significativement différents, l'effet de l'apport en azote sur la distribution de la matière sèche totale par épillet des grains a été étudié pour chacune d'entre elles (Tableau 2-1).

Dans un premier temps, et pour chacune des quatre variétés, la distribution de la matière sèche totale des grains a été étudiée par épillet, c'est-à-dire en se focalisant sur le gradient vertical de l'épi. Elle a ensuite été divisée en deux composantes : le nombre total de grains par épillet et la matière sèche moyenne des grains par épillet. Pour chacune des quatre variétés, une analyse de la variance a été effectuée par épillet afin de tester l'effet d'un apport d'azote sur la distribution de chacune de ces trois variables. Dans un deuxième temps, le nombre de grains ainsi que la matière sèche individuelle des grains ont été étudiés selon le gradient horizontal, c'est-à-dire selon la position des grains au sein de chacun des épillets.

III.2.1 Distribution de la matière sèche totale des grains par épillet selon le gradient vertical de l'épi

Afin d'étudier l'effet d'un apport en azote sur la forme de distribution de la matière sèche totale des grains par épillet, une première analyse de la variance a été effectuée par variété pour détecter une interaction entre les traitements et la position des épillets au sein de l'épi. Une interaction significative a été mise en évidence pour les variétés Apache, Renan et Skerzzo ($p = 0.0001$, $p = 0.0052$ et $p = 0.0288$, respectivement), montrant un effet de l'apport d'azote sur la forme de la distribution de la matière sèche totale des grains par épillet. Le Tableau 2-3 montre les gammes de variation de la valeur maximale de la matière sèche totale des grains par épillet. Ces gammes de variations ont été déterminées à l'aide d'un test post-hoc de Newman-Keuls, Pour les variétés Hendrix et Renan, l'apport d'azote déplace sensiblement vers la partie basale la position de l'épillet (P_{\max}) contenant la matière sèche maximale. De plus, pour les variétés Apache, Hendrix et Skerzzo, la fertilisation azotée décale également la gamme de variation (N_{\max}) vers la base de l'épi (Tableau 2-3). En revanche, quels que soient les facteurs étudiés (traitements azotés ou variétés), les épillets les plus lourds sont localisés au centre de l'épi (Fig. 2-3).

Tableau 2-3 : Gammes de variation de la masse sèche totale des grains pour les quatre variétés et les deux traitements. Ces gammes de variations ont été déterminées à partir d'un test post-hoc de Newman-Keuls au seuil 5%, regroupant tous les épillets pour lesquels la matière sèche maximale n'était pas différente. Né/E = nombre total d'épillets par épi. Pé_{max} = position moyenne de l'épillet contenant la matière sèche totale la plus élevée. MS_{max} = Gamme de variation des valeurs de la matière sèche totale considérée comme maximale. Né_{max} = position des épillets correspondant à l'étendue de la matière sèche maximale. HN = Fort niveau d'azote, LN = Faible niveau d'azote. La position des épillets est notée à partir de la base jusqu'au sommet de l'épi.

Variété	Né/E	Traitement	Pé _{max}	Gamme de variation MS _{max} (mg)	Gamme de variation Né _{max} (épillets)
Apache	21	LN	10	117-142	7-14
		HN	10	147-168	6-12
Hendrix	20	LN	10	100-134	7-14
		HN	7	117-150	5-15
Renan	18	LN	9	100-134	6-11 ;13
		HN	7	129-150	7-12
Skerzzo	20	LN	10	91-123	7-14
		HN	10	128-166	6-14

Afin d'étudier l'effet des traitements sur la distribution de la matière sèche totale des grains contenus dans chacun des épillets constitutifs de l'épi, une analyse de la variance a été effectuée par épillet pour chacune des variétés. La Figure 2-3 compare, pour chacune des variétés, la distribution de la matière sèche totale des grains par épillet pour les deux niveaux d'azote.

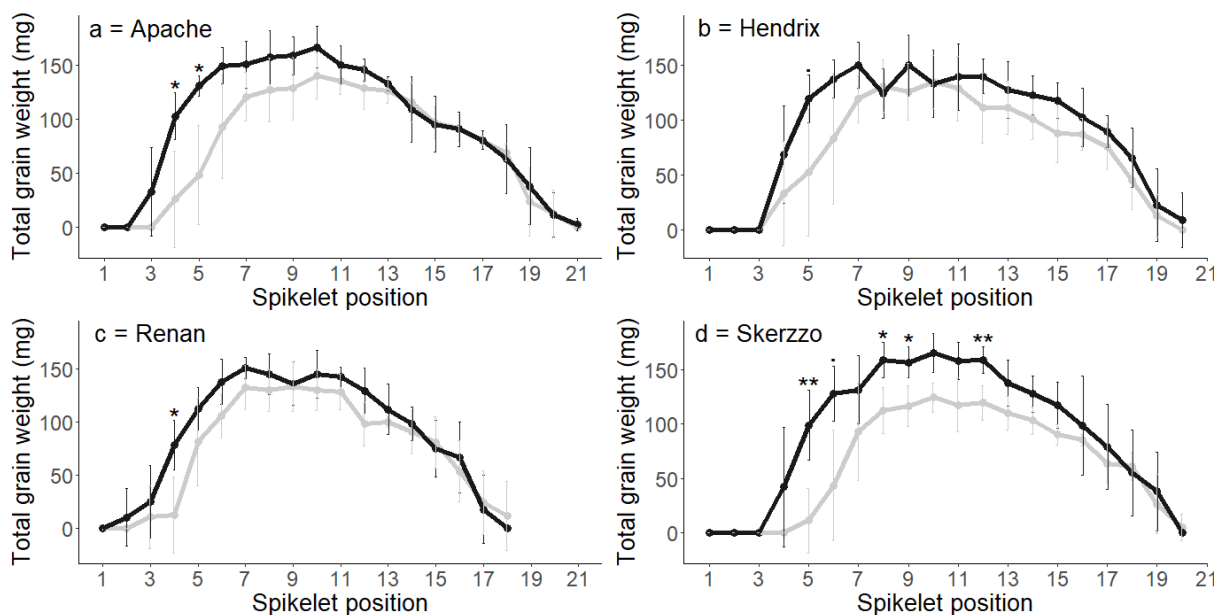


Figure 2-3 : Distribution de la matière sèche totale des grains le long de l'épi pour chaque variété et pour les deux traitements. La position des épillets au sein de l'épi est numérotée de la base vers le sommet. Pour chaque variété, 8 épis par traitement ont été observés. Noir = fort niveau d'azote, gris = faible niveau d'azote. Les barres verticales représentent les écarts-types. Les différences significatives entre traitements sont indiquées par : P < 0.1 ; * P < 0.05 ; ** P < 0.01.

Pour chacune des variétés, un effet du traitement azoté est à noter au niveau des épillets 4 à 6, correspondant aux épillets se situant dans la partie basale de l'épi (Fig. 2-3). Un second effet significatif des traitements est observé pour les épillets 8, 9 et 12 de la variété Skerzzo, c'est-à-dire pour les épillets localisés au sein de la partie centrale de l'épi (Fig. 2-3d). De plus, quelle que soit la variété étudiée, l'apport en azote n'a pas influencé la matière sèche des épillets les plus basaux (1 à 3), ni ceux localisés au-delà du 13^{ème} épillet.

Ainsi, l'apport d'azote n'a pas modifié significativement la quantité de matière sèche totale dans les épillets centraux (les plus lourds quel que soit le traitement) mais une plus grande quantité de matière sèche totale des grains contenus dans les épillets 4 à 6 est observée pour les épis issus du traitement HN (Fig. 2-3). Cette augmentation de masse sèche totale dans ces épillets peut être liée soit à une augmentation du nombre de grains soit à une augmentation de la masse sèche finale des grains individuels à nombre de grains constant.

III.2.2 Distribution du nombre total de grains et de la matière sèche moyenne des grains par épillet selon le gradient vertical de l'épi

La matière sèche totale des grains au sein d'un épillet peut être étudiée selon deux composantes : le nombre total de grains présents et la matière sèche des grains individuels. Pour les quatre variétés et les deux traitements, une répartition hétérogène de ces deux composantes est montrée le long de l'épi, leur maximum étant observé dans les épillets situés au centre de l'épi (Fig. 2-4 et 2-5). Pour chaque variété, une analyse de la variance a été effectuée par épillet afin d'étudier l'effet de l'apport en azote sur ces deux composantes.

La Figure 2-4 représente pour chaque variété, la distribution du nombre total de grains par épillet selon les deux niveaux d'azote. Quelle que soit la variété, un effet significatif (au seuil 5%) des traitements est à noter pour les épillets 4 et/ou 5, c'est-à-dire au sein des épillets situés dans la partie basale de l'épi (Fig. 2-4). De plus, pour les variétés Renan et Skerzso, un effet significatif est observé pour les épillets 12 et 9, respectivement (Fig. 2-4).

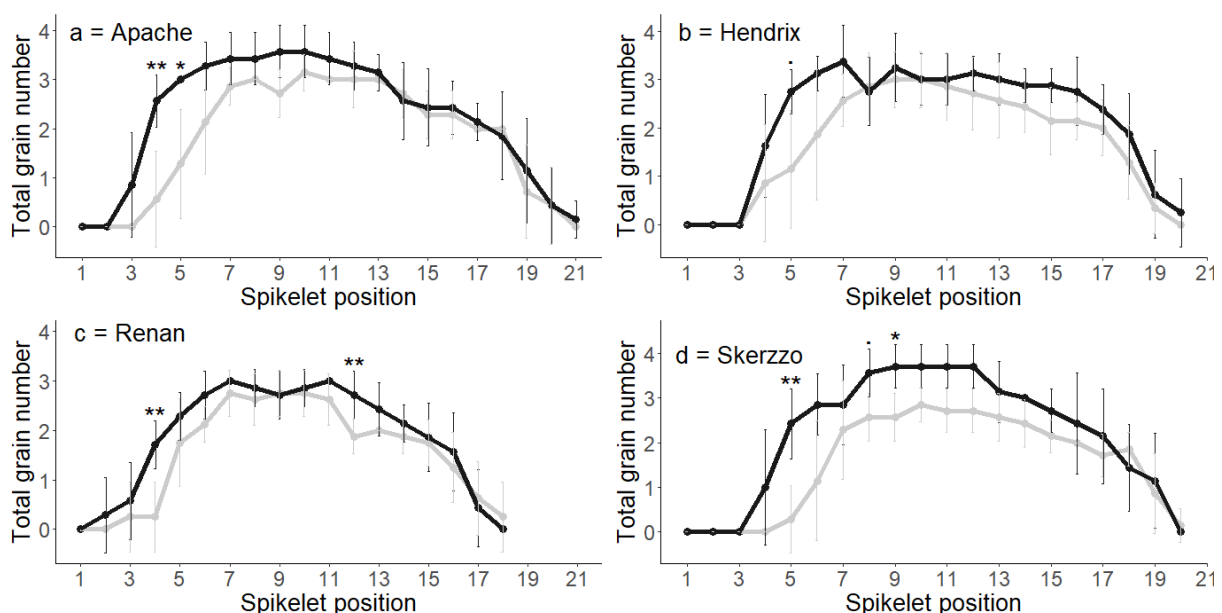


Figure 2-4 : Distribution du nombre total de grains le long de l'épi pour chaque variété et pour les deux traitements. La position des épillets au sein de l'épi est numérotée de la base vers le sommet. Pour chaque variété, 8 répétitions par traitement ont été observées. Noir = fort niveau d'azote, gris = faible niveau d'azote. Les barres verticales représentent les écarts-types. Les différences significatives entre traitements sont indiquées par : . P < 0.1 ; * P < 0.05 ; ** P < 0.01.

Concernant la distribution de la matière sèche moyenne des grains par épillet, un effet significatif des traitements (au seuil de 5%), est observé au sein de l'épillet 4 et 5 pour les variétés Renan et Skerzso, respectivement (Fig. 2-5).

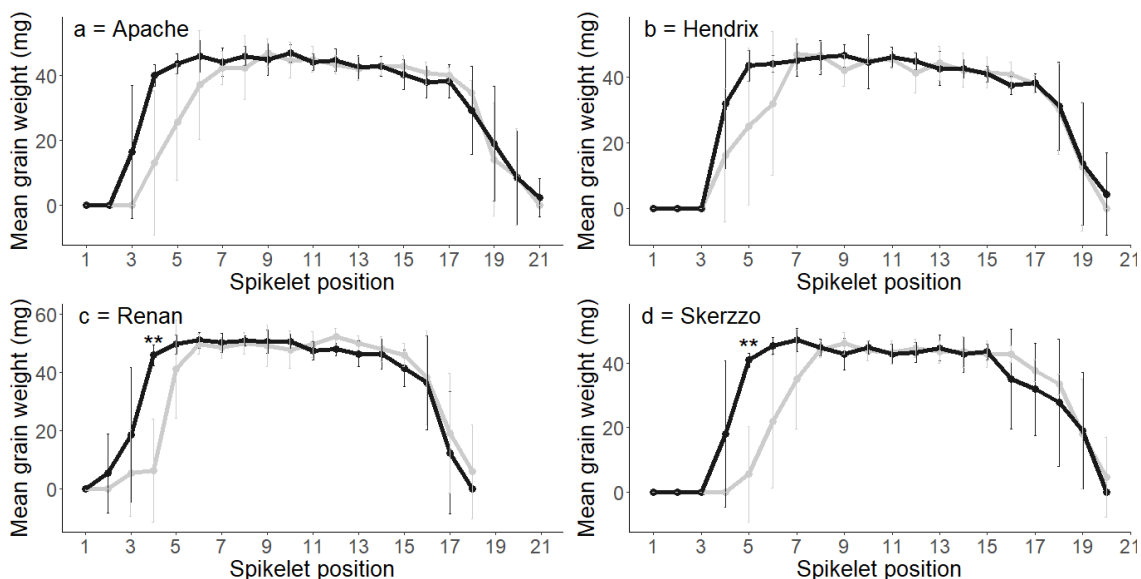


Figure 2-5 : Distribution de la matière sèche moyenne des grains le long de l'épi pour chaque variété et pour les deux traitements. La position des épillets au sein de l'épi est numérotée de la base vers le sommet. Pour chaque variété, 8 répétitions par traitement ont été observées. Noir = fort niveau d'azote, gris = faible niveau d'azote. Les barres verticales représentent les écarts-types. Les différences significatives entre traitements sont indiquées par : ** P < 0.01.

Ainsi, selon les variétés étudiées, un plus grand nombre de grains est observé au sein des épillets 4 et 5 du traitement HN (Fig. 2-4). De plus, la matière sèche moyenne des grains par épillet du traitement HN est plus élevée pour les épillets 4 et 5 des variétés Renan et Skerzso, respectivement (Fig. 2-5c et 2-5d). En revanche, aucune différence significative du nombre de grains et de la matière sèche moyenne des grains contenus dans les épillets 1 à 3, ni au-delà de l'épillet numéro 13 n'est observée.

Les Figures 2-6 et 2-7 représentent, pour chaque variété, la différence par épillet entre les deux niveaux d'azote, du nombre total de grains (Fig. 2-6), et de la matière sèche moyenne des grains (Fig. 2-7). Ainsi, bien que des différences significatives soient observées dans la partie centrale de l'épi, les plus grandes différences de nombre total de grains et de matière sèche moyenne d'un grain par épillet sont observées entre les épillets 4 et 6, c'est-à-dire dans la partie basale de l'épi (Fig. 2-6 et 2-7).

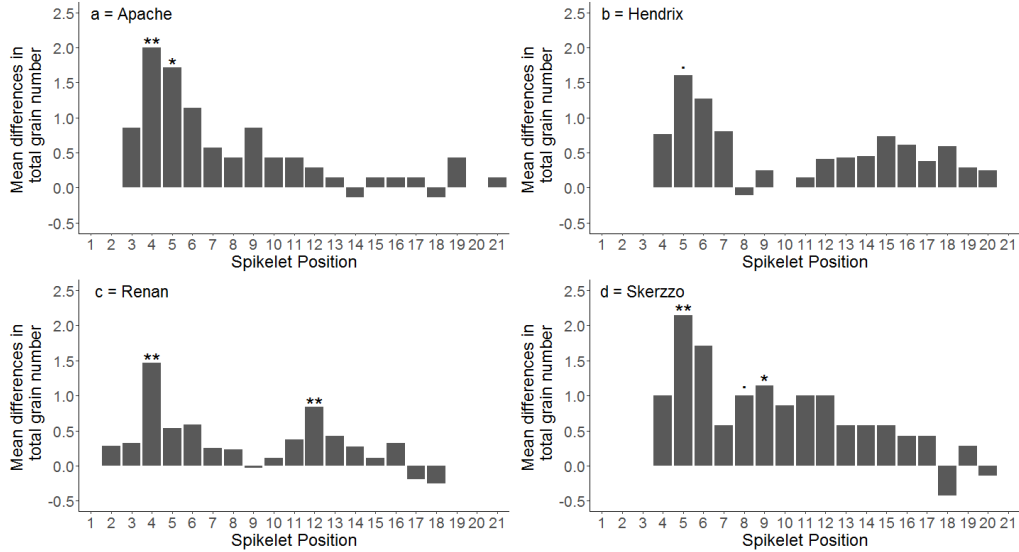


Figure 2-6 : Distribution, par variété, des différences moyennes entre les traitements HN et LN pour le nombre total de grains le long de l'épi. La position des épillets au sein de l'épi est numérotée de la base vers le sommet. Pour chaque variété, 8 répétitions par traitement ont été observés.

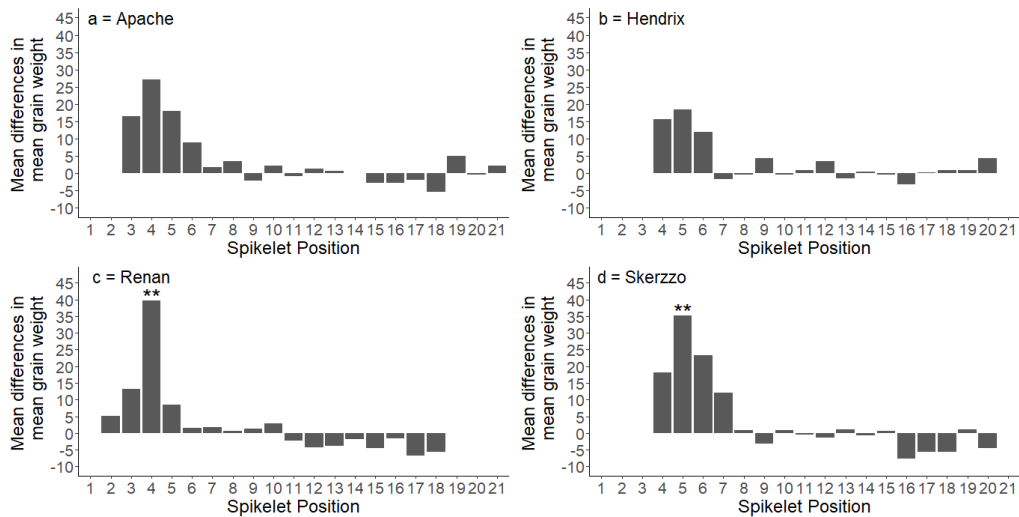


Figure 2-7 : Distribution, par variété, des différences moyennes entre les traitements HN et LN pour le poids moyen des grains le long de l'épi. La position des épillets au sein de l'épi est numérotée de la base vers le sommet. Pour chaque variété, 8 répétitions par traitement ont été observés.

Les contributions relatives de ces deux composantes ont été calculées afin de déterminer laquelle contribue le plus aux différences de distribution de la matière sèche totale des grains par

épillet, observées entre les deux niveaux d'azote. La somme des contributions doit être égale à 1, et une valeur négative indique une corrélation négative entre la composante et la variable (Moll *et al.*, 1982), ici la matière sèche totale des grains par épillet. Ces contributions sont relativement identiques le long de l'épi, et les différences de matière sèche totale des grains contenus dans un épillet sont principalement causées par une différence de nombre de grains plutôt que par une différence de matière sèche moyenne des grains (Tableau 2-4).

Tableau 2-4 : Contribution relative du nombre et de la matière sèche des grains, à la matière sèche totale des grains par épillet. Seuls les épillets montrant une différence significative de la matière sèche totale des grains entre les deux traitements sont présentés. La position des épillets au sein de l'épi est numérotée de la base vers le sommet.

Position de l'épillet	Contribution du nombre de grains	Contribution de la matière sèche des grains
4	1.01	-0.01
5	0.98	0.02
6	0.95	0.05
8	0.86	0.14
9	1.05	-0.05
12	0.99	0.01

III.2.3 Distribution de la matière sèche individuelle des grains par épillet selon le gradient horizontal de l'épi

Plusieurs études ne montrant aucune différence de matière sèche finale entre les deux grains proximaux (les plus proches du rachis) au sein des épillets (Feng *et al.*, 2018; Baillot *et al.*, 2018), l'analyse suivante est basée sur le regroupement par épillet, des deux grains proximaux d'une part, et d'autre part, des deux grains les plus éloignés du rachis (grains distaux).

Quels que soient le niveau d'azote ou la position des grains au sein d'un épillet, le nombre et la matière sèche des grains proximaux et distaux augmentent de la partie basale de l'épi vers la partie centrale, puis diminuent vers la partie apicale (Fig. 2-8 et 2-9). Il est important de souligner la présence systématique des deux grains proximaux des épillets situés dans la partie centrale de l'épi, quel que soit le niveau d'azote étudié. Ainsi, l'augmentation de l'apport d'azote pourrait

avoir un effet seulement sur la présence des deux grains proximaux des épillets localisés dans les parties basale et apicale de l'épi. En effet, pour les quatre variétés étudiées, les deux grains proximaux sont plus nombreux et plus lourds dans la partie basale de l'épi (entre les épillets 4 et 6) pour le traitement HN, alors que leur nombre et leur matière sèche sont identiques pour les deux traitements dans les parties centrale et apicale de l'épi (Fig. 2-8 et 2-9).

Les deux grains distaux sont plus nombreux et plus lourds dans les épillets localisés dans la partie centrale de l'épi pour le traitement HN que pour le traitement LN (Fig. 2-8 et 2-9).

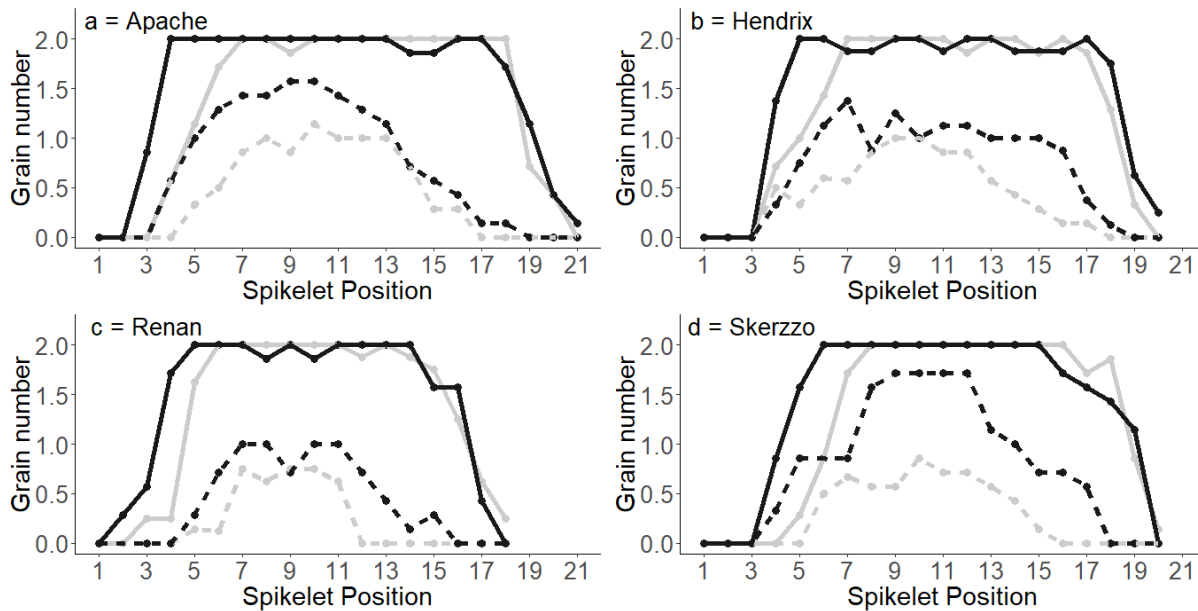


Figure 2-8 : Distribution du nombre moyen de grains le long de l'épi pour chaque variété et pour les deux traitements. La position des épillets au sein de l'épi est numérotée de la base vers le sommet. Pour chaque variété, 8 répétitions par traitement ont été observées. Noir = fort niveau d'azote ; gris = faible niveau d'azote. Ligne continue = somme des grains proximaux 1 et 2 ; ligne discontinue = somme des grains distaux 3 et 4.

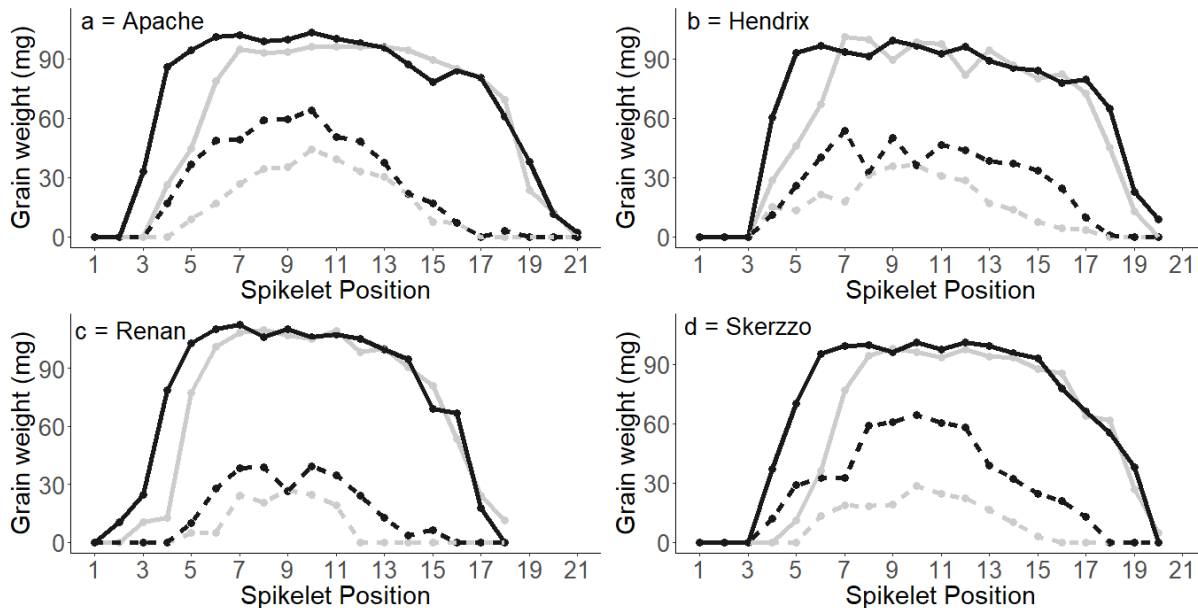


Figure 2-9 : Distribution de la matière sèche moyenne le long de l'épi pour chaque variété et pour les deux traitements. La position des épillets au sein de l'épi est numérotée de la base vers le sommet. Pour chaque variété, 8 répétitions par traitement ont été observées. Noir = fort niveau d'azote ; gris = faible niveau d'azote. Ligne continue = somme des grains proximaux 1 et 2 ; ligne discontinue = somme des grains distaux 3 et 4.

Ainsi, quelle que soit la variété étudiée, l'apport d'azote a augmenté la masse sèche finale des épillets basaux (4-6) en augmentant essentiellement le nombre de grains par épillet. Au sein des épillets, et quelle que soit la variété, l'apport azoté a augmenté le nombre de grains et la masse des grains proximaux des épillets localisés à la base des épis. En revanche, le nombre et la matière sèche des grains distaux ont été augmentés tout le long de l'épi, excepté dans les épillets les plus basaux et les plus apicaux.

III.3 Effet des variétés sur la distribution des grains en fonction de la position des épillets le long de l'épi

III.3.1 Distribution de la matière sèche totale des grains par épillet le long de l'épi

Il a été montré que la variété Renan met en place moins d'épillets par épi que les trois autres variétés (Tableau 2-1). Ainsi, pour permettre une comparaison variétale sans ce biais, une standardisation du nombre d'épillets a été effectuée, allant de 1, le premier épillet à la base de l'épi, à 100, le dernier épillet mis en place au sommet de l'épi. Les Figures 2-10c et 2-10d montrent une distribution similaire le long de l'épi de la matière sèche totale des grains pour les quatre

variétés. Une plus grande variabilité est cependant observée dans les épillets situés à la base de l'épi.

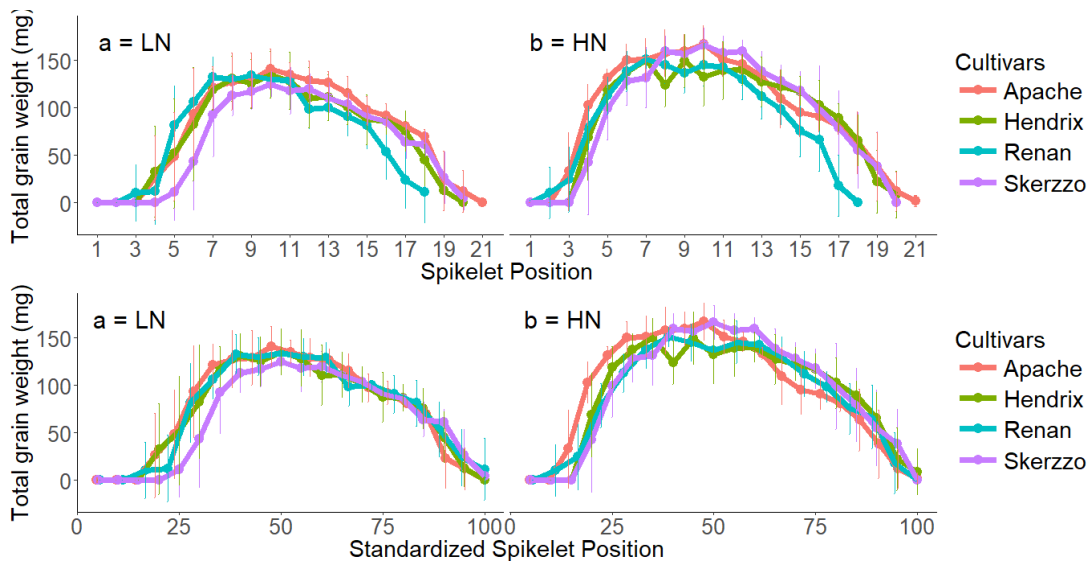


Figure 2-10 : Distribution de la matière sèche totale des grains par épillet le long de l'épi pour les quatre variétés et les deux traitements. (a-b) = Sans standardisation de la position des épillets ; (c-d) = avec une standardisation de la position des épillets. La position des épillets au sein de l'épi est numérotée de la base vers le sommet. HN = fort niveau d'azote ; LN = faible niveau d'azote. Pour chaque traitement, 32 épis (4 variétés × 8 répétitions) ont été observés. Les barres verticales représentent les intervalles de confiance.

Les distributions des deux composantes sous-jacentes à celle de la matière sèche totale des grains par épillet, expriment un net effet variétal (Fig. 2-11 et 2-12). En effet, alors que la distribution du nombre de grains est identique entre les quatre variétés pour le traitement LN, le nombre de grains du traitement HN est plus faible dans les épillets situés au centre de l'épi pour la variété Renan, et plus élevé dans les épillets situés à la base de l'épi pour la variété Apache (Fig. 2-11). En ce qui concerne la distribution de la matière sèche moyenne des grains au sein des épillets, et quel que soit le traitement, les grains situés dans la partie centrale de l'épi sont en moyenne plus lourds pour la variété Renan (Fig. 2-12). Cependant, les grains situés dans les épillets basaux de l'épi semblent être en moyenne moins lourds pour la variété Skerzzo pour le traitement LN, alors qu'aucune différence n'est observée entre les trois autres variétés. Enfin, la matière sèche moyenne des grains des épillets localisés dans la partie apicale de l'épi semble similaire pour les quatre variétés et les deux traitements en azote (Fig. 2-12).

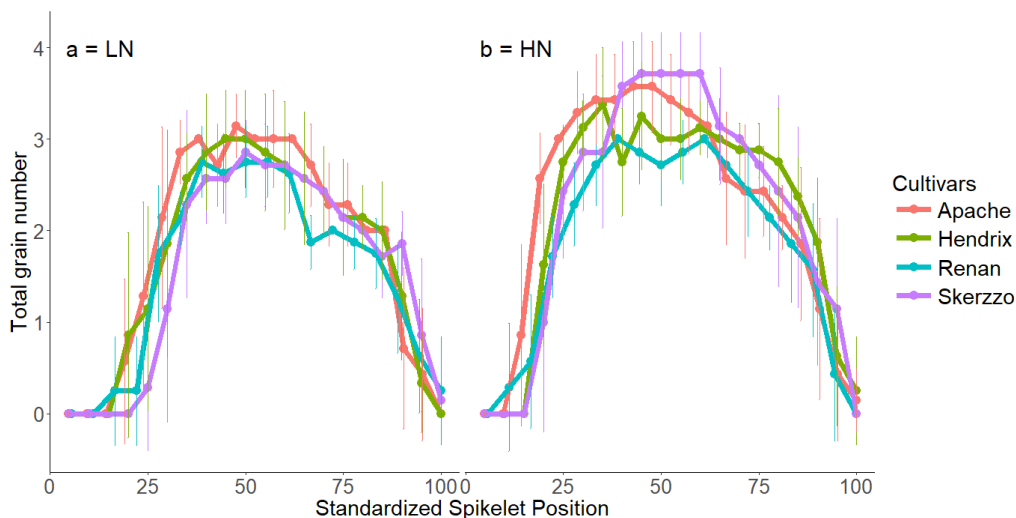


Figure 2-11 : Distribution du nombre total de grains, pour (a) le traitement LN, et (b) le traitement HN, le long de l'épi pour les quatre variétés. La position des épillets au sein de l'épi est standardisée à partir de la base vers le sommet de l'épi par le nombre total d'épillets. HN = fort niveau d'azote ; LN = faible niveau d'azote. Pour chaque traitement, 8 répétitions par variété ont été observées. Les barres verticales représentent les intervalles de confiance.

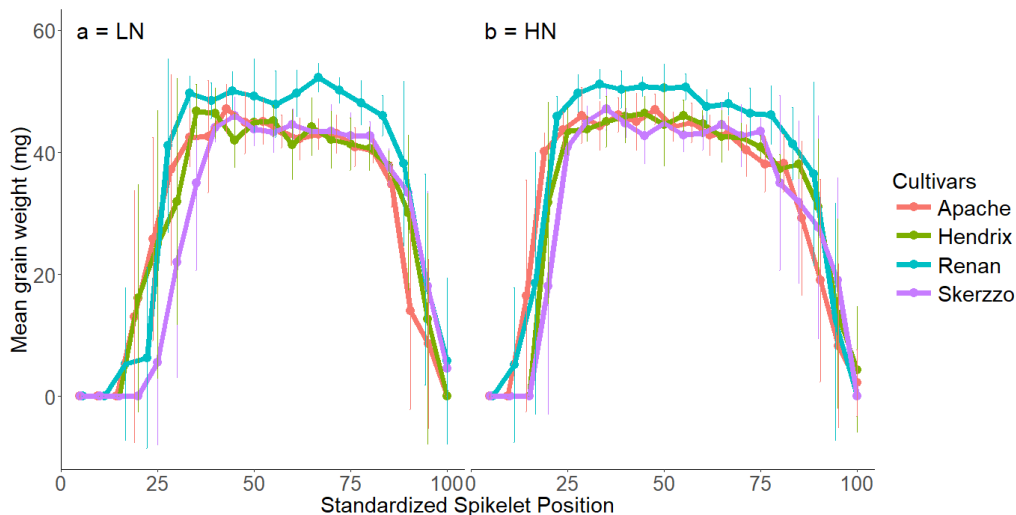


Figure 2-12 : Distribution de la matière sèche moyenne des grains, pour (a) le traitement LN, et (b) le traitement HN, le long de l'épi pour les quatre variétés. La position des épillets au sein de l'épi est standardisée à partir de la base vers le sommet de l'épi par le nombre total d'épillets. HN = fort niveau d'azote ; LN = faible niveau d'azote. Pour chaque traitement, 8 répétitions par variété ont été observées. Les barres verticales représentent les intervalles de confiance.

La standardisation par le nombre d'épillets effectuée pour comparer les variétés ne permet pas de conclure de manière statistique sur les résultats obtenus. Cependant, l'observation graphique montre que, (i) la distribution de la matière sèche totale des grains est similaire pour les quatre variétés, (ii) la variété Renan présente moins de grains, mais des grains en moyenne plus lourds dans la partie centrale de l'épi.

IV Discussion

En utilisant quatre variétés de blé tendre différant en termes de composantes de rendements, nous avons montré que la distribution de la matière sèche totale des grains au sein des épillets était, (i) affectée par un apport en azote, et dans une plus faible mesure (ii) différente selon la variété. Ainsi, dans un premier temps nous allons discuter de la méthodologie utilisée pour étudier la forme de cette courbe de distribution avant d'analyser dans un deuxième temps les effets environnementaux et variétaux sur la distribution de la matière sèche des grains au sein de l'épi.

Cette discussion restera cependant principalement descriptive et centrée sur la pertinence de la méthodologie d'étude choisie. Les hypothèses causales des gradients mis en lumière au sein de l'épi seront discutées de manière approfondie dans la discussion générale de la thèse.

IV.1 Distribution de la matière sèche des grains au sein de l'épi et au sein des épillets

Un des principaux objectifs de cette étude était de décrire la distribution de la matière sèche totale des grains selon le gradient vertical (la matière sèche totale des grains par épillet). Puis, la matière sèche totale des grains a été étudiée à travers ses deux composantes : le nombre total de grains et la matière sèche moyenne des grains par épillet. Ces deux composantes ont été étudiées aussi bien selon le gradient vertical de l'épi, que selon le gradient horizontal (la matière sèche des grains individuels au sein des épillets). Afin d'obtenir une description très précise de ces différentes distributions, nous avons observé l'ensemble des épillets constitutifs de l'épi. Cette méthodologie d'étude a déjà été utilisée par d'autres auteurs (Rawson et Evans, 1970; Rawson et Ruwali, 1972; Pinthus et Millet, 1978), montrant une distribution parabolique de la matière sèche des grains, avec des valeurs plus élevées dans les épillets localisés au centre de l'épi (Ferrante *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2016; Feng *et al.*, 2018; Philipp *et al.*, 2018). Dans nos conditions de croissance à fort apport d'azote (traitement HN), la matière sèche totale des grains augmente depuis la base de l'épi, vers la partie centrale avant de diminuer vers la partie apicale de l'épi (Fig. 2-3). Ce

résultat est donc en accord avec ceux de la littérature (Rawson et Evans, 1970; Bremner, 1972; Rawson et Ruwali, 1972; Miralles et Slafer, 1995; Li *et al.*, 2016; Feng *et al.*, 2018).

La matière sèche totale des grains au sein d'un épillet a également été étudiée à travers deux composantes : le nombre de grains total et la matière sèche moyenne des grains. Nous avons montré dans cette étude que les distributions de ces deux composantes étaient similaires à celle de la matière sèche totale des grains. En effet, les grains sont de plus en plus nombreux et lourds de la base vers le centre de l'épi, où ils atteignent une valeur maximale qui diminue de plus en plus lorsque les grains sont localisés dans les épillets proches du sommet de l'épi (Fig. 2-5 et 2-6). Ce résultat est en accord avec ceux de la littérature (Li *et al.*, 2016; Feng *et al.*, 2018; Philipp *et al.*, 2018). En ce qui concerne le gradient horizontal, nous avons mis en évidence que la fréquence de présence des deux grains proximaux (les plus proches du rachis) ainsi que leur matière sèche étaient supérieures à celles des deux grains distaux, et cela quelle que soit la position de l'épillet au sein de l'épi (Fig. 2-8 et 2-9). Ce résultat est aussi en accord avec les précédents résultats de la littérature (Ferrante *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2016; Feng *et al.*, 2018).

Toutefois cette méthodologie d'étude, consistant à disséquer chacun des épillets de l'épi est très fastidieuse. Bien que moins précise, une deuxième méthode d'analyse de la distribution consiste à diviser l'épi en plusieurs parties. Cette dernière a été utilisée par Bremner (1972) et Miralles et Slafer (1995) dont les travaux se basent sur une division de l'épi en trois parties (basale, centrale et apicale), afin d'étudier l'effet de la position des épillets dans ces trois parties sur la matière sèche finale des grains. D'autres subdivisions ont aussi été réalisées, comme par exemple Yildirim (2013) qui a divisé le nombre d'épillets fertiles de l'épi en cinq parties afin d'étudier l'effet de la sécheresse sur la distribution de la matière sèche des grains. Enfin, pour étudier l'accumulation de la matière sèche et de l'azote, Herzog et Stamp (1983) ont divisé l'épi en quatre parties contenant chacune cinq épillets. Quel que soit le découpage de l'épi utilisé, ces études montrent globalement que les épillets du centre de l'épi sont plus lourds que ceux de la base et du sommet, ce qui est en accord avec les résultats obtenus dans ce travail préliminaire.

Ainsi, l'étude minutieuse au sein de chacun des épillets a montré une distribution parabolique de la matière sèche totale des grains, confirmant que les épillets les plus lourds se situent dans la partie centrale de l'épi. Par conséquent, une analyse de la distribution des masses sèches des grains, basée sur la segmentation de l'épi en parties ne nuit pas à la fiabilité des

observations. Ainsi en utilisant la seconde méthodologie d'étude, les deux prochains chapitres testeront différentes hypothèses physiologiques pouvant expliquer ces différences de matières sèches des grains observées au sein de l'épi.

IV.2 Effet d'un apport en azote sur la distribution de la masse sèche des grains au sein de l'épi

Dans cette étude, nous avons montré que l'apport fractionné de 120 kg N.ha⁻¹ d'azote avait augmenté le nombre d'épis par plante ainsi que le nombre de grains par épi, mais pas le nombre d'épillets par épi (Tableau 2-1). Le nombre d'épillets par épi étant défini très tôt lors du développement de la plante (Zadoks *et al.*, 1974), le fort reliquat en azote présent dans le sol à ce moment pourrait expliquer cette absence d'effet du traitement azoté en plaçant le niveau LN en condition non limitante en azote à ce stade du développement de la culture. L'apport d'azote a permis d'augmenter le nombre d'épillets par m² (nombre de puits) (Fig.2-2). D'autre part il a augmenté la matière totale des grains par épillet. Nous pouvons donc considérer qu'à même nombre d'épillets par m², le rapport sources-puits a été augmenté. Ainsi, la question est de savoir si l'augmentation de ce rapport entraîne une modification de la distribution de la matière sèche totale des grains au sein de l'épi.

Ferrante *et al.* (2013 ; 2015) ont analysé sur blé dur le nombre de grains et le poids moyen des grains en fonction de leur position sur l'épi et en réponse à un traitement azoté. Cependant, à notre connaissance une seule étude a analysé cet effet sur la distribution de la matière sèche totale des grains par épillet pour une unique variété. Bien qu'aucune analyse statistique n'ait été effectuée, Whingwiri et Kemp (1980) ont surtout mis en évidence une augmentation du nombre d'épillets fertiles au sein de l'épi, avec un effet plus fort de l'apport d'azote sur la fertilité des épillets basaux. Dans notre étude, nous avons mis en évidence une interaction entre les traitements en azote (LN et HN) et la position des épillets au sein de l'épi pour trois des quatre variétés (Apache, Renan et Skerzzo). Bien que la matière sèche totale des grains des épillets localisés dans la partie centrale de l'épi ait été plus élevée que celles des épillets situés dans les parties basale et apicale (Fig. 2-3), l'apport d'azote a influencé de manière drastique la distribution de la matière sèche totale des grains au sein de l'épi. En effet, une différence significative de la matière sèche totale des grains par épillet a été observée entre les deux niveaux d'azote pour les épillets 4, 5 et 6 (en fonction des variétés), c'est-à-dire situés dans la partie basale de l'épi, et les épillets 8, 9, et 12

(pour la variété Skerzzo), localisés dans la partie centrale de l'épi (Fig. 2-3). L'ensemble de ces épillets a une matière sèche totale de grains plus élevée lorsqu'un apport de 120 kg N.ha⁻¹ est effectué (Fig. 2-3). Un apport en azote modifie donc la distribution de la matière sèche totale des grains par épillet.

La matière sèche totale des grains au sein d'un épillet est fonction de deux composantes : le nombre de grains dans un épillet et la matière sèche moyenne d'un grain contenu dans un épillet. Bien que la contribution du nombre de grains à la matière sèche totale des grains par épillet soit bien supérieure à celle de la matière sèche moyenne d'un grain (Tableau 2-4), nous montrons dans cette étude que les deux composantes sont affectées par un apport en azote. Ferrante *et al.* (2013) ont montré que, selon la variété étudiée, l'apport de 230 kgN.ha⁻¹ d'azote augmentait la fertilité des fleurs et/ou le nombre de grains en position distale au sein d'un épillet (la plus éloignée du rachis). D'après eux, ce phénomène intervenait sur l'ensemble des épillets de l'épi. Nous montrons dans notre étude des effets similaires d'un apport en azote sur le nombre de grains par épillet. En effet, en premier lieu nos résultats mettent en évidence que le nombre de grains a été augmenté dans les épillets 4, 5 et/ou 6, selon la variété étudiée, (partie basale de l'épi) et dans les épillets 9, 11 et 12 mais exclusivement pour la variété Skerzzo (partie centrale) (Fig. 2-4 et 2-6). De plus, quelle que soit la variété étudiée, la distribution du nombre de grains à l'échelle de l'épillet (gradient horizontal) a permis de montrer un plus grand nombre de grains en position distale (le plus éloigné du rachis) pour les épillets situés dans la partie centrale de l'épi (Fig. 2-8). Nous observons en plus par rapport aux résultats de Ferrante *et al.* (2013), que le nombre de grains proximaux au sein des épillets 4, 5 et 6 augmente lui aussi (Fig. 2-8). Ainsi, l'apport de 120 kg N.ha⁻¹ a permis d'augmenter le nombre de grains en position distale des épillets centraux et le nombre de grains proximaux des épillets 4 à 6, et cela pour les quatre variétés de cette étude.

En ce qui concerne l'étude de la matière sèche moyenne des grains par épillet au sein de l'épi, Ferrante *et al.* (2015) n'ont mis en évidence aucune différence de distribution malgré un apport de 230 kg N.ha⁻¹ d'azote, et cela quelle que soit la position de l'épillet au sein de l'épi. Ce résultat est en désaccord avec ceux obtenus dans notre étude. En effet, nous observons une différence significative pour les épillets 4, et 5 des variétés Renan et Skerzzo (Fig. 2-5 et 2-7). L'apport d'azote augmente donc la matière sèche moyenne des grains situés dans la partie basale de l'épi. L'étude plus fine des grains au sein d'un épillet (gradient horizontal) a montré que cette

augmentation de la matière sèche moyenne était principalement due à une augmentation de la matière sèche des deux grains proximaux (les plus proches du rachis) (Fig. 2-9).

IV.3 Effet des variétés sur la distribution de la matière sèche des grains au sein de l'épi

Nous avons utilisé quatre variétés de blé tendre se différenciant par leurs composantes de rendement. La variété Renan mettant en place moins d'épillets par épi que les trois autres variétés (Tableau 2-1), une standardisation par le nombre d'épillets a été nécessaire afin d'analyser l'effet des différentes variétés sur la distribution de la matière sèche des grains au sein de l'épi (Fig. 2-10c et 2-10d).

Nous avons observé que la distribution de la matière sèche totale des grains par épillet était similaire entre les quatre variétés pour les deux traitements. En effet, quelle que soit la variété étudiée, la matière sèche totale des grains est plus élevée dans les épillets situés au centre de l'épi (Fig. 2-10). Ce résultat est en accord avec ceux de Li *et al.* (2016) qui ont utilisé deux variétés de blé tendre d'hiver se différenciant par le nombre de talles. De manière plus générale, Philipp *et al.* (2018) ont montré que la distribution de la matière sèche totale des grains entre des variétés anciennes (180 ressources génétiques) et des variétés modernes (210 variétés élites européennes) était identique. Cependant notre étude n'est basée que sur quatre variétés, ce qui ne représente qu'une faible partie de la gamme de variabilité potentielle. Et en effet, d'autres études montrent des effets génétiques sur la distribution de la matière sèche totale des grains par épillet (Li *et al.*, 2016 ; Feng *et al.*, 2018 ; Philipp *et al.*, 2018).

Cependant, nous avons tout de même observé des distributions différentes de nombre ainsi que de matière sèche moyenne des grains au sein d'un épillet entre les quatre variétés, ce qui est en accord avec la majorité des résultats de la littérature (Pinthus et Millet, 1978 ; Feng *et al.*, 2018 ; Philipp *et al.*, 2018). En effet, dans notre étude, la variété Renan met en place moins de grains au sein de chaque épillet de l'épi (excepté dans les épillets les plus proximaux et les plus distaux) (Fig. 2-11), mais les grains présents dans les épillets centraux sont en moyenne plus lourds que ceux des trois autres variétés (Fig. 2-12), mettant en évidence une probable compensation au sein de l'épillet.

Ainsi, bien que la sélection de nouvelles variétés a permis d'augmenter le rendement en augmentant principalement le nombre de grains par épi, cette augmentation semble s'être effectuée

uniformément le long de l'épi, et n'a pas impacté la forme générale de la distribution des grains par épillet le long de l'épi (Philipp *et al.*, 2018).

Ce chapitre préliminaire devait, (i) préciser les aspects méthodologiques d'étude de la distribution de la matière sèche des grains au sein de l'épi (étude par épillet ou par partie, et analyse statistique), et (ii) sélectionner des génotypes et/ou des environnements permettant de générer des différences de distributions. Pour cela, nous avons fait varier deux facteurs afin d'étudier la distribution de la matière sèche totale des grains au sein de l'épi : les facteurs variété et fertilisation azotée.

D'un point de vue méthodologique, nous avons dans ce premier travail analysé la variabilité de masse finale des grains en considérant les épillets pris séparément. Ce type de dissection des épis est très fastidieux et bien que très précis, ne nous a malheureusement pas permis de modéliser les formes des courbes de distributions, ce que ne permet pas non plus une approche par partie. Cependant, elle nous a tout de même permis de décrire la forme de distribution de la matière sèche des grains, et nos résultats sont conformes à ceux de la littérature. Ainsi, dans la suite du travail, nous simplifierons l'étude de la variabilité des grains le long de l'épi en considérant uniquement trois parties (basale, centrale, apicale) comme Bremner (1972), Slafer et Savin (1994) ou encore Miralles et Slafer (1995).

Par ailleurs, nos résultats ont montré que l'apport en azote a augmenté la matière sèche totale des grains par épillet dans les parties basale et centrale de l'épi. Bien que ce résultat soit principalement dû à une augmentation du nombre total de grains par épillet, nous avons trouvé des différences de matière sèche moyenne dans les épillets basaux de l'épi. Ainsi, il a clairement été montré qu'un effet environnemental, ici l'apport en azote, n'aura pas le même impact sur la matière sèche des grains selon leur position au sein de l'épi. L'effet variétal sur la distribution de la matière sèche moyenne le long de l'épi était lui aussi relativement faible. Néanmoins les génotypes étudiés se différenciaient fortement en terme de composantes de rendement. Les variétés Apache et Renan affichent notamment des stratégies de mise en place du rendement fortement contrastées. La première se distingue par un nombre élevé de grains, et ce à toutes les échelles (par m², par épi et par épillet). Renan, quant à elle, est une variété à faible nombre de grains se distinguant par un PMG et un poids individuel de grain élevés. Ces deux variétés seront donc utilisées comme source

de variabilité pour la suite de l'étude, principalement pour donner un caractère générique aux résultats obtenus, en s'assurant qu'ils ne sont pas dépendants exclusivement d'une combinaison de composantes de rendement spécifique.

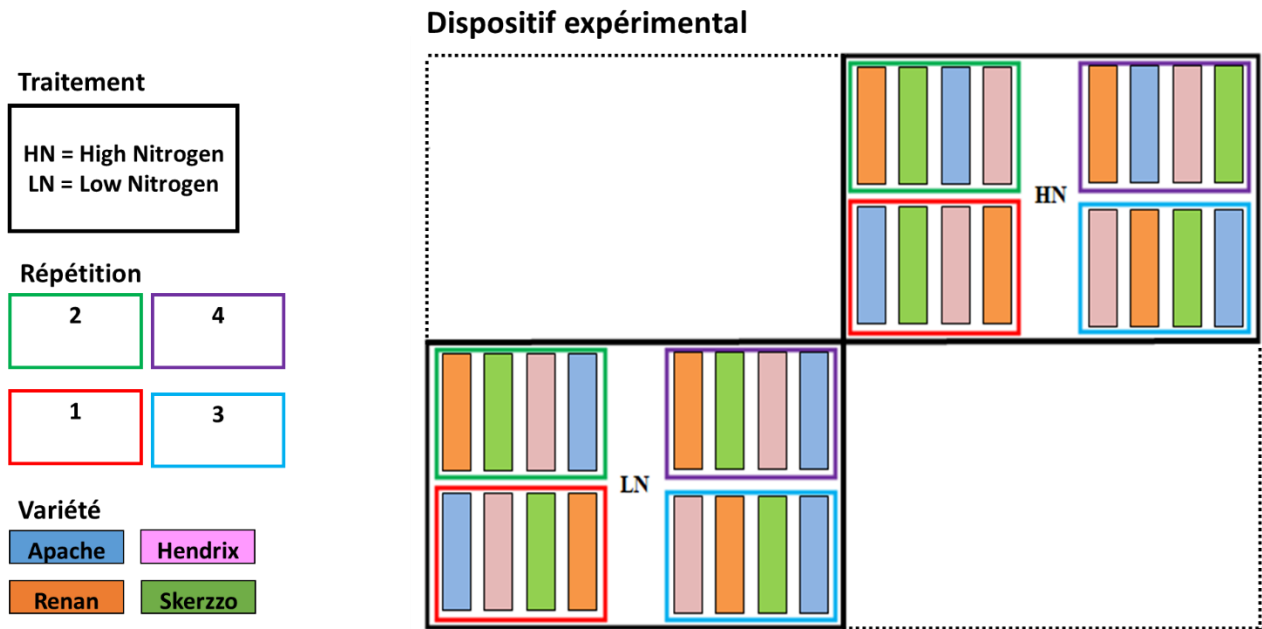
Sur ces bases, la suite du travail s'appliquera donc à comprendre pour ces deux variétés contrastées quels mécanismes physiologiques sous-jacents, et propres à la plante pourraient être à l'origine des différences de matière sèche observées le long de l'épi. Pour cela, l'épi sera divisé en trois parties distinctes : une partie basale, une partie centrale et une partie apicale. Enfin, pour ne pas mélanger les effets liés à l'environnement, les expérimentations décrites dans la suite de cette étude seront conduites sous serre, en conditions contrôlées.

REFERENCES

- Baillet N., Girousse C., Allard V., Piquet-Pissaloux A., and Le Gouis J.,** 2018. “Different Grain-Filling Rates Explain Grain-Weight Differences along the Wheat Ear.” *PloS ONE* 13 (12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209597>.
- Bremner P. M.,** 1972. “Accumulation of Dry Matter and Nitrogen by Grains in Different Positions of the Wheat Ear as Influenced by Shading and Defoliation.” *Australian Journal of Biological Sciences* 25 (4): 657. <https://doi.org/10.1071/BI9720657>.
- Calderini D. F., Abeledo L. G., Savin R., and Slafer G. A.,** 1999. “Effect of temperature and carpel size during pre-anthesis on potential grain weight in wheat.” *The Journal of Agricultural Science* 132 (4): 453–59. [Doi.org/10.1017/S0021859699006504](https://doi.org/10.1017/S0021859699006504).
- Feng F., Han Y., Wang S., Yin S., Peng Z., Zhou M., Gao W., Wen X., Qin X., et. Siddique K. H. M.,** 2018. “The Effect of Grain Position on Genetic Improvement of Grain Number and Thousand Grain Weight in Winter Wheat in North China.” *Frontiers in Plant Science* 9: 129. doi.org/10.3389/fpls.2018.00129.
- Ferrante A., Savin R., and Slafer G. A.,** 2013. “Floret Development and Grain Setting Differences between Modern Durum Wheats under Contrasting Nitrogen Availability.” *Journal of Experimental Botany* 64 (1): 169–84. <https://doi.org/10.1093/jxb/ers320>.
- Ferrante A., Savin R., and Slafer G. A.,** 2015. “Relationship between Fruiting Efficiency and Grain Weight in Durum Wheat.” *Field Crops Research* 177 (June): 109–16. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2015.03.009>.
- Herzog H., and Stamp P.,** 1983. “Dry Matter and Nitrogen Accumulation in Grains at Different Ear Positions in ‘Gigas’, Semidwarf and Normal Spring Wheats.” *Euphytica* 32 (2): 511–20. <https://doi.org/10.1007/BF00021463>.
- Li Y., Cui Z., Ni Y., Zheng M., Yang D., Jin M., et al.,** 2016. “Plant Density Effect on Grain Number and Weight of Two Winter Wheat Cultivars at Different Spikelet and Grain Positions.” *PloS ONE* 11 (5): e0155351. doi.org/10.1371/journal.pone.0155351.
- Meynard J-M.,** 1985. “Les besoins en azote du blé d’hiver jusqu’au début de la montaison.” *Agronomie* 5 (7): 579–89. <https://doi.org/10.1051/agro:19850703>.
- Miralles D. J., and Slafer G. A.,** 1995. “Individual Grain Weight Responses to Genetic Reduction in Culm Length in Wheat as Affected by Source-Sink Manipulations.” *Field Crops Research* 43 (2): 55–66. [https://doi.org/10.1016/0378-4290\(95\)00041-N](https://doi.org/10.1016/0378-4290(95)00041-N).
- Moll R. H., Kamprath E. J., and Jackson W. A.,** 1982. “Analysis and Interpretation of Factors Which Contribute to Efficiency of Nitrogen Utilization” *Agronomy Journal* 74: 562-564.
- Monaghan J. M., Snape J. W., Chojecki A. J. S., and Kettlewell P. S.,** 2001. “The Use of Grain Protein Deviation for Identifying Wheat Cultivars with High Grain Protein Concentration and Yield.” *Euphytica* 122 (2): 309–17. <https://doi.org/10.1023/A:1012961703208>.

- Oury F-X., and Godin C.,** 2007. “Yield and Grain Protein Concentration in Bread Wheat: How to Use the Negative Relationship between the Two Characters to Identify Favourable Genotypes?” *Euphytica* 157 (1–2): 45–57. <https://doi.org/10.1007/s10681-007-9395-5>.
- Philipp N., Weichert H., Bohra U., Weschke W., Schulthess A. W., and Weber H.,** 2018. “Grain Number and Grain Yield Distribution along the Spike Remain Stable despite Breeding for High Yield in Winter Wheat.” Edited by Aimin Zhang. *PloS ONE* 13 (10): e0205452. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205452>.
- Pinthus M. J., and Millet E.,** 1978. “Interactions Among Number of Spikelets, Number of Grains and Grain Weight in the Spikes of Wheat (*Triticum aestivum* L.)” *Annals of Botany* 42 (4): 839–48. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a085523>.
- Rawson H. M., and Evans L. T.,** 1970. “The Pattern of Grain Growth within the Ear of Wheat.” *Australian Journal of Biological Sciences* 23 (4): 753. <https://doi.org/10.1071/BI9700753>.
- Rawson H. M., and Ruwali K. N.,** 1972. “Ear Branching as a Means of Increasing Grain Uniformity in Wheat.” *Australian Journal of Agricultural Research* 23 (January). <https://doi.org/10.1071/AR9720551>.
- Sadras V. O., and Slafer G. A.,** 2012. “Environmental Modulation of Yield Components in Cereals: Heritabilities Reveal a Hierarchy of Phenotypic Plasticities.” *Field Crops Research* 127 (February): 215–24. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2011.11.014>.
- Slafer G. A., and Miralles D. J.,** 1993. “Fruiting Efficiency in Three Bread Wheat (*Triticum Aestivum*) Cultivars Released at Different Eras. Number of Grains per Spike and Grain Weight.” *Journal of Agronomy and Crop Science* 170 (4): 251–60. <https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.1993.tb01083.x>.
- Slafer G. A., and Savin R.,** 1994. “Source—sink Relationships and Grain Mass at Different Positions within the Spike in Wheat.” *Field Crops Research* 37 (1): 39–49. [https://doi.org/10.1016/0378-4290\(94\)90080-9](https://doi.org/10.1016/0378-4290(94)90080-9).
- Whingwiri E. E., and Kemp D. R.,** 1980. “Spikelet Development and Grain Yield of the Wheat Ear in Response to Applied Nitrogen.” *Australian Journal of Agricultural Research* 31 (4): 637–47. <https://doi.org/10.1071/ar9800637>.
- Yildirim M.,** 2013. “The effect of water stress on spikelet position weight variation in wheat.” *Turkish Journal of Field Crops* 18(2), 144-1507.
- Zadoks J. C., Chang T. T., and Konzak C. F.,** 1974. “A Decimal Code for the Growth Stages of Cereals.” *Weed Research* 14 (6): 415–21. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.1974.tb01084.x>.

ANNEXES



Annexe F2-1 : Schéma du dispositif de l'expérimentation conduite au champ en 2014 sur le domaine expérimental de l'unité INRA UE Phénotypage Au Champ des Céréales (PHACC) à Clermont-Ferrand.

Annexe T2-1 : Caractéristiques des variétés de blé tendre

Variétés	Année inscription	Obtenteur	Précocité	Aristation
Apache (A)	1997	Nickerson SA	7 (précoce)	Non barbue
Hendrix (H)	2012	Agri Obtentions SA/ INRA	6 (demi précoce)	Barbue
Renan (R)	1989	INRA	6 (demi précoce)	Barbue
Skerzzo (S)	2012	INRA	6 (demi précoce)	Barbue

Chapitre 3 :
**Des ablations pour quantifier
l'effet des contraintes
physiques inter-épillets et
l'allocation des assimilats**

I Introduction

Au cours de l'étude préliminaire (cf. Chapitre 2), nous avons mis en évidence, (i) une distribution parabolique de la matière sèche totale des grains au sein de l'épi, à savoir que plus de grains et de plus gros grains sont localisés dans la partie centrale, et (ii) un effet des variétés et de l'apport d'azote sur la distribution de cette matière sèche totale des grains. Afin de mieux exploiter cette variabilité le long de l'épi, il est important d'étudier les mécanismes sous-jacents qui pourraient être à l'origine de ces observations. Différentes hypothèses ont été développées dans le premier chapitre, en particulier celle d'un possible effet d'encombrement stérique inter-épillet sera étudiée dans ce nouveau chapitre.

Comme nous l'avons détaillé précédemment (cf. Chapitre 1), un épi de blé est composé de plusieurs épillets agencés en alternance de part et d'autre de l'axe principal de l'épi. Ces épillets sont délimités par des glumes, et peuvent contenir jusqu'à dix fleurons. Chacun de ces fleurons est entouré par des glumelles, créant une cavité florale dans laquelle vont se développer les futurs grains (Setter et Carlton, 2000). Au sein des épillets, cette cavité ainsi que la rigidité des glumes et des glumelles peuvent potentiellement limiter physiquement la croissance volumique des grains. Par ailleurs, la compacité de l'épi constitue également une caractéristique potentiellement limitante de la matière sèche finale des grains en restreignant l'espace disponible à l'élargissement des grains et des épillets (Boshnakian, 1918; Millet et Pinthus, 1984a).

Selon la position des grains au sein de l'épi (gradient vertical), une irrégularité de la forme du grain a été mise en évidence. En effet, chez les blés dur (*T. durum*) et compacts (*T. compactum*) la partie centrale de l'épi est composée de grains plus uniformes et symétriques que ceux de la partie apicale (Boshnakian, 1918). Cela est principalement expliqué par des épillets plus serrés les uns contre les autres, et par des glumes plus petites dans la partie centrale de l'épi (Boshnakian, 1918; Millet et Pinthus, 1984b). Il semble ainsi, que des effets d'encombrement sur la croissance des grains puissent être générés par la présence des autres grains contenus dans les épillets adjacents (Boshnakian, 1918).

Au sein d'un épillet (gradient horizontal), la matière sèche finale d'un grain est corrélée au volume de la cavité florale dans lequel il se développe, lui-même étant lié à la rigidité et à la taille des glumes et des glumelles (Millet et Pinthus, 1984b). Ainsi, plus les glumes seront rigides, plus le grain sera serré contre le rachis, et moins il aura de place pour se développer. Cela engendre un aplatissement du grain d'un côté ou de l'autre de l'épillet, selon sa position par rapport au rachis

(Boshnakian, 1918). De plus, bien que les glumelles des grains les plus éloignés du rachis (les grains distaux) soient plus souples, le volume de la cavité florale étant plus faible, la matière sèche des grains distaux sera plus faible que ceux des grains basaux (les plus proches du rachis) (Millet et Pinthus, 1984a; Millet, 1986). Le nombre de grains au sein d'un épillet va également impacter leurs formes, et donc leurs matières sèches finales. En effet, le degré d'aplatissement des deux grains basaux va dépendre de la pression exercée par la taille des grains distaux qui se développent au centre de l'épillet (Boshnakian, 1918). De manière similaire, les grains proximaux, se développant en premier, pourraient également exercer une contrainte physique sur le développement des grains distaux au sein d'un épillet.

A notre connaissance, très peu d'études se sont focalisées sur le rôle d'un encombrement stérique inter-épillet pour expliquer la variabilité de la matière sèche des grains au sein de l'épi. Le principal objectif de cette étude est donc de déterminer si la croissance des grains contenus dans la partie centrale de l'épi (qui sont les grains les plus gros) est limitée par la présence des autres grains localisés dans les épillets voisins ou si ces grains ont atteint leur taille potentielle. Ainsi, différents encombrements stériques au sein de l'épi ont été créés par ablation d'épillets entiers, de position variable par rapport à l'épillet d'étude, afin d'analyser à rapports sources-puits identiques leurs effets sur la matière sèche finale des grains localisés au centre de l'épi. Par contre, la suppression d'épillets entiers a impacté l'équilibre sources-puits de la plante par rapport à un épi témoin sans ablation. En effet, en diminuant le nombre de grains au sein de l'épi et à source constante, la quantité d'assimilats disponibles pour les grains restants a été augmentée. Ainsi, le deuxième objectif de cette étude a été d'analyser l'effet de la diminution du nombre de grains au sein de la partie centrale de l'épi, via les différentes ablations, sur la matière sèche finale des grains localisés au sein des parties basale, centrale et apicale de l'épi. Pour répondre à ces deux objectifs, les deux variétés contrastées Apache et Renan, identifiées dans l'étude précédente, ont été cultivées sous serre, en conditions contrôlées.

II Matériel et méthodes

II.1 Matériel génétique et conception expérimentale

A partir de l'expérimentation au champ conduite en 2014 à Clermont-Ferrand en France (45°46' N, 3°08' E, altitude 401m), nous avons sélectionné deux variétés de blé d'hiver différant en termes de rendement et composantes de rendement. Alors que la première variété Renan est

caractérisée par un plus fort poids de mille grains (PMG), la seconde variété Apache présente des valeurs de rendement, de nombre de grains par m², par épi et par épillet, ainsi qu'un nombre d'épillets par épi, supérieurs à la variété Renan.

L'expérience a été réalisée de janvier à juillet 2017 en serre, à l'INRA de Clermont-Ferrand (45°78' N, 3°08' E, altitude 401m). Les graines ont d'abord été mises à germer dans des boîtes de Petri pendant deux jours, puis après homogénéisation des plantules, repiquées dans des terrines de semis pour vernalisation pendant huit semaines (5°C, photopériode 8h). Les plantes vernalisées ont ensuite été transplantées dans des pots en plastique de 4 L (18,8 cm de diamètre × 21,8 cm de hauteur). Chaque pot était rempli d'un terreau enrichi de 2,5 kg m⁻³ d'engrais 9-12-16 (N-P-K), et de fer (Fe), et contenait trois plantes d'une même variété. L'expérimentation a été organisée en quatre blocs contenant chacun 52 pots (26 pots par variété, Annexe F3-1).

Les plantes se sont développées sous des conditions naturelles de lumière, complétées par des lampes à vapeur de sodium 400W afin d'atteindre une photopériode de 16h. La température de l'air a été régulée à 18°C durant la journée et à 15°C pendant la nuit. Enfin, dans chaque pot, de l'eau et une solution nutritive ont été apportées deux fois par jour jusqu'à maturité à l'aide d'un système de goutte à goutte.

La température, l'humidité relative et le rayonnement photosynthétique actif (PAR) ont été mesurés en 8 points placés de manière régulière dans la serre sur la durée totale de l'expérimentation avec un intervalle de mesure de 15 min. Les données produites étaient enregistrées sur un enregistreur de données CR 1000 (Campbell Scientific, Logan, UT, USA).

II.2 Traitements et échantillonnages

Au début de la croissance des plantes, peu de temps après leur transplantation, les brins-maitres de chacune des plantes ont été repérés et étiquetés. A épiaison, le nombre d'épillets a été compté pour chaque épi marqué. Pour la suite de l'étude, et afin d'éviter une variabilité liée aux différences de nombre d'épillets, seuls les épis avec 21 épillets ont été sélectionnés.

Le chapitre précédent a clairement démontré que les grains contenus dans les épillets situés au centre de l'épi avaient une masse sèche plus élevée que ceux situés dans les parties basale et apicale. Dans la présente étude, le principal objectif était de créer trois formes d'encombrement inter-épillets, afin d'observer leurs effets sur la matière sèche des grains contenus dans un épillet localisé au centre de l'épi (épillet numéroté 11 à partir de la base de l'épi). Pour cela, sept

traitements étaient constitués d'un contrôle réalisé avec des épis intacts, et de six différents traitements consistant en l'ablation d'épillets entiers vers $100^{\circ}\text{Cj}^{-1}$ après la floraison de la première fleur de l'épi (Fig. 3-1) :

- Les quatre premiers traitements avaient pour objectif d'étudier deux différentes formes d'encombrement :
 - Une première forme d'encombrement causée par les épillets situés du même côté que l'épillet central étudié. Ainsi, dans un premier traitement (T1), les épillets 9 et 13 ont été coupés. Afin de servir de témoin, les épillets 7 et 15 ont été retirés pour le deuxième traitement (T2) générant une modification similaire des rapports sources-puits au sein de l'épi tout en maintenant l'encombrement.
 - Une deuxième forme d'encombrement causée par les épillets situés du côté opposé de l'épillet central étudié. Ainsi, les épillets 10 et 12, ont été retirés pour le troisième traitement (T3). Pour servir de témoin, les épillets 8 et 14 ont été enlevés lors du quatrième traitement (T4) générant une modification similaire des rapports sources-puits au sein de l'épi mais en maintenant l'encombrement.
- Les deux derniers traitements ont permis de tester les effets d'une absence totale d'encombrement sur la matière sèche des grains contenus dans l'épillet central. Le cinquième traitement (T5) correspond donc à l'ablation des quatre épillets 9, 10, 12 et 13 entourant l'épillet central. Le traitement numéro six (T6) a été utilisé comme témoin du traitement cinq, et les épillets 7, 8, 14 et 15 ont donc été retirés générant une modification similaire des rapports sources-puits au sein de l'épi tout en maintenant l'encombrement.

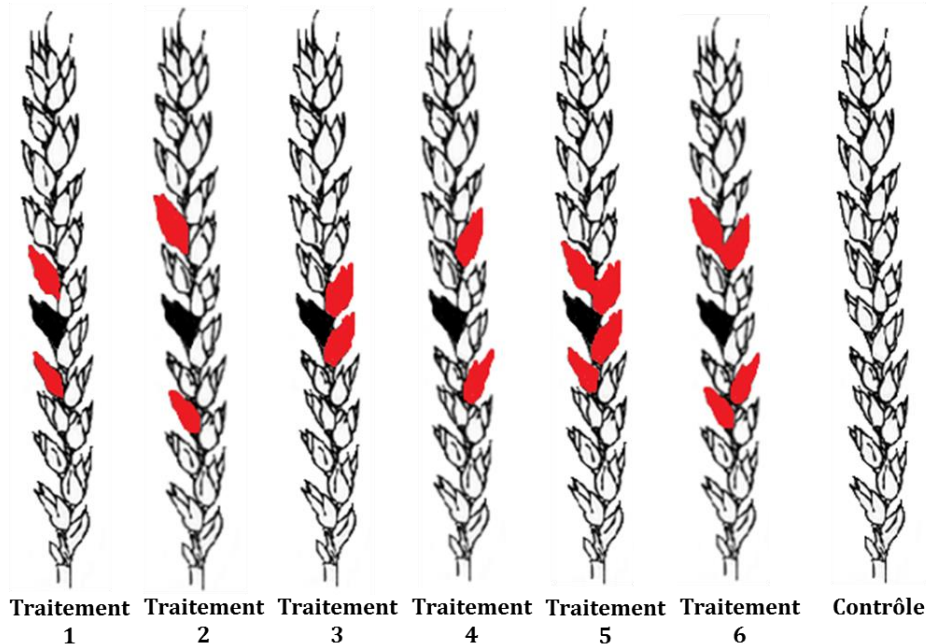


Figure 3-1 : Résumé des différents traitements d'encombrement effectués. Noir = épillet central numéro 11 étudié ; rouge = épillets supprimés. C = épis témoins

Le nombre d'épis prélevés à maturité pour étudier l'effet d'un encombrement stérique sur la matière sèche finale des grains contenus dans l'épillet central 11 varie entre cinq et huit pour les traitements d'ablation, et onze pour le contrôle. L'ensemble des épis a été disséqué, et la position de chaque grain a été notée. Chacun des grains a ensuite été séché à 60°C pendant deux jours, et pesé à l'aide d'une balance de précision 0.001 mg. (Mettler-Toledo AX205 DR, Suisse).

II.3 Variables calculées et analyses statistiques

Dans un premier temps, les effets des différentes formes d'encombrement ont été étudiés sur les grains contenus dans l'épillet central choisi (épillet numéro 11, en comptant à partir de la base de l'épi). Pour cela, quatre différentes variables ont été mesurées : la matière sèche totale des grains de l'épillet 11, la matière sèche des deux grains proximaux (situés le plus proche du rachis) ainsi que le nombre et la matière sèche des grains en position distale (les plus éloignés du rachis).

En utilisant le modèle mixte suivant, des analyses de la variance ont été effectuées par variété afin de tester l'effet des différentes formes d'encombrement inter-épillet sur chacune des variables étudiées :

$$Y_{ij} = \mu + TN_i + b_j + TN_i \times b_j + \epsilon_{ij} \text{ (Eq. 1)}$$

Où Y_{ij} est la valeur de la variable pour le traitement i et le bloc j , μ est la valeur de la moyenne générale, TN_i est un facteur fixe représentant le numéro du traitement, b_j est un facteur aléatoire représentant les blocs et ϵ_{ij} est l'erreur résiduelle.

Dans un deuxième temps, la modification du rapport sources-puits créée par la suppression d'épillets au sein de la partie centrale a été analysée au sein du gradient vertical de l'épi, c'est-à-dire en fonction des parties basale, centrale et apicale de l'épi. Pour cela, les épis issus des différentes formes d'encombrement ont été regroupés au sein de deux nouveaux traitements :

- Le traitement numéro 8 (T8), qui regroupe les épis au sein desquels deux épillets ont été retirés, c'est-à-dire les épis issus des traitements d'encombrement 1, 2, 3 et 4.
- Le traitement numéro 9 (T9), qui regroupe les épis au sein desquels quatre épillets ont été retirés, c'est-à-dire les épis issus des traitements d'encombrement 5 et 6. Ce traitement contient donc environ deux fois moins d'épis que le traitement 8.

Pour étudier les effets de la modification du rapport sources-puits au sein de l'épi, chaque épi a été divisé en trois parties : basale, centrale et apicale. La partie basale est représentée par les six premiers épillets (en comptant à partir de la base de l'épi) ; la partie centrale représente l'ensemble des épillets potentiellement utilisés pour les ablations, c'est-à-dire du septième jusqu'au quinzième épillet ; enfin la partie apicale regroupe les six épillets situés au sommet de l'épi, correspondant aux épillets 16 à 21 (Fig. 3-2). Les parties basale et apicale de l'épi étant composées d'un même nombre d'épillets quel que soit le traitement, la matière sèche totale des grains a pu être étudiée sans nouveau calcul. En revanche, le nombre d'épillets présents au sein de la partie centrale de l'épi étant différent, du fait des ablations, la moyenne de la matière sèche totale des grains par épillet a été calculée.

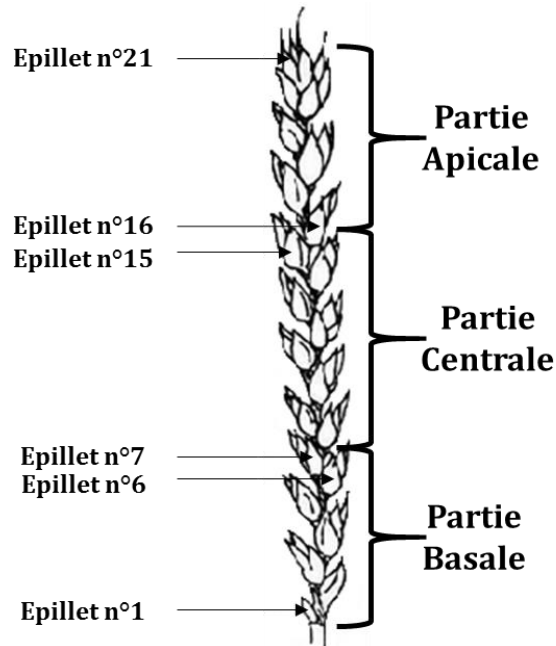


Figure 3-2 : Découpage de l'épi en trois différentes parties : basale (épillets 1 à 6), centrale (épillets 7 à 15), et apicale (épillets 16 à 21).

En utilisant le même modèle mixte (Eq. 1), des analyses de la variance ont été effectuées par variété afin de tester l'effet de la modification du rapport sources-puits au sein de l'épi sur la matière sèche des grains selon leur position au sein de l'épi :

Toutes les analyses statistiques ont été effectuées en utilisant l'environnement R v3.4.1 (R Core Team, 2017).

III Résultats

Afin de tester l'effet de trois formes d'encombrement sur la matière sèche des grains situés dans la partie centrale de l'épi, six différents traitements ont été créés (Fig. 3-1). Dans un premier temps, les effets d'encombrement ont été étudiés au sein de l'épillet central numéro 11. Puis, l'effet de la modification du rapport sources-puits via la diminution du nombre d'épillets par épi (et par conséquent la diminution du nombre de grains ; Traitements 8 et 9) a été étudié au sein des parties basale, centrale et apicale, c'est-à-dire selon le gradient vertical de l'épi.

III.1 Encombrement stérique inter-épillet sur la matière sèche des grains contenus dans l'épillet central

Les quatre premiers traitements ont permis de tester deux différentes formes d'encombrement, l'une se focalisant sur l'encombrement des épillets situés du même côté que l'épillet central étudié (Traitements 1 et 2), l'autre sur les épillets localisés du côté opposé (Traitements 3 et 4). Les traitements cinq et six devaient tester l'effet d'une absence totale d'encombrement sur la matière sèche des grains de l'épillet central numéroté 11. Pour cela, quatre variables ont été mesurées : la matière sèche totale des grains présents dans l'épillet central, la matière sèche des deux grains proximaux (les plus proches du rachis), ainsi que le nombre et la matière sèche des grains distaux (les plus éloignés du rachis).

Dans un premier temps, ces quatre variables ont été analysées au sein de chacune des trois formes d'encombrement testées. Ainsi, elles ont été étudiées au sein des traitements 1 et 2 (le traitement 2 servant de témoin au traitement 1) afin de savoir si la croissance des grains de l'épillet central numéro 11 était limitée par les épillets situés du même côté. Puis ces quatre variables ont été analysées entre les traitements 3 et 4 (le traitement 4 servant de témoin au traitement 3), pour mettre en évidence un effet d'encombrement des épillets situés à l'opposé de l'épillet central. Enfin, chacune des variables a été étudiée en comparant les traitements 5 et 6 (le traitement 6 servant de témoin au traitement 5) afin de tester l'effet d'une absence totale d'encombrement sur la croissance des grains situés dans l'épillet central. Pour chacune des trois formes d'encombrement testées, aucun résultat significatif n'a été mis en évidence quelles que soient la variable et la variété étudiée. Les valeurs de p issues des différentes analyses de variance sont résumées dans le Tableau 3-1.

Tableau 3-1 : Valeurs des probabilités issues des analyses de la variance entre les différentes formes d’encombrement sur la matière sèche totale des grains de l’épillet 11 (TGW), la matière sèche des deux grains proximaux (GWP), le nombre de grains en positions distales (GND) ainsi que la matière sèche des grains en positions distales (GWD), pour les deux variétés Apache et Renan.

<i>p.value</i>	Apache			Renan		
	T1-T2	T3-T4	T5-T6	T1-T2	T3-T4	T5-T6
TGW (mg)	0.66	0.54	0.68	0.61	0.75	0.88
GWP (mg)	0.67	0.58	0.87	0.94	0.83	0.48
GND	0.70	0.26	0.28	1.00	0.46	0.97
GWD (mg)	0.79	0.24	0.39	0.45	0.50	0.54

N’ayant pas de résultat significativement différent au sein des trois différentes formes d’encombrement testées, ces variables ont été comparées entre les six traitements et les épis intacts. Pour les deux variétés, la matière sèche totale et la matière sèche des deux grains proximaux ne sont pas significativement différentes (au seuil 5%) quelle que soit la forme d’encombrement créée (Fig. 3-3 ; Annexe T3-1). En ce qui concerne les grains en position distale (les plus éloignés du rachis), leur nombre ainsi que leur matière sèche ne sont pas non plus impactés (au seuil 5%) par les différentes formes d’encombrement (Annexe T3-1).

Ainsi, l’ensemble de nos résultats ne mettent pas en évidence d’encombrement stérique inter-épillets pouvant limiter la croissance des grains localisés au sein de l’épillet central de l’épi.

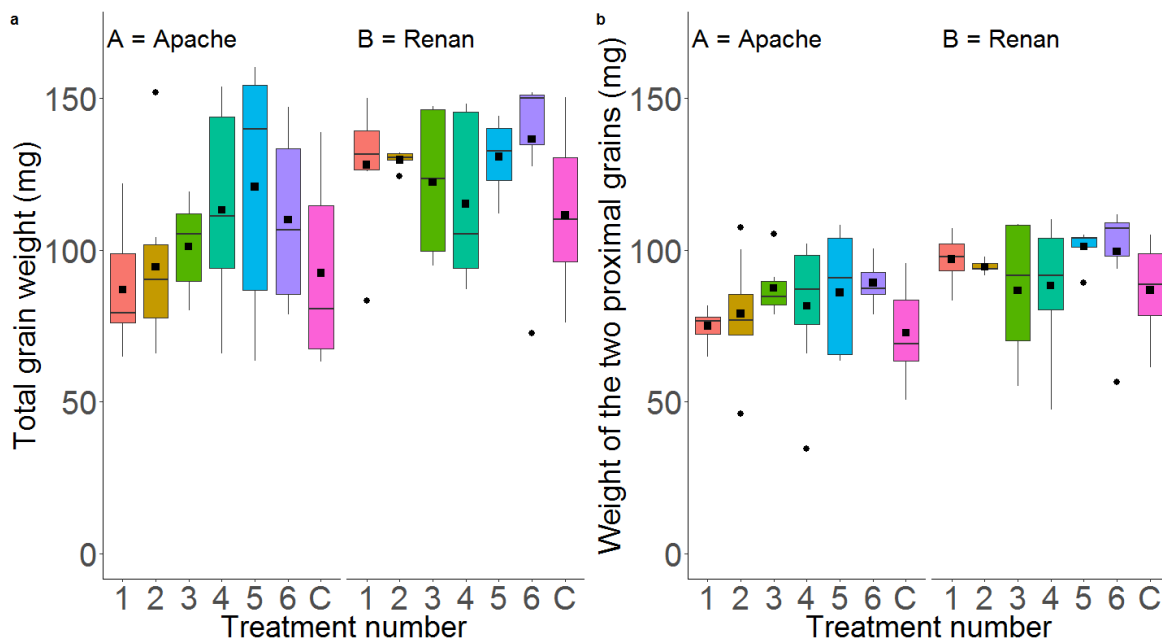


Figure 3-3 : Effets des différents traitements sur (a) la matière sèche totale et (b) la matière sèche des deux grains proximaux de l'épillet 11 pour les deux variétés Apache (A) et Renan (B). Rond noir : observations atypiques, carré noir : moyenne des variables calculées sur 5 à 11 répétitions. Voir la Figure 3-1 pour la description des traitements.

III.2 Effet de la modification du rapport sources-puits sur la matière sèche des grains selon le gradient vertical de l'épi

La création des différentes formes d'encombrement via la suppression d'épillets a également modifié le rapport sources-puits en diminuant le nombre de grains au sein de l'épi. Pour étudier ces effets, les épis issus des différentes formes d'encombrement ont été regroupés au sein de deux traitements se différenciant par le nombre d'épillets supprimés. Le traitement numéroté 8 (T8) regroupe les épis pour lesquels deux épillets ont été retirés (Traitements 1, 2, 3 et 4), et le traitement numéroté 9 (T9) regroupe les épis pour lesquels quatre épillets ont été enlevés (Traitements 5 et 6). Les épis intacts composés de 21 épillets forment le traitement contrôle.

Dans un premier temps, la matière sèche totale des grains de l'épi a été étudiée en fonction des trois traitements (T8, T9 et C), et pour les deux variétés (Fig. 3-4). Les résultats de l'analyse de la variance ainsi que les valeurs moyennes sont présentés dans l'Annexe T3-2. Aucune différence statistiquement significative de matière sèche totale des grains de l'épi n'est mise en évidence. (Fig. 3-4 ; Annexe T3-2).

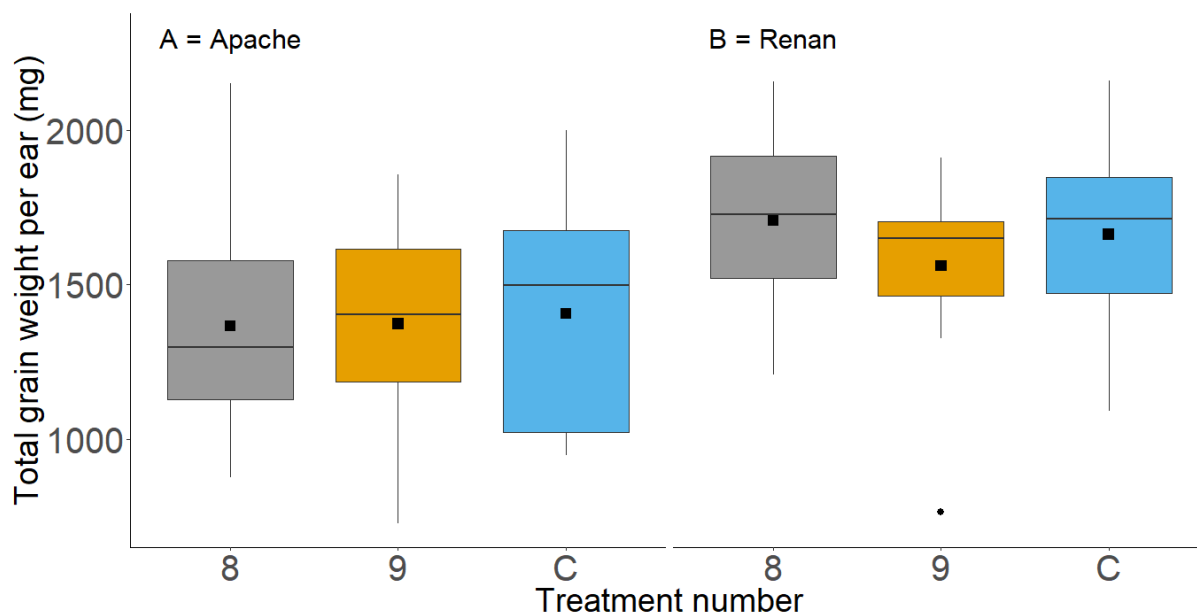


Figure 3-4 : Effets des différents traitements sur la matière sèche totale des grains par épi pour les deux variétés Apache (A) and Renan (B). Rond noir : observations atypiques, carré noir : moyenne des variables calculées sur 7 à 31 répétitions. Traitement 8 = ablation de 2 épillets, traitement 9 = ablation de 4 épillets, traitement C = Contrôle.

Dans un deuxième temps, l'effet de la modification du rapport sources-puits créé au sein de l'épi via l'ablation de certains épillets de la partie centrale, a été étudié au sein des épillets localisés à la base, au centre et au sommet de l'épi.

Cette modification de l'équilibre sources-puits a tout d'abord été analysée au sein de l'épillet central 11 à travers trois variables : la matière sèche totale, la matière sèche des deux grains proximaux et la matière sèche des deux grains distaux. Pour les deux variétés, quelle que soit la variable étudiée, aucune différence significative n'est mise en évidence entre les traitements (Fig. 3-5, Annexe T3-3).

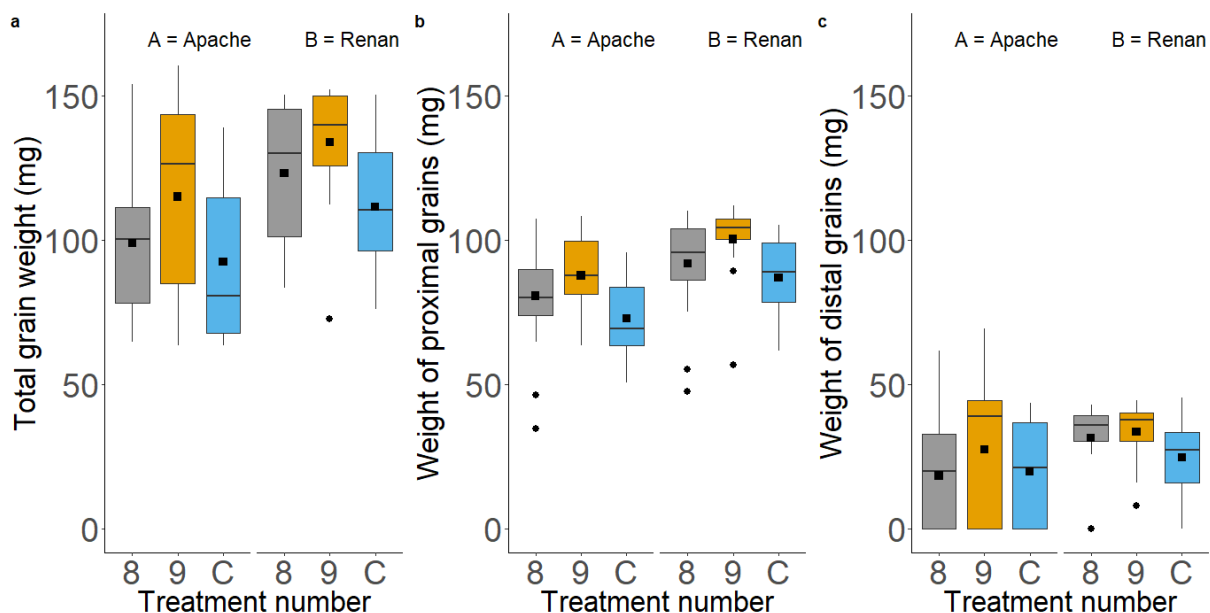


Figure 3-5 : Effets des traitements sur (a) la matière sèche totale, (b) la matière sèche des deux grains proximaux, et (c) la matière sèche des grains distaux de l'épillet 11 pour les deux variétés Apache (A) et Renan (B). Rond noir : observations atypiques, carré noir : moyenne des variables calculées sur 7 à 31 répétitions. Traitement 8 = ablation de 2 épillets, traitement 9 = ablation de 4 épillets, traitement C = Contrôle.

Puis, l'effet de la modification du rapport sources-puits au sein de l'épi a été étudié pour l'ensemble des épillets situés dans la partie centrale de l'épi. Cependant, le nombre d'épillets de la partie centrale étant différent entre les trois traitements, une moyenne de la matière sèche totale des grains a été calculée par épillet. Les résultats de l'analyse de variance ne montrent aucune différence significative entre les épis issus des différents traitements pour les deux variétés étudiées (Fig. 3-6, Annexe T3-4).

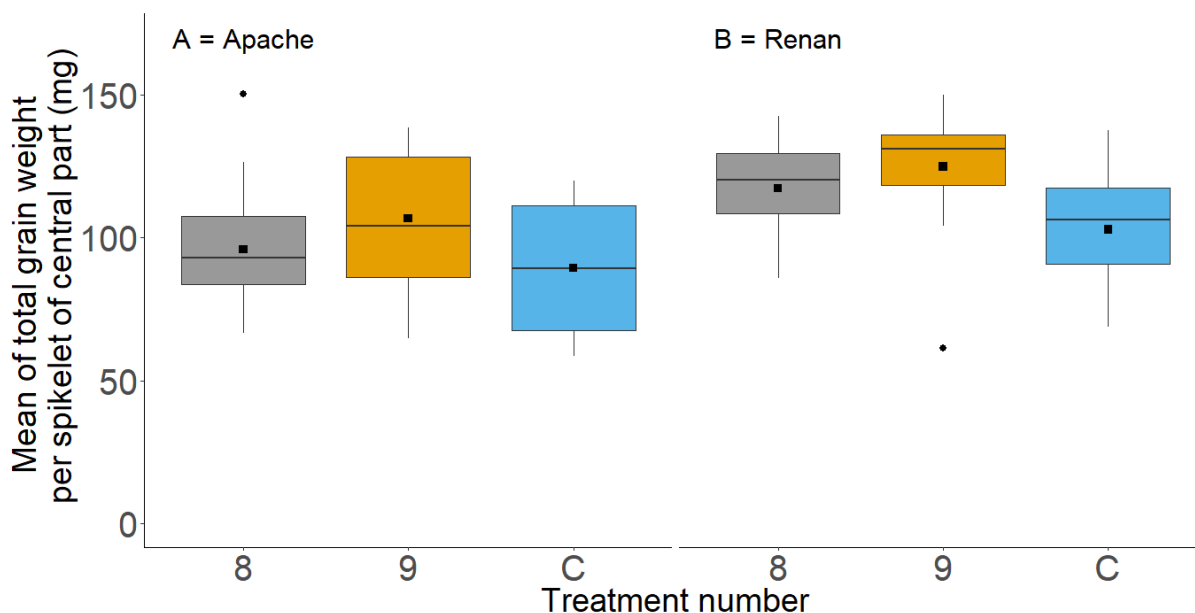


Figure 3-6 : Effets des différents traitements sur la moyenne de la matière sèche totale des grains par épillet de la partie centrale de l'épi, pour les deux variétés Apache (A) and Renan (B). Rond noir : observations atypiques, carré noir : moyenne des variables calculées sur 7 à 31 répétitions. Traitement 8 = ablation de 2 épillets, traitement 9 = ablation de 4 épillets, traitement C = Contrôle.

Enfin, l'effet de la modification de l'équilibre sources-puits créé au sein de l'épi via l'ablation de certains épillets de la partie centrale, a été étudié pour les épillets localisés à la base et au sommet de l'épi. Pour cela, les matières sèches totales des grains représentant la partie basale (épillets 1-6), et apicale (épillets 16-21) de l'épi, ont été calculées. La Figure 3-7 compare pour chacune des variétés, (a) la matière sèche totale des grains présents dans la partie basale de l'épi et (b) la matière sèche totale des grains présents dans la partie apicale de l'épi. Les résultats de l'analyse de la variance effectuée par variété, ainsi que les valeurs moyennes sont présentés dans l'Annexe T3-5. Quel que soit le nombre d'épillets retirés, aucune différence significative de matière sèche totale des grains contenus dans les épillets situés dans les parties basale et apicale n'est mise en évidence. Cependant, il est intéressant de noter pour les deux variétés que (i) la matière sèche des grains est en moyenne plus élevée dans la partie basale de l'épi que dans la partie apicale, et (ii) bien que les résultats ne soient pas significatifs (au seuil 5%), la matière sèche totale des grains est plus élevée pour les épis issus des traitements d'ablation (Traitements 8 et 9) que pour les épis intacts (Contrôle), quelle que soit la partie étudiée (Fig. 3-7 ; Annexe T3-5).

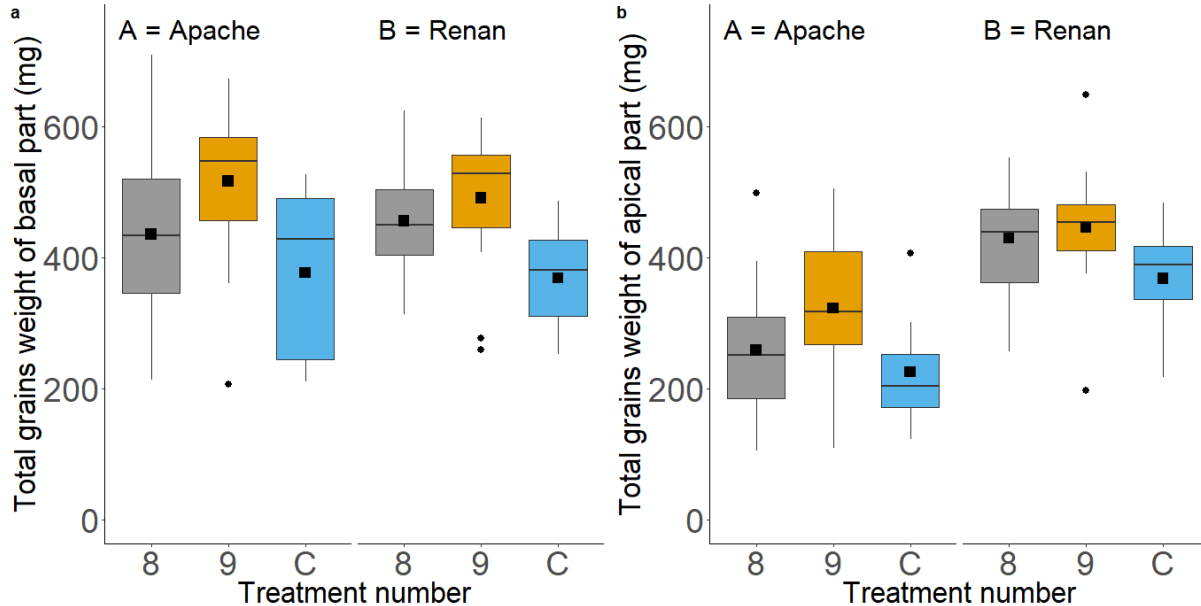


Figure 3-7 : Effets des différents traitements sur (a) la matière sèche totale des grains localisés dans la partie basale de l'épi (épillets 1-6), et (b) la matière sèche totale des grains localisés dans la partie apicale de l'épi (épillets 16-21), pour les deux variétés Apache (A) et Renan (B). Rond noir : observations atypiques, carré noir : moyenne des variables calculées sur 7 à 31 répétitions. Traitement 8 = ablation de 2 épillets, traitement 9 = ablation de 4 épillets, traitement C = Contrôle

IV Discussion

Deux variétés différant en termes de rendement, de composantes de rendement mais aussi en termes de distribution de la matière sèche des grains au sein de l'épi ont été utilisées dans cette étude pour tenter d'apporter de la généricité aux résultats obtenus. De plus, pour limiter les effets liés à la fluctuation des variables de l'environnement et se focaliser sur les processus physiologiques propres à la plante, l'expérimentation a été menée sous serre, en conditions contrôlées. Au cours de cette étude, nous avons montré que, (i) la croissance des grains au sein d'un épillet localisé au centre de l'épi n'était pas contrainte par la présence d'épillets adjacents, et (ii) la diminution du nombre de grains par l'ablation de deux ou quatre épillets entiers n'avait pas affecté la matière sèche totale des grains de l'épi. Dans cette partie, après avoir discuté de l'absence d'effet significatif de l'encombrement inter-épillets, nous allons principalement discuter des effets de la modification du rapport sources-puits via la diminution du nombre de grains au sein de l'épi.

IV.1 Nous n'avons pas mis en évidence d'effet d'encombrement inter-épillet au sein de la partie centrale de l'épi

Une analyse descriptive a été faite sur les contraintes mécaniques existantes au sein de l'épi dont il a été fait depuis longtemps l'hypothèse qu'elles pouvaient impacter la croissance des grains (Boshnakian, 1918). Ces différentes contraintes mécaniques ont été présentées dans le premier chapitre. Dans cette étude, nous avons décidé de tester l'une d'entre elles, à savoir l'encombrement stérique exercé par la position rapprochée des épillets les uns contre les autres, pouvant ainsi limiter l'espace de croissance des grains. L'objectif était donc d'analyser les effets d'encombrement inter-épillets sur la matière sèche des grains contenus dans un épillet situé au centre de l'épi ; dans cette étude l'épillet numéroté 11 en partant de la base de l'épi. Pour cela, trois différentes formes d'encombrement ont été créés dans la partie centrale de l'épi (Fig. 3-1). Au sein de chacune des formes d'encombrement, deux traitements consistant en l'ablation d'un même nombre d'épillets ont été étudiés, le deuxième traitement servant de témoin avec une altération similaire des rapports sources-puits mais sans modification de l'encombrement local.

A notre connaissance, aucune étude sur le blé n'a été effectuée pour tester les effets d'un encombrement stérique inter-épillet au sein de l'épi. Au cours de cette expérimentation, nous avons analysé cet effet sur la partie centrale de l'épi. En effet, les épillets situés dans la partie centrale contenant des grains plus nombreux et plus gros, l'hypothèse d'un encombrement maximal dans cette zone de l'épi semblait logique. Les résultats de l'analyse de la variance n'ont montré aucune différence de matière sèche totale des grains de l'épillet central 11 par rapport aux épis issus des différentes formes d'encombrement (Fig. 3-3a). Ainsi, le retrait d'épillets adjacents ou opposés localisés au centre de l'épi ne modifie pas la matière sèche finale des grains présents au sein de l'épillet central 11. Ce résultat semble donc indiquer une absence de contrainte physique exercée par la présence d'autres épillets dans la partie centrale de l'épi lors du remplissage des grains.

L'absence d'effet de l'encombrement inter-épillet observée dans cette étude n'est pas a priori liée au protocole utilisé. Nous avons en effet réalisé les ablations assez tôt pour qu'une contrainte physique inter-épillet ne soit déjà installée. En effet, un décalage moyen de cinq jours existant entre la floraison de la première et de la dernière fleur au sein d'un épi (Rawson et Evans, 1970 ; Baillot *et al.*, 2018), nous avons décidé de créer les différentes formes d'encombrement $100^{\circ}\text{Cj}^{-1}$ (environ 5 jours) après la floraison de la première fleur afin que la majorité des fleurs constituant l'épi soit fleurie. De plus, Brocklehurst (1977) ayant montré que le nombre de cellules

de l'albumen était corrélé à la matière sèche finale du grain, nous avons effectué les ablations avant que la division cellulaire de l'albumen (se situant entre 50 et 280°Cj⁻¹ après anthèse, Nadaud *et al.*, 2010) ne soit terminée et par conséquent qu'une contrainte physique inter-épillet ne soit déjà possible.

En revanche, l'absence d'encombrement inter-épillet peut être reliée au matériel génétique utilisé. En effet, les variétés utilisées dans cette étude sont issues de nombreux cycles de sélection où les effets d'encombrement ont pu déjà être contre-sélectionnés. Cependant, il existe des variétés connues sous le nom de « blé hérisson » (*Triticum aestivum ssp. compactum*) qui possèdent un allèle spécifique au locus (C) à l'origine d'un épi compact (Johnson *et al.*, 2008). Ces variétés montrent des poids de mille grains faibles qui pourraient être dus à l'effet de la réduction de la longueur des entrenœuds le long du rachis, d'un nombre élevé d'épillets fertiles à l'origine d'une cavité florale plus petite au sein desquelles la croissance des gains serait limitée (Zwer *et al.*, 1995). Cependant, ces variétés de blé hérisson étant très peu cultivées, et commercialisées seulement dans quelques régions du monde (Gul et Allan, 1972), nous avons préféré tester cette hypothèse d'encombrement stérique sur des variétés plus représentatives de l'utilisation actuelle et donc garder des variétés élites de blé tendre. Ce matériel pourrait néanmoins être particulièrement utile dans de possibles études complémentaires visant à hiérarchiser les impacts de l'encombrement stérique avec d'autres formes de contraintes physiques s'exerçant potentiellement sur la croissance du grain.

En effet, d'autres contraintes mécaniques peuvent être à l'origine d'une limitation de la matière sèche des grains au sein de l'épi. Ces différentes contraintes peuvent aussi bien se situer à l'échelle d'un épillet, qu'à l'échelle du grain lui-même. En effet, l'insertion de corps étrangers juste après floraison entre les glumelles (pour le blé, l'orge et l'avoine) ou entre les glumes (pour le riz) entraîne une modification de la taille et de la forme finale des grains (Grafius, 1978; Matsushima, 1966 [cité par Egli *et al.*, 1987]). Cela montre que la masse sèche finale des grains peut être réduite par des contraintes physiques appliquées à floraison. Des résultats similaires ont été mis en évidence chez le soja, à savoir que l'application d'une contrainte physique avant la fin de la croissance de la gousse restreignait la taille finale de la graine (Egli *et al.*, 1987). Il a alors été supposé que les mouvements de l'eau dans la cellule et la division cellulaire était stoppés, diminuant la vitesse d'accumulation de matière sèche et par conséquent la masse finale de la graine. De plus, Millet et Pinthus, (1984b) ont montré que la suppression des glumelles entières,

ou de la moitié des glumes et des glumelles (bractées florales), limitait la matière sèche du grain. D'après eux, le rayonnement lumineux impacterait la rigidité du péricarpe, à l'origine de la diminution de la matière sèche des grains. De plus, bien qu'il soit difficile au sein d'un épillet de différencier l'effet d'une contrainte mécanique d'un effet lié à une compétition pour les assimilats, un encombrement stérique intra-épillet peut exister. En effet, il a été montré que la suppression d'un ou des deux grains proximaux d'un épillet situé au centre de l'épi augmentait, dans certains cas la matière sèche (Radley, 1978; Rawson et Evans, 1970), dans d'autres cas le nombre (Rawson et Evans, 1970) de grains situés en position plus distale au sein du même épillet. Clairement, nos résultats suggèrent que ces formes de contraintes physiques, non étudiées dans la présente étude ont potentiellement un impact plus fort que l'encombrement stérique inter-épillets et nécessitent sans doute d'être examinées spécifiquement.

IV.2 La modification de l'équilibre sources-puits au sein d'un épi

Le deuxième objectif de ce chapitre était d'étudier pour chacune des deux variétés, l'effet des modifications du rapport sources-puits au sein de l'épi sur la matière sèche des grains restants. Analysés avec ce prisme, et de manière à pouvoir comparer nos résultats avec ceux de la littérature, les traitements utilisés dans notre étude ont généré des modifications très sensibles de ce rapport avec des diminutions de 10% et 20% du nombre total d'épillets pour les épis issus des traitements T8 et T9 respectivement.

IV.2.1 Pas de différence de matière sèche totale des grains entre les différents traitements

L'étude de la matière sèche totale des grains de l'épi ne montre pas de différence significative entre les épis issus des traitements d'encombrement et les épis intacts (Fig. 3-4). Ainsi, la suppression de deux (Traitement 8) ou quatre épillets (Traitement 9) n'a pas impacté la matière sèche totale des grains de l'épi (Fig. 3-4). Il existe au sein de la littérature des résultats contradictoires, montrant dans certains cas que la suppression de deux, quatre ou de la moitié des épillets (Walpole et Morgan, 1973; Ma *et al.*, 1990; 1996), entraîne une augmentation de la matière sèche des autres grains de l'épi, et dans d'autres cas, que la suppression de la moitié des épillets de l'épi ne modifie pas la matière sèche des grains restants (Slafer et Miralles, 1992; Slafer et Savin, 1994; Ma *et al.*, 1995; Miralles et Slafer, 1995). Ainsi, ces résultats contrastés montrent que l'effet de la modification du rapport sources-puits au sein de l'épi via l'ablation d'épillets entiers,

sur la matière sèche des grains restants est sensible au nombre d'épillets enlevés et à la variété utilisée. En effet, Ma *et al.* (1996) ont étudié pour six variétés différentes, l'effet de la suppression de 25%, 50% et 75% des épillets sur la matière sèche des grains restants au sein de l'épi. Deux principaux résultats ont été mis en évidence : (i) quel que soit le nombre d'épillets retirés au sein de l'épi, la matière sèche des grains restants n'a pas été augmentée pour deux variétés qualifiées « d'insensibles » aux modifications de l'équilibre sources-puits au sein de l'épi, et (ii) pour les variétés qualifiées de « sensibles » aux modifications du rapport sources-puits, l'augmentation de la matière sèche des grains restants est dépendante du nombre d'épillets supprimés et est sensible dès 25%. Ainsi, la suppression de 75% des épillets des variétés « sensibles » n'a pas augmenté la matière sèche des grains restants, suggérant dans ce cas-là une limitation de par la taille potentielle des grains (Ma *et al.*, 1996). Ce résultat est en accord avec ceux de Martinez-Carrasco *et al.* (1988) qui, en supprimant 50% des épillets de l'épi, ont montré une augmentation de la matière sèche des grains restants pour seulement deux variétés sur les trois étudiées.

Les résultats de notre étude indiquent que les deux variétés utilisées sont sensibles à la suppression de 10% ou 20% des épillets de l'épi. Ainsi, la suite de la discussion s'appliquera à déterminer dans quelle partie de l'épi la quantité supplémentaire de carbone a-t-elle été assimilée.

IV.2.2 Étude de la matière sèche des grains en fonction de leur position le long de l'épi

La modification du rapport sources-puits a tout d'abord été étudiée de manière précise pour l'épillet central 11. Pour cela, trois variables ont été calculées : la matière sèche totale des grains, la matière sèche des deux grains proximaux, et la matière sèche des grains distaux. Quelle que soit la variable étudiée, aucune différence significative n'a été observée entre les épis issus des traitements d'ablations et les épis témoins (Fig. 3-5 ; Annexe T3-3). Ce résultat est en accord avec celui de Slafer et Miralles (1992) qui ont montré pour une seule variété de blé, que la suppression de 50% des épillets situés dans la partie apicale de l'épi n'avait pas d'effet sur les grains proximaux des épillets situés dans la partie centrale de l'épi. Des résultats contrastés ont toutefois été observés par Martinez-Carrasco *et al.* (1988), à savoir que les effets sur la matière sèche des grains proximaux des épillets centraux, après la suppression de 50% des épillets situés dans la partie apicale de l'épi, étaient différents selon la variété étudiée. Dans notre étude, quelle que soit la variété étudiée, la diminution du nombre de grains par épi, et par conséquent l'augmentation de la

quantité d'assimilats disponible pour le remplissage des grains restants, n'a pas modifié la quantité de matière sèche des grains de l'épillet central. Ainsi, pour les deux variétés utilisées dans cette étude, on pourrait supposer que les grains proximaux et distaux de l'épillet central numéroté 11 ont atteint leur poids maximal, et le surplus d'assimilats disponible pour la croissance de ces grains n'a pas été utilisé. Cependant, au cours de notre expérimentation, nous avons également observé que dans certains cas l'avortement d'un grain en position proximale (grain 1 ou 2), entraînait une augmentation de la matière sèche du grain suivant (grain 2 ou 3) (données non montrées). Ainsi, il est peu probable que les grains en position distale au sein d'un épillet situé au centre de l'épi aient atteint leur taille potentielle maximale.

Dans un deuxième temps, la matière sèche des grains a été étudiée dans la partie centrale de l'épi. Les différentes ablations ayant été effectuées au sein de la partie centrale de l'épi, et pour permettre une comparaison entre les différents traitements effectués (suppression de deux ou quatre épillets), une moyenne par épillet de la matière sèche totale des grains a été calculée pour les deux variétés (Fig. 3-6). Les résultats n'ont montré aucune différence significative entre les épis issus des différents traitements et les épis intacts (Annexe T3-4). Ainsi, il semblerait que le même schéma que celui décrit pour l'épillet central 11 soit observé, indiquant donc que les grains proximaux des épillets situés au centre de l'épi ont atteint leur taille potentielle maximale.

Enfin, la matière sèche totale des grains situés dans les parties basale et apicale a été étudiée en fonction des différents traitements pour les deux variétés (Fig. 3-7). Tout d'abord, nous avons confirmé que la quantité de matière sèche des grains situés dans la partie basale de l'épi est supérieure à celle des grains de la partie apicale, quels que soient le traitement et la variété étudiés. De plus, bien que les résultats ne soient significativement pas différents (au seuil 5%), une tendance à l'augmentation de la masse des grains est observée dans les deux parties de l'épi de chacune des deux variétés lorsque le rapport sources-puits est modifié. En effet, plus le nombre d'épillets retirés est grand, plus la masse des grains localisés dans les parties basale et apicale augmente.

De manière globale, nos résultats montrent que l'ablation de 2 ou 4 épillets de la partie centrale de l'épi entraîne une redistribution de la matière sèche préférentiellement vers les parties basales et dans une moindre mesure apicale de l'épi. Nous avons formulé l'hypothèse que les grains proximaux des épillets centraux étaient proches de leur taille maximale et ne pouvaient donc

profiter des assimilats supplémentaires générés par la diminution du nombre de puits engendrée par l'ablation de certains épillets. En revanche, comme discuté plus haut, les grains distaux de ces mêmes épillets ne sont pas à leur taille maximale. Ces grains semblent en effet pouvoir profiter de modifications des puits au sein de leur épillet comme démontré par leur augmentation de masse en cas d'avortement d'un des grains proximaux. Dans ce cas, quelles règles allocatives pouvons-nous formuler pour expliquer que des grains possédant a priori un fort potentiel de croissance (les grains distaux des épillets centraux) ne puissent profiter d'une augmentation de la quantité d'assimilats supplémentaire contrairement à des grains plus lointains sur l'épi et appartenant à des épillets à la force de puits plus faible ? Dans ce cadre, nous proposons que l'allocation apparente de masse entre grains est la propriété émergente de forces de puits relatives mais qui s'expriment de manière différente entre épillets et entre grains du même épillet. Cette hypothèse revient à postuler que les épillets centraux ont une force de puits certes plus forte que les autres épillets mais que l'afflux d'assimilats généré est déjà maximisé en conditions témoins. Des modifications internes à cet épillet (avortement d'un grain proximal par exemple) engendrent des modifications des grains distaux mais sur la base d'un flux d'assimilat constant à l'échelle de l'épillet. De plus, nous faisons l'hypothèse que les épillets basaux et apicaux de l'épi, en condition témoin, ont un flux d'assimilats à l'échelle de l'épillet qui ne maximise pas la demande potentielle. La modification du rapport sources-puits à l'échelle de l'épi engendre donc une augmentation de masse des grains qui les composent. Cette hypothèse nécessite bien sûr d'identifier des processus pouvant expliquer comment l'entrée d'assimilats au sein d'un épillet central peut atteindre un maximum alors qu'il existe une limitation pour les grains distaux qui le composent. Cette hypothèse est cohérente avec les résultats obtenus dans le chapitre précédent et qui montrent qu'un apport d'azote a augmenté en priorité la matière sèche des grains situés dans les épillets basaux.

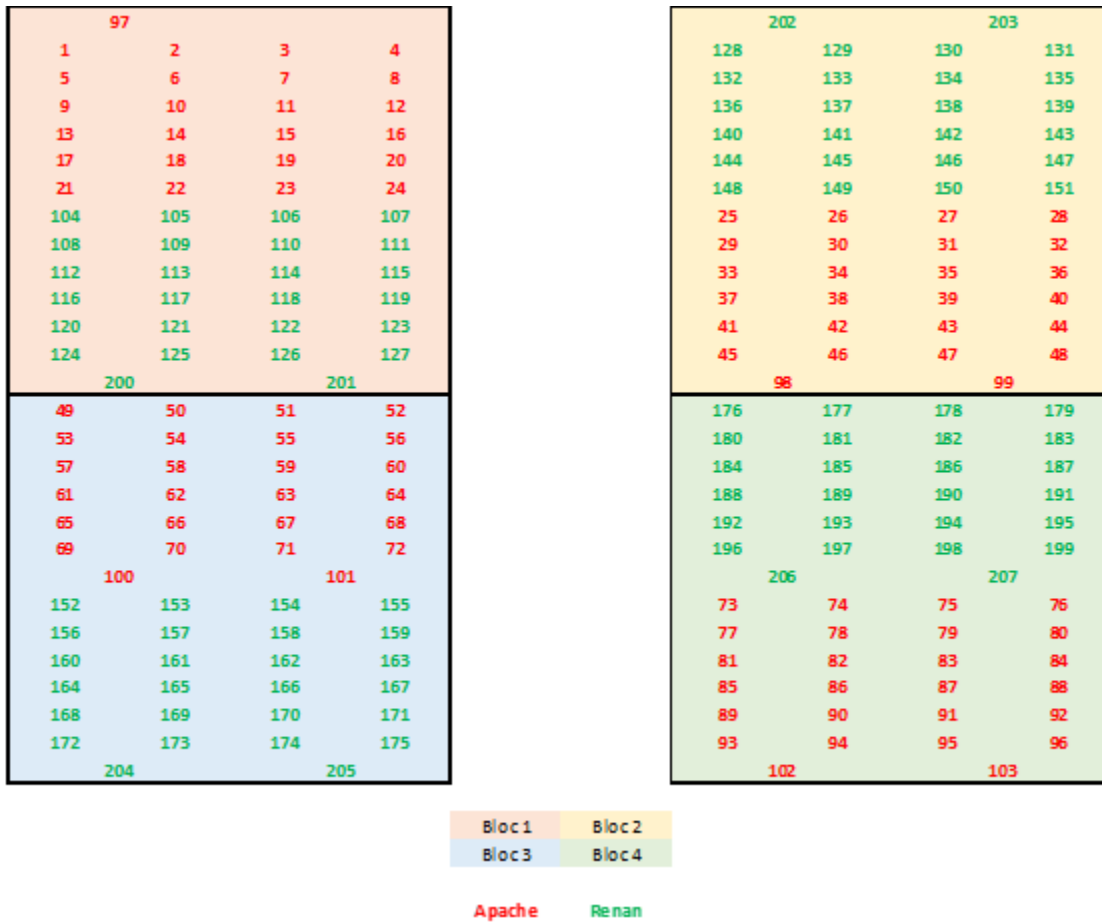
Il reste que nos résultats soulignent de plus la différence de force de puits existant entre les parties apicale et basale de l'épi. Nous nous proposons dans le chapitre suivant de tenter d'identifier l'origine des différences de force de puits observées en nous attachant à suivre les cinétiques de remplissage des grains en fonction de leur position au sein de l'épi.

REFERENCES

- Baillet N., Girousse C., Allard V., Piquet-Pissaloux A., and Le Gouis J.,** 2018. “Different Grain-Filling Rates Explain Grain-Weight Differences along the Wheat Ear.” *PLoS ONE* 13 (12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209597>
- Boshnakian S.,** 1918. “The Mechanical Factors Determining the Shape of the Wheat Kernel.” *Agronomy Journal* 10 (5): 205–9. <https://doi.org/10.2134/agronj1918.00021962001000050003x>.
- Brocklehurst P. A.,** 1977. “Factors Controlling Grain Weight in Wheat.” *Nature* 266 (5600): 348. <https://doi.org/10.1038/266348a0>.
- Egli D. B., Duncan W. G., and Crafts-Brandner S. J.,** 1987. “Effect of Physical Restraint on Seed Growth in Soybean 1.” *Crop Science* 27 (2): 289–94. <https://doi.org/10.2135/cropsci1987.0011183X002700020034x>.
- Grafius J. E.,** 1978. “Multiple Characters and Correlated Response.” *Crop Science (USA)* 18 (6): 931–34. <https://doi.org/10.2135/cropsci1978.0011183X001800060004x>.
- Gul A., and Allan R. E.,** 1972. “Relation of the Club Gene with Yield and Yield Components of Near-Isogenic Wheat Lines 1.” *Crop Science* 12 (3): 297–301. <https://doi.org/10.2135/cropsci1972.0011183X001200030013x>.
- Johnson E. B., Nalam V. J., Zemetra R. S., and Riera-Lizarazu O.,** 2008. “Mapping the Compactum Locus in Wheat (*Triticum aestivum* L.) and Its Relationship to Other Spike Morphology Genes of the *Triticeae*.” *Euphytica* 163 (2): 193–201. <https://doi.org/10.1007/s10681-007-9628-7>.
- Ma Y. Z., MacKown C. T., and Van Sanford D. A.,** 1990. “Sink Manipulation in Wheat: Compensatory Changes in Kernel Size.” *Crop Science (USA)*. <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US9100925>.
- Ma Y. Z., MacKown C. T., and Van Sanford D. A.,** 1995. “Kernel Mass and Assimilate Accumulation of Wheat: Cultivar Responses to 50% Spikelet Removal at Anthesis.” *Field Crops Research* 42 (2): 93–99. [https://doi.org/10.1016/0378-4290\(95\)00027-N](https://doi.org/10.1016/0378-4290(95)00027-N).
- Ma Y. Z., MacKown C. T., and Van Sanford D. A.,** 1996. “Differential Effects of Partial Spikelet Removal and Defoliation on Kernel Growth and Assimilate Partitioning among Wheat Cultivars.” *Field Crops Research* 47 (2): 201–9. [https://doi.org/10.1016/0378-4290\(96\)00016-0](https://doi.org/10.1016/0378-4290(96)00016-0).
- Martinez-Carrasco R., Pérez P., Martín Del Molino I., Ulloa M., and Rojo B.,** 1988. “Regulation of Grain Weight by Supply of Assimilates and Starch Granule Development in Three Winter Wheat Varieties.” *Journal of Experimental Botany* 39 (209): 1723–33.
- Matsushima S.,** 1966. “Theory of yield determination and its application.” *Crop science in rice*. Fuji, Tokyo. 365.
- Millet E.,** 1986. “Relationships Between Grain Weight and the Size of Floret Cavity in the Wheat Spike.” *Annals of Botany* 58 (3): 417–23

- Millet E., and Pinthus M. J.**, 1984a. “The Association between Grain Volume and Grain Weight in Wheat.” *Journal of Cereal Science* 2 (1): 31–35. [https://doi.org/10.1016/S0733-5210\(84\)80005-3](https://doi.org/10.1016/S0733-5210(84)80005-3).
- Millet E., and Pinthus M. J.**, 1984b. “Effects of Removing Floral Organs, Light Penetration and Physical Constraint on the Development of Wheat Grains.” *Annals of Botany* 53 (2): 261–70. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a086687>.
- Miralles D. J., and Slafer G. A.**, 1995. “Individual Grain Weight Responses to Genetic Reduction in Culm Length in Wheat as Affected by Source-Sink Manipulations.” *Field Crops Research* 43 (2): 55–66. [https://doi.org/10.1016/0378-4290\(95\)00041-N](https://doi.org/10.1016/0378-4290(95)00041-N).
- Nadaud I., Girousse C., Debiton C., Chambon C., Bouzidi M. F., Martre P., and Branlard G.**, 2010. “Proteomic and Morphological Analysis of Early Stages of Wheat Grain Development.” *Proteomics* 10 (16): 2901–10. <https://doi.org/10.1002/pmic.200900792>.
- Radley M.**, 1978. “Factors Affecting Grain Enlargement in Wheat.” *Journal of Experimental Botany* 29 (4): 919–34. <https://doi.org/10.1093/jxb/29.4.919>.
- Rawson H. M., and Evans L. T.**, 1970. “The Pattern of Grain Growth within the Ear of Wheat.” *Australian Journal of Biological Sciences* 23 (4): 753. <https://doi.org/10.1071/BI9700753>.
- Setter T. L, Carlton G.**, 2000. Germination, vegetative and reproductive growth. The wheat book: Principles and practice. Editions Anderson WK, Garlinge JR, 37-54.
- Slafer G. A., and Miralles D. J.**, 1992. “Green Area Duration during the Grain Filling Period of an Argentine Wheat Cultivar as Influenced by Sowing Date, Temperature and Sink Strength.” *Journal of Agronomy and Crop Science* 168 (3): 191–200. <https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.1992.tb00998.x>.
- Slafer G. A., and Savin R.**, 1994. “Source-Sink Relationships and Grain Mass at Different Positions within the Spike in Wheat.” *Field Crops Research* (Netherlands). <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=NL9403539>.
- Walpole P. R., and Morgan D. G.**, 1973. “The Effects of Floret Sterilization on Grain Number and Grain Weight in Wheat Ears.” *Annals of Botany* 37 (5): 1041–48. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a084768>.
- Zwer P. K., Sombrero A., Rickman R. W., and Klepper B.**, 1995. “Club and Common Wheat Yield Component and Spike Development in the Pacific Northwest.” *Crop Science* 35 (6): 1590–97. <https://doi.org/10.2135/cropsci1995.0011183X003500060012x>.

ANNEXES



Annexe F3-1 : Dispositif expérimental de l'essai mené en serre à Clermont-Ferrand en 2017.
 Chaque numéro correspond à un pot contenant trois plantes d'une même variété. Les pots de la variété Apache sont numérotés en rouge, ceux de la variété Renan en vert.

Annexe T3-1 : Effet des différents traitements sur la matière sèche totale des grains de l'épillet 11 (TGW), la matière sèche des deux grains proximaux (GWP), le nombre de grains en positions distales (GND) ainsi que la matière sèche des grains en positions distales (GWD), pour les deux variétés Apache et Renan. Les valeurs sont des moyennes et des écarts types (SD) calculées sur huit répétitions. Les moyennes suivies par la même lettre au sein d'une ligne ne sont significativement pas différentes selon un test post-hoc de Newman-Keuls. Les traitements sont décrits dans la partie Matériel et Méthodes.

Variables	Apache							Renan						
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	C	T1	T2	T3	T4	T5	T6	C
TGW (mg)	87 ^a	85 ^a	98 ^a	111 ^a	118 ^a	108 ^a	89 ^a	125 ^a	130 ^a	118 ^a	112 ^a	131 ^a	131 ^a	112 ^a
<i>SD</i>	18.7	15.5	14.7	34.0	42.5	28.6	30.6	21.8	3.2	28.2	26.8	11.8	27.3	24.3
GWP (mg)	75 ^a	77 ^a	88 ^a	87 ^a	86 ^a	87 ^a	72 ^a	96 ^a	95 ^a	81 ^a	92 ^a	100 ^a	94 ^a	88 ^a
<i>SD</i>	5.7	18.7	9.0	13.4	20.5	7.4	15.6	8.2	2.3	26.2	12.8	5.6	18.4	15.6
GND	0.4 ^a	0.5 ^a	0.4 ^a	0.9 ^a	0.8 ^a	0.4 ^a	0.5 ^a	0.8 ^a	1.0 ^a	1.0 ^a	0.8 ^a	1.0 ^a	1.0 ^a	0.9 ^a
<i>SD</i>	0.5	0.5	0.5	0.8	0.7	0.5	0.5	0.4	0.0	0.0	0.4	0.0	0.0	0.3
GWD (mg)	12 ^a	15 ^a	11 ^a	29 ^a	32 ^a	18 ^a	18 ^a	30 ^a	35 ^a	35 ^a	26 ^a	30 ^a	36 ^a	25 ^a
<i>SD</i>	17.1	17.8	17.2	22.1	25.8	22.3	19.6	14.4	1.72	6.39	17.8	11.4	9.1	12.7

Annexe T3-2 : Effet des différents traitements sur la matière sèche totale des grains de l'épi (GW_E) pour les deux variétés Apache et Renan. Les valeurs sont des moyennes et des écarts types (SD) calculées sur 7 à 31 répétitions. Les moyennes suivies par la même lettre au sein d'une ligne ne sont significativement pas différentes selon un test post-hoc de Newman-Keuls. Les traitements sont décrits dans la partie Matériel et Méthodes.

Variété	Apache			Renan		
Traitement	T8	T9	C	T8	T9	C
GW_E (mg)	1329 ^a	1298 ^a	1364 ^a	1684 ^a	1522 ^a	1683 ^a
SD	323	322	412	251	267	334

Annexe T3-3 : Effet des différents traitements sur la matière sèche totale des grains de l'épillet 11 (TGW), la matière sèche des deux grains proximaux (GWP) ainsi que la matière sèche des grains en positions distales (GWD), pour les deux variétés Apache et Renan. Les valeurs sont des moyennes et des écarts types (SD) calculées sur 7 à 31 répétitions. Les moyennes suivies par la même lettre au sein d'une ligne ne sont significativement pas différentes selon un test post-hoc de Newman-Keuls. Les traitements sont décrits dans la partie Matériel et Méthodes.

Variété	Apache			Renan		
Traitement	T8	T9	C	T8	T9	C
TGW (mg)	96 ^a	110 ^a	89 ^a	122 ^a	132 ^a	112 ^a
SD	26	35	31	22	21	24
GWP (mg)	79 ^a	85 ^a	71 ^a	92 ^a	98 ^a	88 ^a
SD	16	15	16	16	14	16
GWD (mg)	17 ^a	25 ^a	18 ^a	30 ^a	34 ^a	25 ^a
SD	20	24	20	13	11	13

Annexe T3-4 : Effet des différents traitements sur la moyenne de la matière sèche totale des grains par épillet de la partie centrale de l'épi (MGW_CP) pour les deux variétés Apache et Renan. Les valeurs sont des moyennes et des écarts types (SD) calculées sur 7 à 31 répétitions. Les moyennes suivies par la même lettre au sein d'une ligne ne sont significativement pas différentes selon un test post-hoc de Newman-Keuls. Les traitements sont décrits dans la partie Matériel et Méthodes.

	Apache			Renan		
	T8	T9	C	T8	T9	C
MGW_CP	93 ^a	102 ^a	87 ^a	115 ^a	122 ^a	105 ^a
(mg)						
SD	20	25	26	17	21	21

Annexe T3-5 : Effet des différents traitements sur la matière sèche totale des grains présents dans la partie basale de l'épi (TGW_BP) et la matière sèche totale des grains présents dans la partie apicale de l'épi (TGW_AP), pour les deux variétés Apache et Renan. Les valeurs sont des moyennes et des écarts types (SD) calculées sur 7 à 31 répétitions. Les moyennes suivies par la même lettre au sein d'une ligne ne sont significativement pas différentes selon un test post-hoc de Newman-Keuls. Les traitements sont décrits dans la partie Matériel et Méthodes.

	Apache			Renan		
	T8	T9	C	T8	T9	C
TGW_BP						
(mg)	423 ^a	490 ^a	362 ^a	451 ^a	479 ^a	373 ^a
<i>SD</i>	130	121	139	86	110	82
TGW_AP						
(mg)	253 ^a	311 ^a	214 ^a	427 ^a	428 ^a	373 ^a
<i>SD</i>	88	112	97	76	96	84

Chapitre 4 :
**Different grain-filling rates
explain grain-weight
differences along the wheat
ear**

I Introduction

Grain yield of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) can be decomposed into two main components: (i) the number of grains per square meter, which is determined before anthesis and (ii) the thousand grain weight (TGW), which is determined during grain filling. Although grain number per square meter has been identified as the main driver of yield variability [1, 2], there is an urgent need to better understand the sources of variation in TGW because climate change may well lead to increases in abiotic stress during grain filling [e.g. 3, 4].

The TGW is generally calculated at the scale of a plot and represents the mean of many individual grain weights. However, wide variability exists in individual grain weight, and this variability has implications for commercial value [5]. It has been proposed that part of the genetic improvement of TGW may rely on a putative genetic variability associated with individual grain-weight distribution within the ear [6]. To pursue a strategy of genetic improvement of TGW based on individual grain-weight variation, requires a better understanding of the ecophysiological mechanisms associated with this variation.

The final grain weight is determined during grain filling, from anthesis to maturity. Grain filling is considered to occur during three sequential phases of grain development: cell division, grain dry matter accumulation and grain maturation and desiccation [7]. While the kinetics of grain filling has been described for a number of species, there is still debate as to whether the main driver for final grain weight difference, is the duration of grain filling or the rate of grain filling. Some authors have observed strong correlations between final grain weight and the duration of grain development - in corn [8, 9] and in durum wheat [10]. Conversely, for pearl millet [11], rice [12] and bread wheat [13, 14, 15, 16], differences in final grain weight have been attributed to differences in grain filling rate.

A weakness of some of these studies is they have focused on specific grains, generally located in the central part of the ear. They have not taken into account developmental variability within the ear and the possible effects of an associated grain-weight distribution. As already noted, significant variability exists in individual grain weight within the ear. This variability originates from two distinct gradients. First, it is generally true that spikelets in the central part of the ear tend to bear heavier grains than those in the basal and apical parts [17, 18, 19, 20]. Second, differences have also been observed when comparing proximal and distal grains in a spikelet [6, 15, 21]. In the spikelet, the grain weight gradient is also a matter of uncertainty. Some authors report that the

second grain in a spikelet is heavier than the proximal grain and also than the more distal ones [13, 16, 17, 19, 20, 21, 22]. Conversely, Herzog and Stamp [20] found the proximal grain to be generally heavier than the one in the second position within a spikelet, while Feng et al. [6] reported no significant weight differences between these positions. However, most of the above studies were largely descriptive and did not propose candidate processes that might explain the observed differences in grain weight.

Reports that focus on the effects of grain spatial position within the ear on grain growth and employing kinetic growth analysis are scarce and they often lead to conflicting hypotheses. Miralles and Slafer [15] found that differences in final grain dry matter depended mainly on the rate of grain development and this varied with position in the ear. Bremner [18] and Herzog and Stamp [20] concluded that both the rate and the duration of grain development were influenced by grain position. Nevertheless, the methods used in these studies do not take into account processes that may be important. In particular, the flowering time of each floret and the carpel weight at anthesis were not taken into account as putative co-variables. For example, individual grain flowering time is subject to the same two gradients as described above. Thus Rawson and Evans [17] show that florets in the centre of the ear reach anthesis first, followed by the more distal florets, one day later, and then the more proximal florets, three days later. Moreover, within a spikelet, as many as four days can elapse between the anthesis of the first and last florets [17]. Moreover, carpel size also affects final grain weight, with carpel size within spikelets in the central part of the ear being positively correlated with final grain weight [13, 16, 22]. A recent study also showed that the larger the carpel, the faster the rate of grain growth and grain filling, these resulting in heavier grains [16]. However, these studies did not correlate spikelet position along the ear with carpel size. Carpel size differences may well be a cause of the grain weight differences found in different parts of the ear.

Thus, although the literature offers good information on the spatial variability of individual grain weight within the ear and on the growth dynamics of specific grains, it lacks more detailed analyses of grain growth dynamics in different regions of the ear and of the spikelet. Only a few studies attempt this [15, 18, 20] but the methods did not allow robust statistical comparison to be made of the kinetic parameters of grains in the different ear parts.

Our objective was to identify the factors determining individual grain weight variation both along the ear and within the spikelet by measuring four major traits: the timing of floret anthesis, the carpel weight at anthesis, and the rate and duration of grain development. To do this we characterised the growth dynamics of grains located in different parts of the ear using two cultivars of greenhouse-grown bread wheat.

II Materials and methods

II.1 Experimental Design

We selected two winter wheat cultivars registered in France known to differ in grain yield and its components from a field experiment conducted in 2014 in Clermont-Ferrand, France (S4-1 Table). The first, Apache, is characterised by having higher values for grain yield, ear number per plant, grain number per ear and spikelet number per ear than the second, Renan, which is characterised by having higher values for TGW.

The experiment was conducted in a greenhouse between January and July 2017 at the INRA, Clermont-Ferrand (45°78' N, 3°08' E, 401 m a.s.l). Two weeks after germination, plants were vernalised for eight weeks at 5°C before transplanting. Three plants of the same cultivar were transplanted into 4 L plastic pots (18.8 cm diameter × 21.8 cm height) filled with a compost enriched with 2.5 kg m⁻³ of fertiliser 9-12-16 (N-P-K), and iron (Fe).

Plants were grown at regulated day/night air temperatures of 18/15°C and under natural daylight supplemented to a photoperiod of 16 h of daylight using 400 W sodium vapour lamps. Water and nutrient solution were provided to excess twice a day. From transplanting to maturity, air temperature, relative humidity and photosynthetically active radiation (PAR) were recorded every fifteen minutes using eight CR 1000 dataloggers (Campbell Scientific, Logan, UT, USA) placed uniformly within the greenhouse to capture any putative environmental gradients. Environmental data during the experiment are presented in S4-1 Fig.

The trial was arranged in a block design, each of the four blocks consisting of 52 pots (26 pots per cultivar).

II.2 Plant sampling and measurements

II.2.1 Flowering time along the ear

Ten plants per cultivar with the same number of spikelets on their main stems (n=22 for Apache and n=20 for Renan) taken from the four blocks were retained to study the flowering times of the various florets according to the positions of the spikelets within the ears and of the florets within the spikelets. The flowering time of each floret was recorded as when the three anthers were extruded. The position of each spikelet within the ear was recorded by numbering sequentially from base to apex. Within a spikelet, the first floret was that nearest the rachis and the last (3rd or 4th depending on the cultivar) was the most distant.

To allow comparison between ears, the flowering time of each floret was standardised by expressing it as a thermal time difference ($^{\circ}\text{Cdays}^{-1}$; base temperature 0°C) relative to the flowering time of the earliest floret of the ear. These values were averaged over the ten replicates (ten ears per cultivar).

II.2.2 Grain dry matter accumulation

During booting, the main tiller of each plant was identified and tagged. At ear emergence, the spikelet number of each tagged ear was recorded. To minimise variability linked with ear size variation, only plants that displayed the median number of spikelets on the main tiller for each cultivar were selected and used for the rest of the study. For Renan, plants with 20 spikelets per ear were selected, while for Apache (to reach a sufficient sample size) plants with 21 or 22 spikelets per ear were selected.

The dynamics of grain filling was studied for grains that belonged to spikelets in specific parts of the ear. Ears were considered to contain three parts - basal, central and apical. Each part was represented by two spikelets. For a given number of spikelets per ear (n), and numbering spikelet positions from ear base to apex, ear parts were defined as (Fig 4-1):

- basal = 3rd and 4th spikelets;
- central = $\lfloor \frac{n}{2} \rfloor^{\text{th}}$ and $(\lfloor \frac{n}{2} \rfloor + 1)^{\text{th}}$ spikelets;
- apical = $(n-3)^{\text{th}}$ and $(n-2)^{\text{th}}$ spikelets.

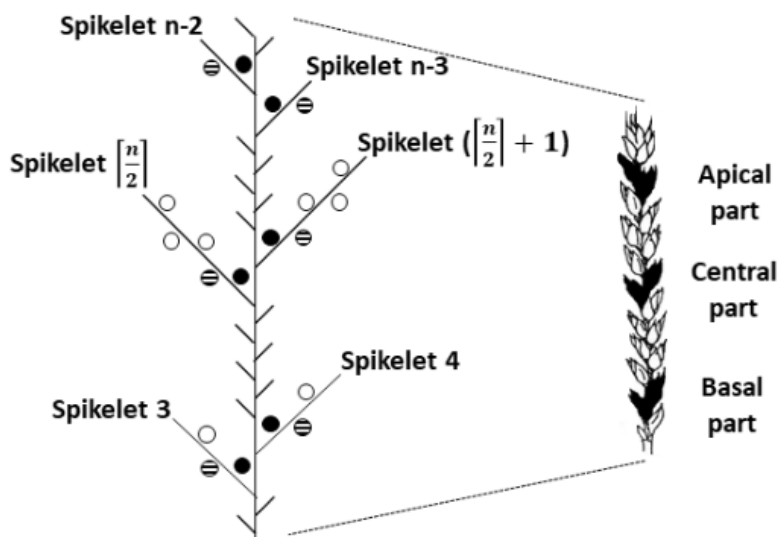


Figure 4-1: Schematic of a wheat ear at maturity indicating the positions of the spikelets and grains studied. Black circles: grain in first position; striped circles: grain in second position; open circles: other grains. n indicates the total number of spikelets.

Grain filling dynamics were studied by carrying out a number of samplings from anthesis to maturity. To obtain a clear view of the initial state of the grains, and because flowering time varied between ear parts, the first sampling (at $0\text{ }^{\circ}\text{Cdays}^{-1}$) was specific to each part. Three separate samples were taken when florets in the central, apical and basal parts reached anthesis, respectively. Each sample was made up from eight tagged ears, by collecting the two proximal grains, of the two spikelets, of each ear part.

After anthesis, subsequent samplings were carried out about every four days until maturity. Grains were collected at 17 different developmental stages for Apache and at 13 for Renan. These samplings were again made on eight tagged ears per cultivar and of grains collected as above. After sampling, each grain was oven dried to constant weight at 60°C for two days and weighed with a precision balance with 0.001 mg precision (Mettler-Toledo AX205 DR, Switzerland).

II.2.3 2.2.3 Statistical analysis

For each grain position in the ear, the different grain-filling parameters were estimated by fitting a three-parameter logistic model, which has been demonstrated as an adequate model to describe the grain development [23]:

$$Y = \frac{Y_m}{1 + \left(\frac{Y_m - Y_0}{Y_m}\right) \exp^{-\mu t}} \quad (\text{Eq. 1})$$

Where Y is the individual grain dry weight (mg), Y_m is the final grain weight (the upper asymptote), Y_0 is the grain weight at flowering (the lower asymptote) and μ is a time constant parameter ($^{\circ}\text{Cdays}^{-1}$). Time t was expressed as the thermal time after flowering ($^{\circ}\text{Cdays}^{-1}$). The duration of grain filling, D ($^{\circ}\text{Cdays}^{-1}$) was calculated by solving the Eq. 1 when Y reached 95% of the upper asymptote (Y_m). Therefore, D was calculated as:

$$D = \ln \left(19 \left(\frac{Y_m}{Y_0} - 1 \right) \right) \quad (\text{Eq. 2})$$

The mean grain filling rate, R_{mean} ($\text{mg} \cdot ^{\circ}\text{Cdays}^{-1}$) was then calculated by dividing the estimated final grain dry weight from Eq. 1 by the grain-filling duration calculated from Eq. 2:

$$R_{mean} = \frac{Y_m}{D} \quad (\text{Eq. 3})$$

The maximal grain filling rate, R_{max} ($\text{mg} \cdot ^{\circ}\text{Cdays}^{-1}$) was equal to the first derivative of Eq. 1 at the time which the second derivative was equal to 0. It was calculated by solving the following equation as described by Robert et al. [23]:

$$R_{max} = \frac{(Y_m \times \mu)}{4} \quad (\text{Eq. 4})$$

For each cultivar, analyses of variance (ANOVA) were carried out separately to study the effects of spikelet position (basal, central and apical) on the different grain filling parameters. The ANOVAs were carried out using the mixed-effects model:

$$Y_{ij} = \mu + EP_i + b_j + \epsilon_{ij} \quad (\text{Eq. 5})$$

Where Y_{ij} is the trait value for ear part i in block j , μ is the general mean, EP_i is a fixed factor representing the different parts of the ear, b_j a random factor representing the block and ϵ_{ij} is the residual error term. After each ANOVA, multiple comparison tests (Newman-Keuls) were carried out. To explore correlations between grain filling parameters and final grain weight, Pearson correlation coefficients were calculated.

Similarly, the effects on flowering time of grain positions within-ear and within-spikelet were explored by ANOVA using the mixed-effects model:

$$Y_{ijk} = \mu + SP_i + GP_j + SP_i \times GP_j + b_k + \epsilon_{ijk} \text{ (Eq.6)}$$

Where Y_{ijk} is the trait value for grain j in spikelet i and block k , μ is the general mean, SP_i is the first fixed factor representing the spikelet position within the ear, GP_j is the second fixed factor representing the grain position within the spikelet, b_k is a random factor representing the block and ϵ_{ijk} is the residual error term.

All statistical analyses were carried out using the computing environment R v3.4.1 (R Core Team, 2017).

III Results

III.1 Yield components of the two cultivars

The two cultivars, Apache and Renan, were chosen because a previous field experiment revealed they possessed contrasting yield components. The mean values of the yield components for the two cultivars under field conditions and in the present greenhouse study are shown in S4-1 Table. Under field conditions, compared with Renan, Apache had significantly more spikelets and grains per ear but a lower TGW. The cultivar differences were less marked under greenhouse conditions, with the exception that the number of ears per plant was increased, likely due to a higher plant density. Nevertheless, the trends were similar. Thus, we believe these two cultivars offer a useful example of contrasting grain-set strategies and this may help expand the usefulness of the results.

III.2 Flowering pattern along the ear for the two cultivars

To obtain a synoptic understanding of the flowering pattern at the ear scale, flowering time was recorded individually for all florets of ten main ears of the two cultivars. Note that the number of fertile florets varied between positions and with genotype (S4-2 Fig). The maximum numbers of florets per spikelet were four for Apache and three for Renan. Moreover, the numbers of spikelets where a third floret was present was lower in Renan than in Apache. These two traits led to Renan bearing a smaller number of potential grains. As expected, the number of florets per spikelet decreased drastically from the central part of the ear to the basal and apical parts (S4-2 Fig).

Average profiles of flowering time for each floret position within the ear and within the spikelet are shown in Fig 4-2. The spatial flowering pattern followed two gradients.

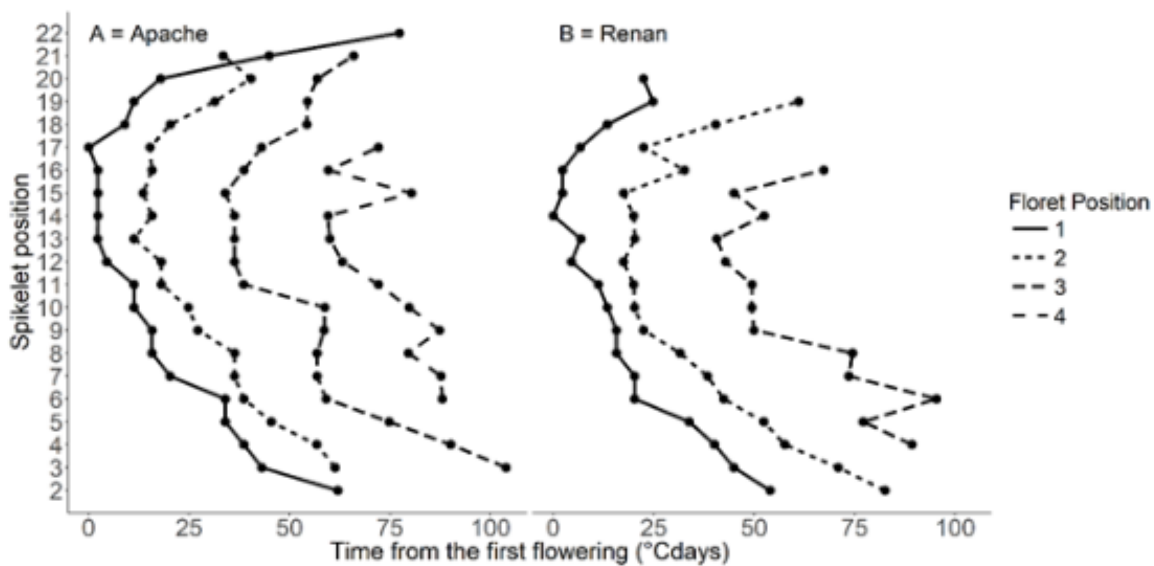


Figure 4-2: Average flowering time shift in relation to spikelet position in the ear and to floret position within the spikelet for cultivars Apache (A) and Renan (B). Position in the ear is numbered from base to tip and position within the spikelet is numbered from nearest to the rachis to the most distant. For each cultivar, ten ears were observed with 22 spikelets for Apache and 20 spikelets for Renan. Each dot represents the mean of observed values. °Cdays⁻¹ is thermal time (base 0°C).

First, in both cultivars, spikelet position had a strong effect on flowering time. Spikelets inserted in the upper central part of the ear (17th for Apache and 14th for Renan) were the first to reach anthesis. Spikelets inserted at the ear apex were first to reach anthesis (about 15°Cdays⁻¹ later) while those at the base (from 2nd to 6th spikelet for Apache and 2nd to 5th spikelet for Renan) were the last to reach anthesis (about 40°Cdays⁻¹ later).

Second, a further gradient was present at spikelet level. Independent of spikelet position, the proximal florets (nearest the rachis within a spikelet) were the first to reach anthesis while the distal florets showed progressively delayed flowering (Fig 4-2). On average for Renan, over all spikelet positions, the delay was 18°Cdays⁻¹ for floret 2 and 48°Cdays⁻¹ for floret 3. For Apache the delays were 14°Cdays⁻¹ for floret 2, 40°Cdays⁻¹ for floret 3 and 65°Cdays⁻¹ for floret 4.

In Apache, anthesis occurred over a 3.5 day period, with an interval of 2.0 days between the anthesis of the first floret in each spikelet and that of the last. In Renan, the period was 3.0 days and the interval was 1.6 days.

As described above, the dynamics of grain growth as the accumulation of dry matter per grain was not recorded for all grains but only for the proximal two grains (1st and 2nd) of spikelets inserted in the basal, distal and apical parts of the ear. The presence of grains in the 3rd and 4th positions in the spikelet (Apache) and in the 3rd position (Renan) was not sufficiently common in the basal and apical parts of the ear for their growth to be analysed. For consistency with this sampling pattern, the flowering time dynamics was analysed following this same pattern. An ANOVA was carried out for each cultivar but only on the two proximal florets within the two spikelets (i.e. four florets) in the basal, central and apical parts of the ear. The results show flowering time is significantly related to spikelet position ($p < 0.01$ for Apache and $p < 0.001$ for Renan) and to floret position ($p < 0.05$ for both cultivars) within the ear. No significant interaction was detected which indicates the two gradients are simply additive in their effects. In Apache, florets inserted in the central part reached anthesis 13°Cdays⁻¹ (about 0.6 days) earlier than those in the apical part (Table 4-1). Florets in the basal part were the last to reach anthesis 37.1°Cdays⁻¹ (or 1.6 days) later than those in the central part. In Renan, florets in the central and apical parts reached anthesis 33.7°Cdays⁻¹ (about 1.5 days) earlier than those in the basal part (Table 4-1). Within a spikelet, the 1st floret reached anthesis 16.6°Cdays⁻¹ (less than 1 day) earlier than the 2nd floret in Apache and 16.5°Cdays⁻¹ earlier in Renan (Table 4-1).

Table 4-1: Anthesis time shift (means and standard deviations) of the three different ear parts and of the floret positions within the spikelet for each wheat cultivar. Means with the same letter within a row for each factor are not significantly different according to a Newman-Keuls post-hoc test following an ANOVA with ten replicates. The first floret to reach anthesis was set to 0 and the numbers of degree-days ($^{\circ}\text{Cdays}^{-1}$, base 0°C) were summed for the other florets on the same ear as they reached anthesis.

Time shift ($^{\circ}\text{Cdays}^{-1}$)	Apache					Renan				
	Ear part			Floret Position		Ear part			Floret Position	
	Basal	Central	Apical	1 st	2 nd	Basal	Central	Apical	1 st	2 nd
Mean	52.9 ^c	15.8 ^a	28.4 ^b	24.1 ^a	40.6 ^b	51.1 ^b	15.0 ^a	19.7 ^a	19.2 ^a	35.7 ^b
<i>SD</i>	15.5	12.9	32.0	22.7	27.8	18.3	12.6	21.4	18.3	25.7

III.3 Grain growth traits according to grain position along the ear

As explained above, we followed only the two proximal grains in the six spikelets. Independent of position in the spikelet, no significant differences in final grain weight were observed between the two proximal grains (S4-3 Fig. a). Therefore, the two proximal grains were pooled in subsequent analyses, that focus on the gradient along the ear.

For both cultivars, the three ear parts and the four experimental blocks, the parameters of grain filling were estimated from a three-parameter logistic. The synoptic model provided a good fit to the data with R^2 ranging from 0.76 to 0.98. The graph of residuals (S4-4 Fig) showed some heteroscedasticity, with an increase in residual variance as grain growth proceeded. The logistic equation also somewhat overestimated the initial grain weight at anthesis (S4-5 Fig). Consequently, we decided to use the observed initial grain weight rather than the predicted one. Therefore, Equation 1 was used to estimate final grain weight and to calculate the average and maximum grain-filling rates as well as the durations of grain filling.

Fig 4-3 illustrates the accumulation of dry matter per grain from anthesis to maturity for the third block, the three ear parts and for Apache and Renan. The fits obtained for the other blocks are presented in supplementary data (S4-5 Fig). For each cultivar, ANOVAs were carried out for all parameters to identify potential effects of position within the ear. For both cultivars, all parameters estimated were affected by ear position except the duration of grain filling (Table 4-2). Averaged over the three ear parts, the duration of grain filling was $498^{\circ}\text{Cdays}^{-1}$ for Apache and

567°Cdays⁻¹ for Renan. In both cultivars, final estimated grain weights were significantly larger in the central ears parts. Meanwhile, in Apache, the final estimated grain weights were 11.2% smaller in the basal part and 25.3% smaller in the apical part, and in Renan the final estimated grain weights were 8.3% smaller in the basal part and 11.2% smaller in the apical part. Similarly, higher values of mean grain-filling rate were observed in the central part for both cultivars. For Apache, the mean rate of grain growth was 13.0% slower in the basal part and 20.3% slower in the apical part and, for Renan, it was 9.5% slower in the basal part and 13.5% slower in the apical part. In both cultivars, the maximal grain filling rate was greater in the central part of the ear, than in the basal or apical parts (Table 4-2). Grain initial weight measurements highlighted different behaviours between the two cultivars. In Apache, Y_0 was 40.3% higher in the central part of the ear than in the basal or apical parts, while in Renan it was 38.4% higher in central and basal parts than in the apical part (Table 4-2).

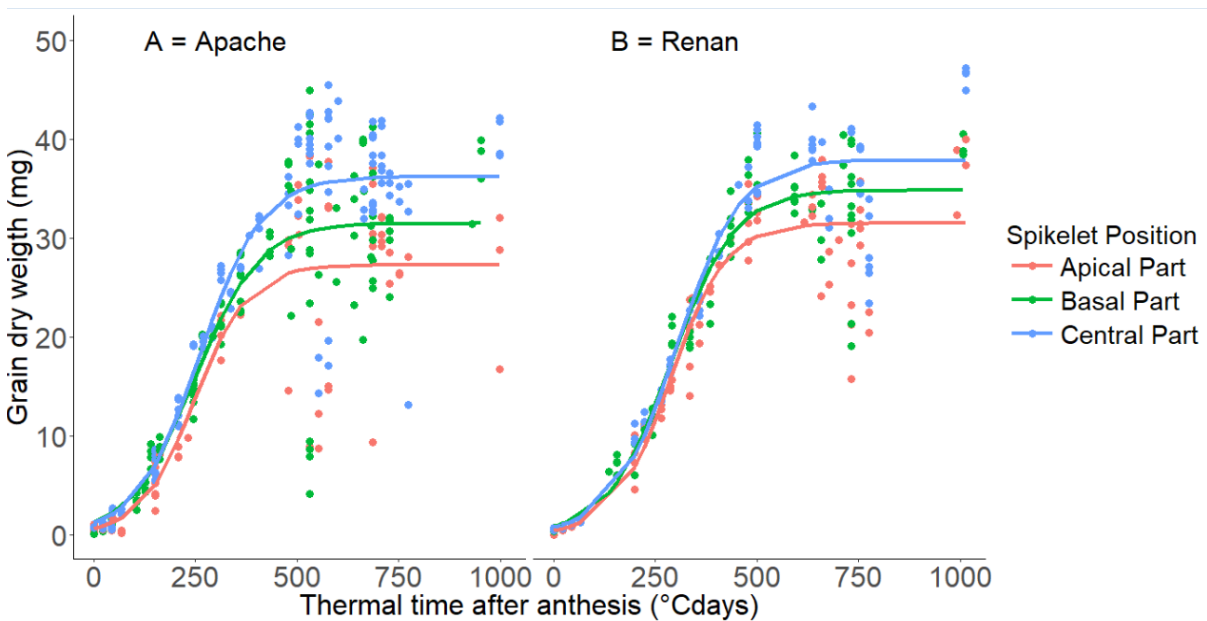


Figure 4-3: The relationship between grain dry weight and thermal time after anthesis. Data are taken from the 3rd block for the three different ear parts (light-grey circles: apical part, dark-grey circles: basal part, black circles: central part) and for cultivars Apache (A) and Renan (B). °Cdays⁻¹ is thermal time (base 0°C).

Table 4-2: Effects of ear parts on the parameters describing grain growth for cultivars Apache and Renan. ANOVAs were carried out for each cultivar separately. Values are means and standard deviations (SD) calculated over 12 replicates. An F test of each independent ANOVA is presented. The ear parts followed by the same uppercase letters did not differ significantly according to a Newman-Keuls post-hoc test. Y_0 is the initial grain weight and Y_m the final grain weight. ns= not significant, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

Grain filling parameters	Apache			Renan				
	F(test)	Basal	Central	Apical	F(test)	Basal	Central	Apical
Y_0 observed (mg)	***	0.43 ^b	0.74 ^a	0.47 ^b	**	0.97 ^a	1.0 ^a	0.79 ^b
SD		0.31	0.2	0.21		0.57	0.19	0.21
Y_m estimated (mg)	***	30.9 ^b	34.9 ^a	26.1 ^c	***	40.3 ^b	43.5 ^a	37.0 ^c
SD		2.3	2.5	3.4		6.1	5.2	5.5
Duration ($^{\circ}\text{Cdays}^{-1}$)	ns	513 ^a	504 ^a	467 ^a	ns	599 ^a	583 ^a	573 ^a
SD		63	45	31		86	48	76
Mean rate ($\text{mg} \cdot ^{\circ}\text{Cdays}^{-1}$)	***	0.061 ^b	0.07 ^a	0.056 ^c	***	0.067 ^b	0.074 ^a	0.065 ^c
SD		0.008	0.007	0.007		0.008	0.003	0.001
Maximal rate ($\text{mg} \cdot ^{\circ}\text{Cdays}^{-1}$)	**	0.094 ^b	0.111 ^a	0.095 ^b	**	0.106 ^b	0.120 ^a	0.105 ^b
SD		0.033	0.028	0.023		0.01	0.009	0.016

In both cultivars, differences in final grain weight and in mean grain-filling rate were the main parameters distinguishing the basal, central and apical ear parts.

IV Discussion

Using two bread wheat cultivars with contrasting grain-set strategies, this study characterised the growth kinetics of the grains in relation to their position within the ear and within the spikelet. The aim was to identify the main parameters driving variability in final grain weight.

IV.1 Duration of flowering within an ear

For both cultivars under our experimental conditions, the results show that about $120^{\circ}\text{Cdays}^{-1}$ (about 5.5 days) were required for all fertile florets within the ear to reach flowering. This agrees with previous studies which reported intervals of from 2 to 6 days for this [17, 24]. This finding raises the question of the differential effects of any abiotic or biotic stresses that may occur at the single grain scale around the time of anthesis. This is particularly the case for stresses whose physiological effects will depend strongly on timing. For example, Prasad and Djanaguiraman [25] demonstrated that a high temperature stress ($35/25^{\circ}\text{C}$, day/night) applied at 6 or at 4 days before flowering, resulted in a two-fold variation in floret fertility. Clearly such a strong effect will significantly impact grain number per m^2 . However, it will also likely affect individual grain growth, and this response will depend on the developmental stage at the time of the stress event.

The 5.5 day time period over which the entire flowering of a single ear takes place, should be considered in relation to the conditions of our study. Here, only the ears originating from the main tillers were studied, also our plants were grown at a lower density than generally applies in the field. Nevertheless, Willenborg et al. [26] observed a similar range of within-ear flowering times for four different wheat cultivars under field conditions. De Vries [27] studied flowering times on up to three ears per plant, in five spring-wheat varieties under greenhouse conditions. While the main ear flowered between 2 and 4 days before the two secondary ears, the authors did not report differences in the range of flowering times within each of the different classes. Clearly, the duration of complete flowering in a single ear observed in our study, is similar to those observed in the field. It is also greater than that observed between the 2-3 larger ears, usually present in a field-grown wheat plant. This indicates that intra-ear and/or intra-spikelet variability in flowering time is a major source of total variability.

Our results show this timing variability is spatially structured and follows the axial (vertical) and lateral (horizontal) gradients in a wheat ear. This finding agrees with those of the only two earlier studies, made from a similar perspective [17, 24].

The putative effects of flowering time shift on final grain weight will now be discussed.

IV.2 Distribution of individual final grain weight according to the spikelet position along the ear

One of the aims of our study was to characterise the differences in final grain weight in relation to the two ear gradients – vertical and horizontal. As regards the two proximal grains within a spikelet (horizontal gradient), previous studies have yielded contrasting results. Some authors who worked only on grains located in the central spikelets observed heavier grains in the second position [13, 15, 19]. Meanwhile, others found the second grain was generally heavier than the first but with an interaction with spikelet position in the ear [17, 18, 21]. In particular, Li et al. [21] showed that the higher weight of the second grain is particularly marked in spikelets localised in the central position of the ear. Based on a study of three wheat cultivars, Herzog and Stamp [20] observed that a ‘standard’ wheat cultivar (as opposed to a semi-dwarf or an oligoculm cultivar) produced heavier grains in the proximal position within a spikelet. However, Feng et al. [6] found no difference in final grain weight between the two proximal grains of a spikelet in five wheat cultivars grown under field conditions. Our results are consistent with the latter result, since we found neither final grain weight nor growth kinetic differences between the two proximal grains. And this observation was independent of spikelet position along the ear (S4-3 Fig). Because we found no significant difference in grain weight between the two proximal grains of a spikelet, we pooled these in further analyses of grain growth in terms of spikelet position along the ear. In other words, our study was restricted to the effects of the vertical gradient.

The variability of final grain weight in relation to spikelet position along the ear has been described in different ways by different authors. Some have presented values of individual grain weight from each spikelet. In these, the average final grain weight per spikelet was found to follow a parabolic pattern along the ear with higher values in the middle spikelets [6, 21, 28]. More commonly, results have been presented based on subdivisions of the ear (as we have). This allows statistical comparison between the subdivisions. Of these studies, two reported heavier grains in spikelets in the central part of the ear but could not distinguish between apical and basal ear parts

that both bore smaller grains [17, 19]. Other authors reported similar grain weights in the central and basal parts while grain weights were significantly lower only in the apical part [20]. Our results agree with Bremner [18] who recorded the average weight of the two proximal grains and with Miralles and Slafer [15] who recorded the weight only of the grain nearest the rachis. In our results, we identified statistically significant differences between the three different ear parts – the heaviest grains were in the central part, lighter grains were in the basal part and lighter grains still were in the apical part (Table 4-2).

IV.3 Relationship between flowering time shift of individual florets and final grain weight

Given the general similarity between the gradient of flowering and that of final grain weight, one might hypothesise a causal relationship between the two. Under this hypothesis it would seem reasonable to assume the earliest grains might benefit from lower competition for metabolites during early grain filling while only a few grains are actively developing. However, we could detect no systematic effect of flowering time shift on final grain weight. Indeed, in neither cultivar did the flowering-time difference between the first and second florets, result in a grain-weight difference, in any of the three ear parts (Fig 4-2; Table 4-2). Also, in Renan there were no differences in flowering time between the central and apical parts of the ear (Table 4-1). Nevertheless, significantly heavier grains were found in the central part (Table 4-2). We thus conclude it is unlikely the differences in final grain weight between ear parts originate from a flowering time shift. The cause of the grain weight difference between ear parts would thus seem to arise from different grain growth kinetics in each part.

IV.4 Relationship between grain growth traits and final grain weight along the ear

We studied three parameters: initial grain weight, and the duration and rate of grain filling. Hazan et al. [22] and Calderini et al. [29] hypothesised that initial grain weight at flowering (evaluated as carpel weight) is a major determinant of final grain weight. Our results do not particularly support this hypothesis, as no significant correlation (at a 5% level) between the two variables was detected for the different ear parts ($r = 0.72$, $p=0.11$ for Apache and $r = 0.52$, $p=0.30$ for Renan). This suggests the two other parameters may be of greater influence. Nevertheless, we cannot exclude the possibility of an indirect effect of initial grain weight on final grain weight, mediated by one of these two other parameters as discussed further below.

A number of growth kinetics studies have been conducted on average grains sampled at maturity from the central spikelets of an ear. Using different bread wheat genotypes and environments, these show that the rate of grain filling during the linear phase had a stronger effect on final grain weight than the duration of grain filling [13, 14, 16]. However, very few studies have considered the differences in grain growth kinetics based on spikelet position along the ear. For Bremner [18] as well as for Herzog and Stamp [20], the duration of grain filling was associated with the differences in final grain weight observed between the different parts of the ear. Conversely, Miralles and Slafer [15] did not find any association between the two variables. Our results are consistent with the latter authors, since we found no correlation between final grain weight and grain filling duration. It is worth noting that calculating grain filling durations from logistic curves, led to low precisions in our estimates, with standard errors of between 30 and 90°Cdays⁻¹ (Table 4-2). Our study revealed an effect of mean grain filling rate in the determinism of final grain weight differences along the ear. In both our cultivars, the mean grain filling rate in the central part of the ear was 11% higher than in the basal part, and 16% higher than in the apical part. Similar results have been found previously although no statistical comparisons were reported between the different parts of the ear [15, 20].

IV.5 Different physiological hypotheses explaining grain filling rate differences along the ear

A number of physiological hypotheses have been proposed to explain differences in grain filling rate along the ear. Xie et al. [16] pooled data from several genotypes and floret positions and found significant relationships between the initial grain weight at flowering and the rates of grain growth during both the lag phase and also during the linear phase of grain filling. This relationship could be the result of grains with higher carpel weights at flowering having higher sink strengths. We found for both cultivars that grains located in the central part of the ear had larger initial weights and also higher mean grain-filling rates. However, we also found different mean rates of grain growth in apical and basal ears parts in Apache and in central and basal parts in Renan, even though the initial grain weights were not significantly different. Even if these comparisons are qualitative in nature, they do not indicate a strong effect of initial grain weight on grain filling rate, at least when considered independently of ear part.

An alternative hypothesis to explain the different grain-filling rates along the ear may be linked to the activity of specific hormones within the grain. The importance of hormonal regulation

in grain development has often been stressed, particularly in wheat [e.g. 30, 31, 32]. More importantly, several authors have shown the importance of hormonal gradients in reproductive structures and their possible link with vertical gradients of grain/seed size. Thus, working with three rice hybrids, Zhang et al. [33] showed that the low rate of filling in grains in inferior spikelets, is linked to low numbers of endosperm cells and to low contents of ABA, cytokinin and auxin during early grain filling.

A further possibility is that the structure of the ear vascular system could also contribute to differences in grain-filling rate along the ear. Whingwiri et al. [34] found that the numbers and diameters of vascular bundles decreased from the base to the tip of the ear. Thus, assimilate transport may be more limited in spikelets located near the tip of the ear. They also found that the spikelets at the base of the ear were supplied by branching bundles – branching could reduce assimilate supply. Meanwhile, spikelets in the central part of the ear are supplied by unbranched and larger bundles that may offer less resistance to assimilate transport [34].

V Conclusion

We show that individual grain weights are greatest in the central part of the ear, less in the apical part and intermediate in the basal part. These differences do not originate from a flowering time shift. However, two results are worth noticing about this study of flowering time: (i) about 5.5 days was required for all fertile florets in an ear to reach flowering; (ii) no interaction was found between the flowering time shifts within the ear, and within the spikelet. Thus, these differences of final grain weight along the ear were due mainly to differences in average grain filling rate. Unlike some other studies, we did not find clear evidence for an effect of initial grain weight on either final grain weight or on average grain filling rate.

A better understanding of the factors contributing to average grain filling rate and to final grain weight will be useful if we are to increase individual grain weights in the apical and basal parts of the ear while maintaining those in the central part. This understanding will be particularly valuable in the context of climate change, which indicate an increased occurrence of unfavourable growing conditions.

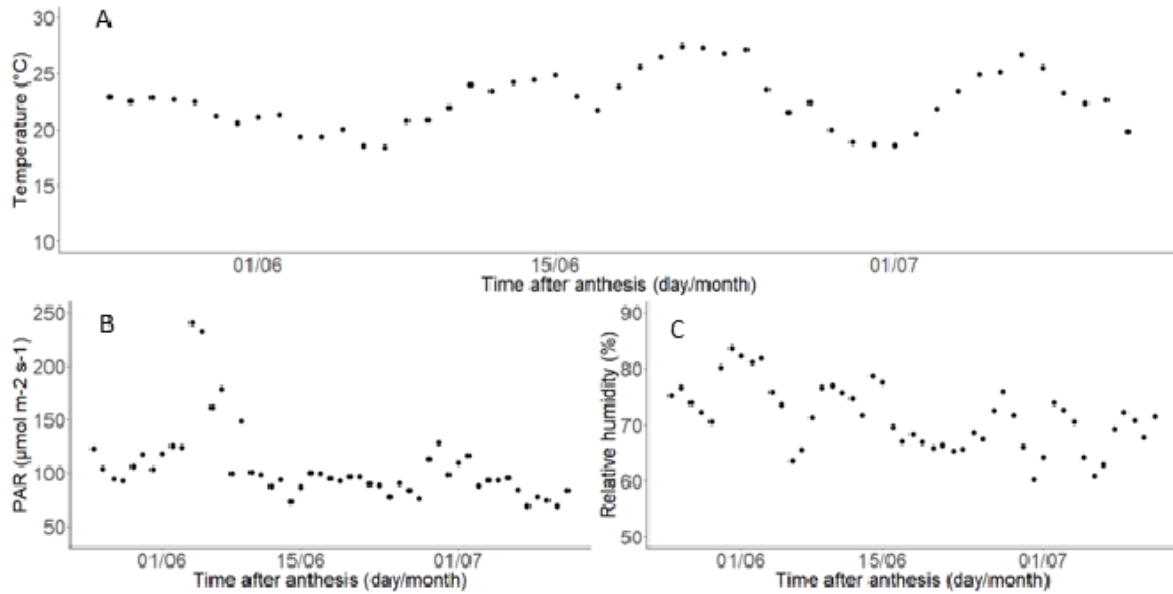
REFERENCES

- 1. Marti J., and Slafer G. A.,** 2014. “Bread and Durum Wheat Yields under a Wide Range of Environmental Conditions.” *Field Crops Research* 156 (February): 258–71. doi.org/10.1016/j.fcr.2013.10.008.
- 2. Sadras V. O., and Slafer G. A. 2012.,** “Environmental Modulation of Yield Components in Cereals: Heritabilities Reveal a Hierarchy of Phenotypic Plasticities.” *Field Crops Research* 127 (February): 215–24. doi.org/10.1016/j.fcr.2011.11.014.
- 3. Gouache D., Le Bris X., Bogard M., Deudon O., Pagé C., and Gate P.,** 2012. “Evaluating Agronomic Adaptation Options to Increasing Heat Stress under Climate Change during Wheat Grain Filling in France.” *European Journal of Agronomy* 39 (May): 62–70. doi.org/10.1016/j.eja.2012.01.009.
- 4. Semenov, M. A., and Shewry P. R.,** 2011. “Modelling Predicts That Heat Stress, Not Drought, Will Increase Vulnerability of Wheat in Europe.” *Scientific Reports* 1 (August): 66. doi.org/10.1038/srep00066.
- 5. Sharma, D. L., Shackley B. J, Amjad M., Zaicou-Kunesch C. M., D’Antuono M. F., and Anderson W. K.,** 2009. “Use of Grain Size Distribution Parameters to Explain Variation in Small Grain Screenings of Wheat in Multi-Environment Trials Involving New Cultivars.” *Crop & Pasture Science*. <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201301655303>.
- 6. Feng F., Han Y., Wang S., Yin S., Peng Z., Zhou M., Gao W., Wen X., Qin X., and Siddique K. H. M.,** 2018. “The Effect of Grain Position on Genetic Improvement of Grain Number and Thousand Grain Weight in Winter Wheat in North China.” *Frontiers in Plant Science* 9: 129. doi.org/10.3389/fpls.2018.00129.
- 7. Shewry P. R., Mitchell R. A. C., Tosi P., Wan Y., Underwood C., Lovegrove A., Freeman J., Toole G. A., Clare Mills E. N., and Ward J. L.,** 2012. “An Integrated Study of Grain Development of Wheat (Cv. Hereward).” *Journal of Cereal Science, Cereal Grain Development: Molecular Mechanisms and Impacts on Grain Composition and Functionality*, 56 (1): 21–30. doi.org/10.1016/j.jcs.2011.11.007.
- 8. Cross, H. Z.,** 1975. “Diallel Analysis of Duration and Rate of Grain Filling of Seven Inbred Lines of Corn 1.” *Crop Science* 15 (4): 532–35. doi.org/10.2135/cropsci1975.0011183X001500040023x.
- 9. Daynard T. B., Tanner J. W., and Duncan W. G.,** 1971. “Duration of the Grain Filling Period and Its Relation to Grain Yield in Corn, *Zea Mays* L. 1.” *Crop Science* 11 (1): 45–48. doi.org/10.2135/cropsci1971.0011183X001100010015x.
- 10. Gebeyehou G., Knott D. R., and Baker R. J.,** 1982. “Rate and Duration of Grain Filling in Durum Wheat Cultivars 1.” *Crop Science* 22 (2): 337–40. doi.org/10.2135/cropsci1982.0011183X002200020033x.
- 11. Fussell L.K., and Pearson C. J.,** 1978. “Course of Grain Development and Its Relationship to Black Region Appearance in *Pennisetum Americanum*.” *Field Crops Research* 1 (January): 21–31. doi.org/10.1016/0378-4290(78)90004-7.

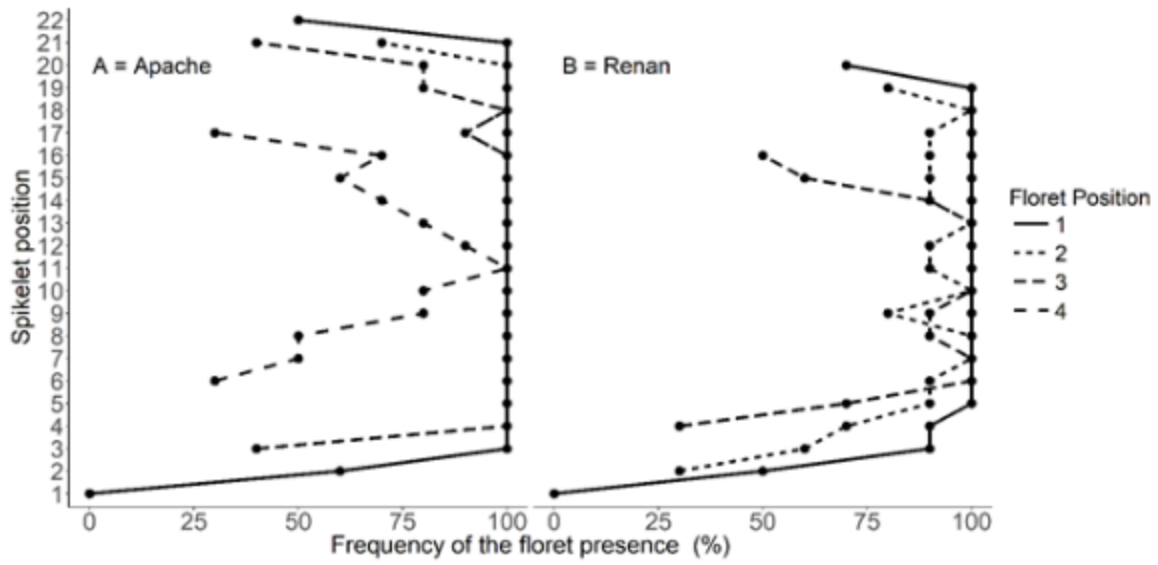
- 12. Jones, D. B., Peterson M. L., and Geng S.,** 1979. “Association Between Grain Filling Rate and Duration and Yield Components in Rice 1.” *Crop Science* 19 (5): 641–44. doi.org/10.2135/cropsci1979.0011183X001900050023x.
- 13. Calderini D. F., and Reynolds, M. P.,** 2000. “Changes in Grain Weight as a Consequence of De-Graining Treatments at Pre- and Post-Anthesis in Synthetic Hexaploid Lines of Wheat (*Triticum durum* x *T. tauschii*).” *Functional Plant Biology* 27 (3): 183–91. doi.org/10.1071/pp99066.
- 14. Charmet G., Robert N., Branlard G., Linossier L., Martre P., and Tribouï. E.,** 2005. “Genetic Analysis of Dry Matter and Nitrogen Accumulation and Protein Composition in Wheat Kernels.” *Theoretical and Applied Genetics* 111 (3): 540–50. doi.org/10.1007/s00122-005-2045-1.
- 15. Miralles D. J., and Slafer G. A.,** 1995. “Individual Grain Weight Responses to Genetic Reduction in Culm Length in Wheat as Affected by Source-Sink Manipulations.” *Field Crops Research* 43 (2): 55–66. doi.org/10.1016/0378-4290(95)00041-N.
- 16. Xie Q., Mayes S., and Sparkes D. L.,** 2015. “Carpel Size, Grain Filling, and Morphology Determine Individual Grain Weight in Wheat.” *Journal of Experimental Botany*, August. doi.org/10.1093/jxb/erv378.
- 17. Rawson H. M., and Evans L.T.,** 1970. “The Pattern of Grain Growth within the Ear of Wheat.” *Australian Journal of Biological Sciences* 23 (4): 753. doi.org/10.1071/BI9700753.
- 18. Bremner P. M.,** 1972. “Accumulation of Dry Matter and Nitrogen by Grains in Different Positions of the Wheat Ear as Influenced by Shading and Defoliation.” *Australian Journal of Biological Sciences* 25 (4): 657. doi.org/10.1071/BI9720657.
- 19. Rawson H. M., and Ruwali K. N.,** 1972. “Ear Branching as a Means of Increasing Grain Uniformity in Wheat.” *Australian Journal of Agricultural Research* 23 (January). doi.org/10.1071/AR9720551.
- 20. Herzog H., and Stamp P.,** 1983. “Dry Matter and Nitrogen Accumulation in Grains at Different Ear Positions in ‘Gigas’, Semidwarf and Normal Spring Wheats.” *Euphytica* 32 (2): 511–20. doi.org/10.1007/BF00021463.
- 21. Li Y., Cui Z., Ni Y., Zheng M., Yang D., Jin M., Chen J., Wang Z., and Yin Y.,** 2016. “Plant Density Effect on Grain Number and Weight of Two Winter Wheat Cultivars at Different Spikelet and Grain Positions.” *PLOS ONE* 11 (5): e0155351. doi.org/10.1371/journal.pone.0155351.
- 22. Hasan A. K., Herrera J., Lizana C., and Calderini D. F.,** 2011. “Carpel Weight, Grain Length and Stabilized Grain Water Content Are Physiological Drivers of Grain Weight Determination of Wheat.” *Field Crops Research* 123 (3): 241–47. doi.org/10.1016/j.fcr.2011.05.019.
- 23. Robert, N., Huet, S., Hennequet, C., Bouvier, A.,** 1999. “Methodology for choosing a model for wheat kernel growth.” *Agronomie* 19, 405–417. https://doi.org/10.1051/agro:19990507.
- 24. Evans L. T., and Bingham J.,** 1970. “The Pattern of Grain Set Within Ears of Wheat.” *Australian journal of biological sciences* 23(4):753-764. DOI: 10.1071/BI9700753

- 25. Prasad P. V. V., and Djanaguiraman M.,** 2014. “Response of Floret Fertility and Individual Grain Weight of Wheat to High Temperature Stress: Sensitive Stages and Thresholds for Temperature and Duration.” *Functional Plant Biology* 41 (January): 1261. doi.org/10.1071/FP14061.
- 26. Willenborg C. J., Luschei Ed C., Brule-Babel A. L., and Van Acker R. C.,** 2009. “Crop Genotype and Plant Population Density Impact Flowering Phenology and Synchrony between Cropped and Volunteer Spring Wheat.” *Agronomy Journal - AGRON J* 101 (November). doi.org/10.2134/agronj2009.0137.
- 27. De Vries A. Ph.,** 1973. “Some Aspects of Cross-Pollination in Wheat (*Triticum aestivum L.*) 2. Anther Extrusion and Ear and Plant Flowering Pattern and Duration.” *Euphytica* 22 (3): 445–56. doi.org/10.1007/BF00036640.
- 28. Ferrante A., Savin R., and Slafer G. A.,** 2015. “Relationship between Fruiting Efficiency and Grain Weight in Durum Wheat.” *Field Crops Research* 177 (June): 109–16. doi.org/10.1016/j.fcr.2015.03.009.
- 29. Calderini D. F., Abeledo L. G., Savin R., Slafer G. A.,** 1999. “Effect of temperature and carpel size during pre-anthesis on potential grain weight in wheat.” *J Agric Sci* 132 (4):453-459. Doi.org/10.1017/S0021859699006504.
- 30. Ahmadi A., and Baker D. A.,** 1999. “Effects of Absciscic Acid (ABA) on Grain Filling Processes in Wheat.” *Plant Growth Regulation* 28 (3): 187–97. doi.org/10.1023/A:1006223925694.
- 31. Liu Y., Gu D., Wu W., Wen X., and Liao Y. 2013.,** “The Relationship between Polyamines and Hormones in the Regulation of Wheat Grain Filling.” *PloS ONE* 8 (10): e78196. doi.org/10.1371/journal.pone.0078196.
- 32. Yang J., Zhang J., Liu K., Wang Z., and Liu L.,** 2006. “Abscisic Acid and Ethylene Interact in Wheat Grains in Response to Soil Drying during Grain Filling.” *The New Phytologist* 171 (2): 293–303. doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01753.x.
- 33. Zhang H., Tan G., Yang L., Yang J., Zhang J., and Zhao B.,** 2009. “Hormones in the Grains and Roots in Relation to Post-Anthesis Development of Inferior and Superior Spikelets in Japonica/Indica Hybrid Rice.” *Plant Physiology and Biochemistry: PPB* 47 (3): 195–204. doi.org/10.1016/j.plaphy.2008.11.012.
- 34. Whingwiri E. E., Kuo J., and Stern W. R.,** 1981. “The Vascular System in the Rachis of a Wheat Ear.” *Annals of Botany* 48 (2): 189–202. doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a086113.

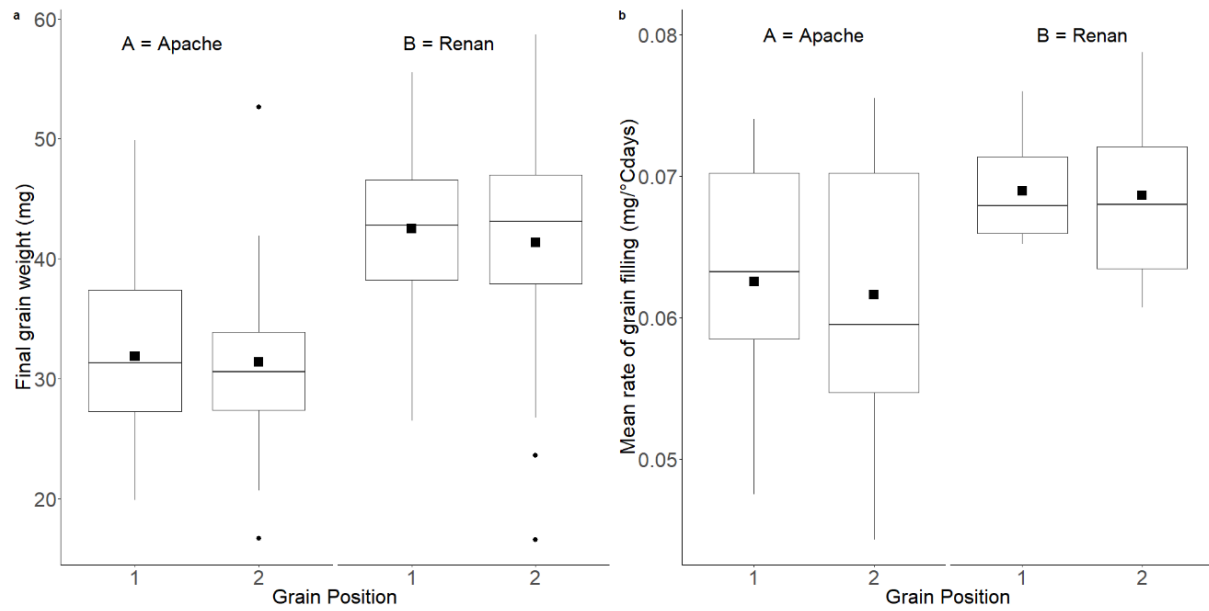
SUPPLEMENTARY DATA



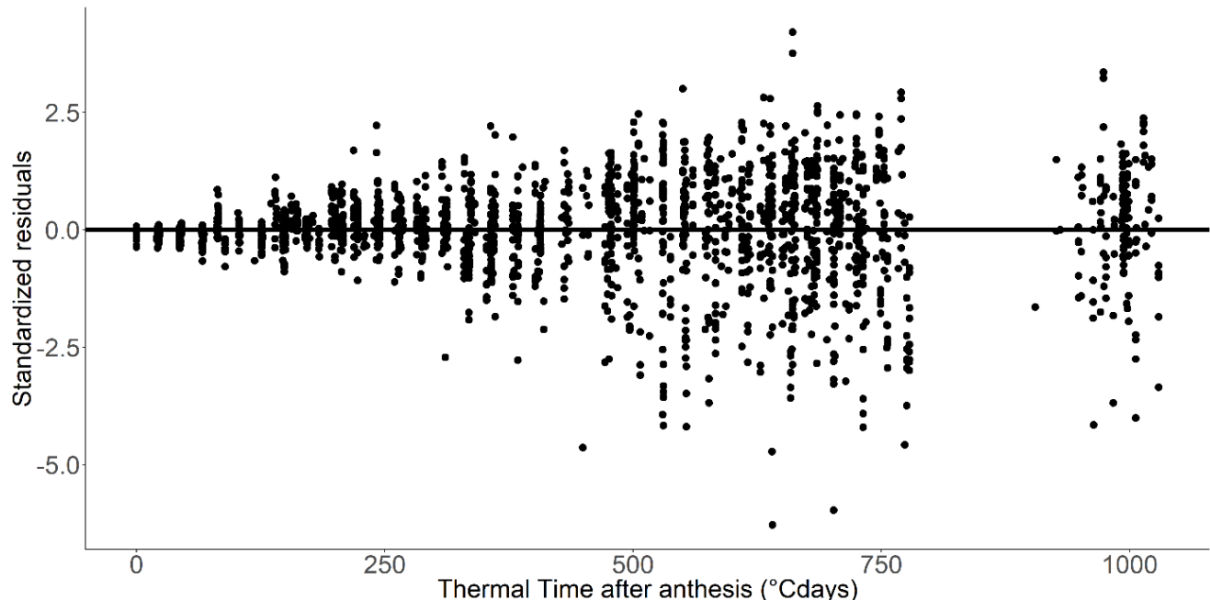
S4-1 Figure: Daily averages of environmental values recorded every 15 min from anthesis to maturity. A: Air temperature, B: Photosynthetically active radiation (PAR), C: Relative humidity.



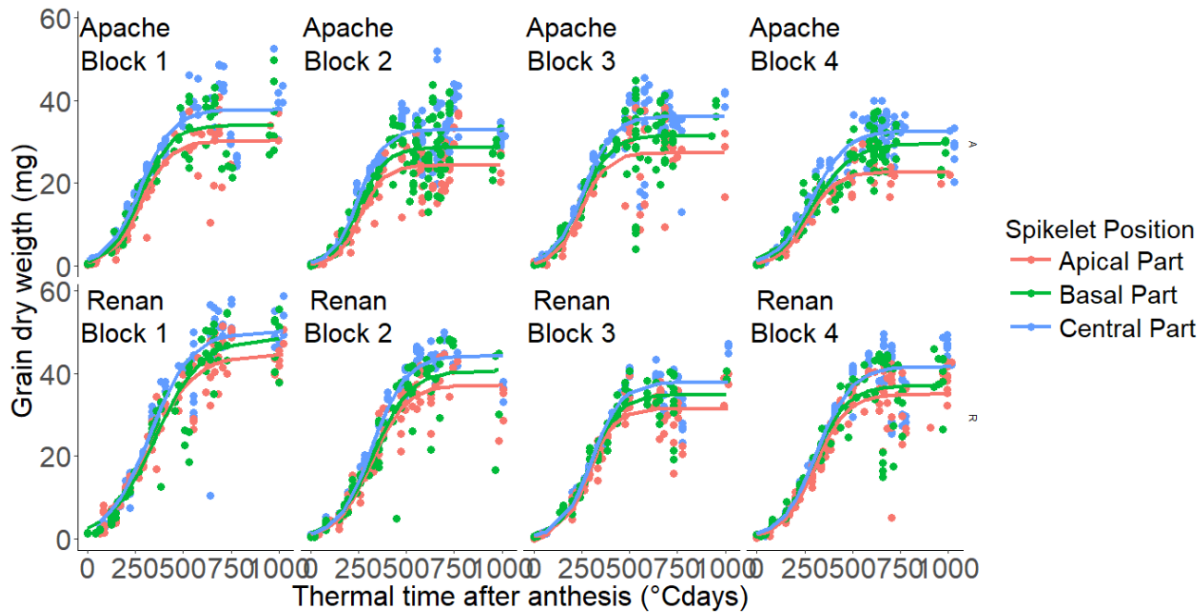
S4-2 Figure: Frequency of floret presence according to position within the ear and spikelet for cultivars Apache (A) and Renan (B). Ten ears were scored with 22 spikelets for Apache and with 20 spikelets for Renan.



S4-3 Figure: Effects of grain position on (a) the final grain weight and (b) the mean rate of grain filling for cultivars Apache (A) and Renan (B). Black dot: atypical observations, black square: mean of the trait calculated on between 24 and 39 replicates.



S4-4 Figure: Effect of thermal time ($^{\circ}\text{Cdays}^{-1}$, base 0°C) on the standardised residuals from the adjusted model against observed values of grain weight. A three-parameter logistic model was fitted to each cultivar, to three ear parts and to four blocks.



S4-5 Figure: The relationship between grain dry weight and thermal time after anthesis for the three different ear parts, the four blocks and for cultivars Apache and Renan. Light grey circle: apical part, dark grey circle: basal part, black circle: central part.

S4-1 Table: Summary of mean yield components between the two wheat cultivars grown in the field in 2014 and in the greenhouse in 2017. Values are means and standard deviations (SD) calculated over eight replicates for 2014 and over seven replicates for 2017. The F test of each ANOVA is presented for results obtained under field conditions.

Yield components	Field 2014			Greenhouse 2017		
	F(test)	Apache	Renan	F(test)	Apache	Renan
Number of ears / plant	ns	2.1 (± 0.2)	2.0 (± 0.2)	ns	7.4 (± 3.2)	7.4 (± 1.9)
Number of grains / ear	**	41.4 (± 6.7)	31.7 (± 5.1)	ns	34.2 (± 5.3)	32.5 (± 6.2)
Number of spikelets / ear	**	19 (± 1.1)	16 (± 0.9)	***	22 (± 1.4)	20 (± 1.1)
Thousand grain weight (g)	***	41.5 (± 1.2)	47.4 (± 0.6)	ns	28.9 (± 3.2)	30.2 (± 4.4)

Chapitre 5 :

Discussion Générale et Perspectives

I Synthèse des résultats marquants

Les différentes études effectuées au cours de ce travail se sont appliquées à caractériser, à comprendre, et à définir des hypothèses pouvant expliquer la variabilité de la matière sèche des grains observée au sein de l'épi de blé tendre. Ainsi, une première étude (Chapitre 2) a été effectuée dans deux environnements (faible et fort niveau d'azote) et avec quatre variétés contrastées (Apache, Hendrix, Renan et Skerzzo). Les objectifs étaient de, (i) caractériser la variabilité de la matière sèche finale des grains le long de l'épi (gradient vertical) et au sein des épillets (gradient horizontal), et (ii) préciser les aspects méthodologiques d'étude de la distribution de la matière sèche des grains au sein de l'épi.

➤ En accord avec les résultats de la littérature (Chapitre 1, §III.2.1), nous avons mis en évidence, pour les deux environnements et les quatre variétés étudiées, une distribution parabolique de la matière sèche des grains, les épillets les plus lourds étant localisés dans la partie centrale de l'épi. Au sein des épillets nous avons de plus clairement caractérisé un second gradient. Les grains proximaux (les plus proches du rachis) étaient aussi plus lourds que les grains distaux (les plus éloignés du rachis).

➤ Nous avons montré qu'un apport d'azote au cours de la croissance de la plante permet d'augmenter la matière sèche totale des grains au sein des épillets localisés à la base et au centre de l'épi. Cette augmentation est par contre principalement expliquée par une augmentation de la fertilité dans les épillets concernés.

➤ Notre étude, basée sur une analyse exhaustive du gradient vertical en isolant chaque épillet de l'épi a montré des résultats similaires à des études plus globales qui divisent l'épi en plusieurs parties. Cette dernière méthode, moins lourde est ainsi suffisamment informative.

Ainsi, cette première étude nous a permis de choisir pour les chapitres suivants la méthode d'étude de distribution qui consiste à diviser l'épi en trois parties : basale, centrale et apicale. De plus, nous avons identifié deux variétés, Apache et Renan, contrastées en termes de rendement, de composantes de rendement mais aussi en terme de distribution de la matière sèche des grains au sein de l'épi. Nous avons donc choisi, afin d'apporter de la généricité aux résultats obtenus, de garder ces deux variétés pour la suite de nos travaux.

La suite du travail s'est appliquée à tester différentes hypothèses pouvant être à l'origine de la variabilité de la matière sèche des grains au sein de l'épi. Afin d'éviter les effets liés à la fluctuation des variables de l'environnement et ainsi se focaliser uniquement sur les processus propres à la plante, les expérimentations rapportées dans les deux chapitres suivants, ont été menées en conditions contrôlées.

Le troisième chapitre devait dans un premier temps déterminer si la croissance des grains localisés au sein de la partie centrale de l'épi était limitée par des contraintes physiques inter-épilletts. Trois formes d'encombrement inter-épilletts ont été créées à floraison au sein de la partie centrale de l'épi. Pour cela des ablations ont été réalisées en ayant pris soin de comparer des encombrements à même équilibre sources-puits au sein de l'épi.

➤ Pour les deux variétés Apache et Renan, nous n'avons pas mis en évidence de contraintes physiques exercées par la présence resserrée d'épilletts adjacents sur la croissance des grains de l'épillet central.

Dans un deuxième temps, nous avons analysé l'effet de la modification de l'équilibre sources-puits au sein de l'épi via la suppression de deux ou quatre épilletts sur la matière sèche des grains restants.

➤ Nous avons montré dans nos conditions une compensation totale, avec un poids total des grains de l'épi non significativement différent avec ou sans ablation.

➤ De manière globale, l'ablation de deux ou quatre épilletts de la partie centrale de l'épi entraîne une redistribution de matière sèche préférentiellement vers les parties basale, et dans une moindre mesure, apicale de l'épi. Dans nos conditions, alors que la force de puits des épilletts centraux est clairement la plus forte au sein de l'épi, les assimilats surnuméraires (liés aux ablations) sont alloués préférentiellement vers les épilletts situés à la base de l'épi, et dans une moindre mesure dans les épilletts localisés dans la partie apicale de l'épi.

➤ Ces résultats suggèrent que dans nos conditions les grains proximaux des épilletts de la partie centrale ont atteint leur taille potentielle et ne peuvent donc pas profiter des assimilats surnuméraires liés à l'ablation. Néanmoins, au sein de ces épilletts, les grains distaux n'atteignent pas leur masse potentielle. Ces résultats nous amènent à formuler l'hypothèse que la répartition des assimilats répond aux forces de puits relatives à l'échelle de l'épillet (et non de chaque grain

individuel) suggérant ainsi des règles d'allocations différentes entre épillets et entre grains du même épillet.

L'objectif du dernier chapitre a été d'analyser la cinétique de croissance des grains des deux variétés (Apache et Renan) dans les mêmes conditions de croissance (en conditions contrôlées) à travers deux paramètres descriptifs : la vitesse de croissance et la durée de remplissage.

➤ Après avoir étudié le décalage de floraison existant au sein de l'épi, et pris en compte la taille des ovaires de chacune des trois parties de l'épi, nous avons mis en évidence pour les deux variétés que la différence de matière sèche des grains observée au sein de l'épi était en grande partie expliquée par une différence de vitesse de croissance.

Ainsi, nous avons montré que la matière sèche plus élevée des grains de la partie centrale de l'épi était expliquée par une vitesse de croissance plus élevée que celle des grains situés dans la partie basale de l'épi, eux mêmes se développant plus rapidement que les grains localisés dans la partie apicale de l'épi. Nous avons alors revu les différentes hypothèses présentées (Chapitre 1 §III.3) et notamment mis en avant l'architecture du système vasculaire au sein de l'épi et des épillets.

II L'étude des grains individuels : un défi méthodologique

II.1 Il existe une grande variabilité de la masse sèche des grains inter-épi

Malgré des protocoles expérimentaux précis visant à tendre à l'étude d'un épi modèle nous avons observé au cours de l'ensemble de ce travail une grande variabilité de la matière sèche des grains entre les différents épis prélevés (voir par exemple Figure 4-3 du Chapitre 4). Cette variabilité nous a souvent empêché de conclure de manière statistiquement robuste sur les résultats observés graphiquement. Par exemple, lors de l'étude de la modification du rapport sources-puits au sein de l'épi (Chapitre 3), une forte tendance a été observée montrant une matière sèche totale des grains supérieure dans la partie basale de l'épi que dans la partie apicale. Cependant, les résultats des analyses de variance effectuées ne nous ont pas permis de conclure de manière statistiquement robuste sur les différences entre les traitements.

Cette variabilité contraint donc les possibilités d'étude et nous avons souhaité expliquer notre démarche et proposer des possibilités d'expérimentations complémentaires.

II.2 Vers l'étude d'un épi modèle

Lors de l'étude préliminaire au champ (Chapitre 2), notre choix pour tenter de limiter cette variabilité a été de sélectionner des épis provenant de brins maîtres au sein de plantes similaires. En particulier, nous avons pris soin de fixer le nombre de talles. Cependant dans cette étude, le nombre d'épillets par épi n'a pas été homogénéisé *a priori*, et une forte variabilité a été observée entre les épis prélevés d'une même variété. De ce fait, les comparaisons épillet par épillet issus de deux épis différents, est rendue complexe.

Sur cette base, il nous a paru intéressant de nous appuyer sur une modélisation descriptive de la structure de l'épi qui, en considérant les paramètres du modèle, permettrait de comparer globalement les distributions de masses au sein des épis indépendamment de leur nombre d'épillets. A notre connaissance aucune proposition de modélisation de cette distribution n'a été publiée. Nous avons essayé de modéliser la forme de la distribution en utilisant l'équation de l'hyperbole. L'analyse des résidus indiquait que le modèle de l'hyperbole s'ajustait globalement bien aux données. Malheureusement nous n'avons pas réussi à trouver de paramètres issus du modèle pouvant différencier la forme des courbes de distribution observée entre les variétés et les environnements testés. Néanmoins, je pense que cette démarche serait plus adaptée pour l'analyse de la distribution de masse de l'épi sur des panels à large effectif. Une telle expérimentation permettrait d'identifier l'existence d'un déterminisme génétique spécifique pour la distribution spatiale de la masse au sein de l'épi. Cette méthodologie a par exemple été utilisée par (Philipp *et al.*, 2018) qui en comparant un grand nombre de variétés élites et anciennes, n'ont pas montré d'effet du processus de sélection sur la distribution des masses. Il reste que le déterminisme génétique de ce caractère n'a pas encore été étudié.

Dans la mesure où cette approche n'a pas permis de prendre en compte cette variabilité, nous avons décidé d'aller plus loin dans la standardisation de notre objet d'étude en fixant par la suite le nombre d'épillets par épi. De plus, nous avons choisi d'étudier cet épi modèle en conditions contrôlées. En effet, il existe un décalage de floraison au sein de l'épi qui, en conditions fluctuantes, pourrait engendrer des stress différentiels entre grains et donc une forte variabilité.

Malgré l'application que nous avons eue à fixer un certain nombre de critères pour limiter la variabilité de la matière sèche connue entre les brin-maitres de différentes plantes, nous avons toujours observé une grande variabilité. Les mesures étant destructives, cette variabilité a été particulièrement problématique lors de l'étude des cinétiques de croissance car chaque point représentait des épis différents (Chapitre 4, Figure 3). Pour pallier à cette variabilité, nous arrivons à la conclusion qu'un plus grand nombre de répétitions, et donc un plus grand nombre de prélèvements d'épis serait nécessaire.

II.3 L'analyse non-destructive, une perspective intéressante pour gérer la variabilité ?

Néanmoins, pour éviter le prélèvement d'épis, et ainsi supprimer le caractère destructif de l'expérimentation, il semblerait intéressant de pouvoir suivre dans le temps les mêmes grains localisés au même endroit au sein de l'épi d'une même plante. Une récente étude (Hughes *et al.*, 2017) a mis au point une analyse non destructive des caractéristiques des grains de blé grâce à l'utilisation de la tomographie à rayons X (Fig. 5-1). En effet, ces auteurs ont mesuré, via l'analyse d'images, l'effet des stress thermique et hydrique sur les caractéristiques morphologiques des grains à maturité. Ils ont réussi à montrer que l'augmentation des températures (i) affectait le nombre de grains situés dans la partie centrale de l'épi, et (ii) diminuait le volume des grains situés dans la partie apicale de l'épi mais seulement pour les plantes qui n'étaient pas soumises à un stress hydrique. Pour l'instant cette méthodologie reste destructive puisque les résultats ont été acquis sur des épis matures et détachés. En faisant évoluer la méthodologie d'analyse pour des études *in vivo*, il serait possible ainsi d'étudier la cinétique de croissance des grains d'un même épi.

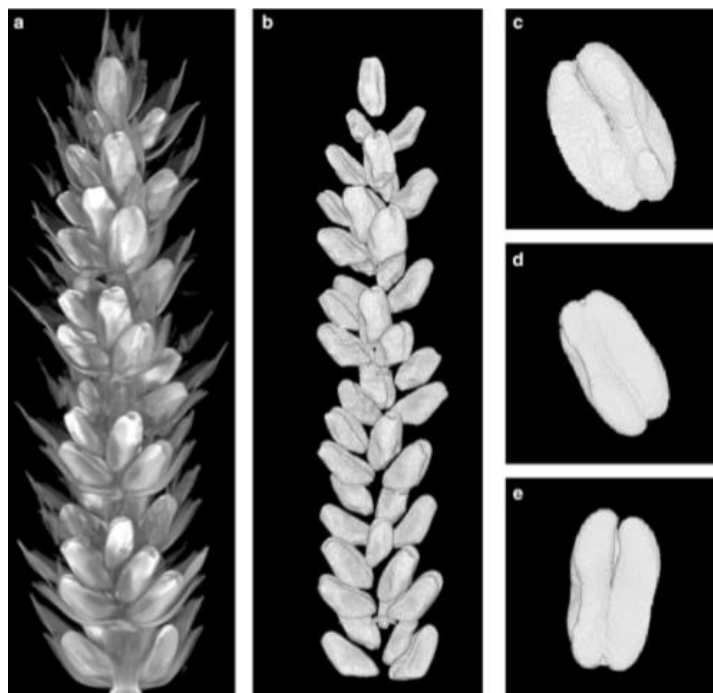


Figure 5-1 : Visualisation 3D (a) d'une partie de l'épi de blé avant segmentation, (b) de la même partie de l'épi après segmentation, (c) de grains isolés. D'après Hughes *et al.*, (2017)

III Origine des gradients de masse au sein de l'épi

En étudiant, à source constante, la cinétique de croissance de certains grains (Chapitre 4), nous avons mis en évidence des forces de puits différentes selon la position du grain, à l'origine de la variabilité de la masse sèche finale observée au sein de l'épi. Ce résultat est appuyé par l'observation d'un gradient de vitesse de croissance. Ainsi, dans cette partie nous allons rediscuter nos résultats en les mettant en perspectives des différentes hypothèses qui pourraient être à l'origine des deux gradients de matière sèche finale des grains. Bien que les hypothèses présentées dans cette partie ne soient pas exclusives et que certaines d'entre elles puissent être liées, elles seront discutées séparément.

III.1 Un gradient déterminé dès floraison par la taille des ovaires ?

Calderini *et al.*, (1999) et Hasan *et al.*, (2011) ont émis l'hypothèse que la taille de l'ovaire est un déterminant majeur de la masse sèche finale des grains. Nos résultats ne supportent pas cette hypothèse. Au cours de notre travail, nous avons bien mis en évidence un gradient vertical de la taille des ovaires à floraison. En particulier, les ovaires de la partie centrale sont plus lourds que

ceux de la partie apicale. Nos résultats sont moins évidents en ce qui concerne la partie basale avec des différences entre les deux variétés. Cependant nous n'avons montré aucune corrélation significative entre la taille des ovaires et la masse sèche finale des grains.

De mon point de vue, la relation entre masse des grains et taille d'ovaire postulée par Calderini *et al.* (1999) et Hazan *et al.* (2011) pourrait être non causale. En effet, dans des études d'ablations de grains au sein d'un épillet, la suppression à floraison des deux grains proximaux entraîne une augmentation de la masse sèche finale des grains en position distale, qui va jusqu'à dépasser la masse finale des grains proximaux témoins malgré une taille d'ovaire plus faible (Radley, 1978; Acreche et Slafer, 2006).

III.2 Un gradient lié au décalage de floraison ?

Un décalage de floraison en fonction des deux gradients a été mis en évidence au cours de ce travail. Les fleurs de la partie centrale et apicale sont les premières à fleurir, suivi de celles de la partie basale. Au sein d'un épillet, et quelle que soit sa position le long de l'épi, les fleurs en position proximale fleurissent les premières, et la fleur en position la plus distale est la dernière à fleurir. Il a été proposé que les grains fleurissant plus tôt auraient une vitesse plus rapide de croissance en profitant d'une compétition plus faible pour les assimilats alors que peu de grains sont en cours de développement. Cependant nous n'avons pas observé de relation systématique entre date de floraison et masse finale. En effet les grains de la partie apicale, fleurissant en même temps que ceux de la partie centrale (et avant ceux de la partie basale), ont une masse sèche finale plus faible que l'ensemble des grains de l'épi. Les mêmes observations ont été faites pour les deux grains proximaux, le premier fleurissant avant le deuxième, mais la matière sèche finale était identique entre les deux grains. Ainsi, en conditions contrôlées de croissance, ce décalage de floraison existant au sein de l'épi ne favorise ni la vitesse de croissance des grains, ni même sa matière sèche finale.

Il a par contre été proposé que le décalage au niveau de la plante pourrait permettre une meilleure tolérance au stress thermique en particulier en conditions fluctuantes. Ce décalage de floraison existant intra-épi est renforcé à l'échelle du couvert du fait du décalage de floraison existant entre le brin maître et les tiges secondaires (De Vries, 1973). En effet, un stress thermique de courte durée au moment de l'anthèse a un effet fort sur la fertilité de l'épi (Prasad et

Djanaguiraman, 2014). Ainsi, dans des conditions de changement climatique prévoyant des risques plus fréquents de pics de température, le décalage de floraison assurerait que toutes les fleurs ne subiront pas l'impact du stress. Nous pourrions ainsi imaginer une stratégie d'adaptation en sélectionnant des variétés à fort décalage de floraison inter ou intra-épi (Lukac *et al.*, 2012).

III.3 Effets des contraintes physiques sur le gradient de masse au sein de l'épi

A floraison, l'architecture de l'épi est définie et les différents éléments qui la composent peuvent contraindre la croissance du grain. Dans ce travail, nous avons fait l'hypothèse qu'un encombrement stérique inter-épillet pouvait engendrer une contrainte physique limitante pour la croissance des grains. Nos résultats n'ont pas mis en évidence de contraintes physiques exercées par la présence rapprochée des épillets de la partie centrale de l'épi. La partie centrale contenant plus et de plus gros grains, nous pouvons supposer que ces résultats sont valables également pour les parties basale et apicale de l'épi. De même nous pouvons supposer que notre étude réalisée avec deux variétés modernes ayant des épis relativement lâches est valable pour la plupart des variétés cultivées.

Néanmoins, d'autres types de contraintes physiques limitant la croissance des gains existent et peuvent générer un gradient au sein de l'épi. Par exemple, Boshnakian, (1918) et Millet et Pinthus, (1984) ont fait l'hypothèse que l'origine de la masse sèche plus faible des grains distaux résidait dans le volume plus faible de leur cavité florale. Ainsi, il serait intéressant d'étudier à floraison le volume de cette cavité selon le gradient vertical de l'épi et ainsi conclure si oui ou non il est en partie responsable d'une masse finale plus ou moins faible. Les technologies de scanner 3D évoquées dans la partie précédente nous paraissent un moyen de mesure potentiellement utile pour répondre à cette question.

La contrainte physique exercée par les bractées peut aussi être envisagée en terme de rigidité de ces dernières. Au cours du développement, il a été supposé que les bractées florales (glumes et glumelles) impactent la masse sèche du grain en modifiant sa forme, notamment à cause d'une force exercée par la rigidité des bractées. Il serait donc intéressant de déterminer s'il existe un gradient de cette variable le long de l'épi.

Si nos résultats montrent l'absence de contraintes physiques entre épillets nous n'avons pas évalué la contrainte physique entre grains au sein d'un épillet. La présence de plusieurs grains au sein d'un épillet pourrait limiter leur espace de croissance. Cette hypothèse n'a pas été testée, mais il a été montré que l'ajout de corps étrangers entre les glumelles va bien limiter la croissance des grains (Grafius, 1978).

III.4 Le système vasculaire est-il un bon candidat pour expliquer les gradients de masses au sein de l'épi ?

Le système vasculaire chez le blé est un élément clé dans la détermination de la masse sèche finale puisqu'il permet le transport des assimilats des organes sources vers les organes puits. Le système vasculaire le long de l'épi et au sein des épillets a été décrit depuis longtemps (Chapitre 1 §III.3.2.1.2). Son architecture est en adéquation avec les résultats obtenus au cours de ce travail et peut donc expliquer en partie la variabilité de la masse sèche finale observée au sein de l'épi. Les travaux sur lesquels ces hypothèses reposent n'ont cependant été réalisés que sur un nombre extrêmement réduit de génotypes et sur des épillets particuliers au sein de l'épi (Hanif et Langer, 1972; Whingwiri *et al.*, 1981; O'Brien *et al.* 1985). Il conviendrait donc de vérifier la généralité de ces résultats en premier lieu sur l'ensemble des épillets mais aussi sur une gamme génotypique plus large.

IV Vers un modèle mécaniste du développement de l'épi

L'objectif à long terme de cette thématique de recherche serait de créer un modèle écophysologique permettant de simuler les effets des facteurs environnementaux et génétiques sur la matière sèche individuelle des grains. Ce travail implique donc de décrire explicitement quels processus génèrent le gradient de masse au sein de l'épi. En l'état, nos résultats ne permettent pas de construire ce modèle. Néanmoins, ils apportent un certain nombre d'éléments qui pourraient être utiles à cet objectif.

Premièrement, nos expérimentations et notamment la description spatialisée des masses de grains au sein de l'épi (sur plusieurs génotypes et dans plusieurs conditions) représentent un jeu de données de validation essentiel à ce type de travail.

Deuxièmement, nos résultats montrent que certains processus ne sont pas essentiels dans la construction d'un tel modèle. En particulier, nous avons montré que la contrainte physique inter-

épillet était sans doute un processus négligeable. A l'inverse les gradients de floraison et les tailles d'ovaires nous semblent être des processus importants à incorporer que cela soit explicitement ou comme données de forçage.

Enfin, l'apport principal de mon travail pour un tel projet me paraît être l'existence de règles d'allocation différentes entre les épillets et entre les grains d'un même épillet. Cette hypothèse développée dans le Chapitre 3, propose que la répartition d'assimilats entre épillets ne repose pas que sur la force des puits qui le composent, mais aussi sur une limitation du flux d'assimilats entrant dans chacun des épillets. Cette hypothèse mériterait d'être travaillée expérimentalement de manière plus approfondie en manipulant les sources. C'est ce que nous avons partiellement fait dans le Chapitre 2 en utilisant des niveaux contrastés d'azote. Cependant, l'azote a l'inconvénient d'affecter en même temps les puits (nombre de grains) et les sources. De ce fait, pour jouer exclusivement sur les sources post-floraison, je proposerais de manipuler certains facteurs limitants du remplissage des grains tels que le niveau d'éclairement et/ou le CO₂ ambiant.

Ce modèle serait d'abord un outil de recherche permettant de tester des hypothèses de fonctionnement de l'épi. Pour aller plus loin dans sa valorisation, il serait sans doute nécessaire de l'intégrer dans un modèle de plante qui fournirait les données d'entrées indispensables à son fonctionnement, en particulier la quantité d'assimilats disponibles par épi. Face aux contraintes abiotiques post-floraison, on pourrait ainsi tester différentes typologies de variétés, caractérisées par des distributions contrastées de masses des grains au sein de l'épi. Cela permettrait à terme d'identifier les combinaisons de valeurs de paramètres les mieux adaptées à des scénarios climatiques donnés et proposer de ce fait des architectures spécifiques de l'épi comme cible pour des programmes de sélection variétale dirigés vers la recherche de la tolérance aux stress environnementaux.

REFERENCES

- Acreche, M. M., et Slafer G. A.**, 2006. « Grain weight response to increases in number of grains in wheat in a Mediterranean area ». *Field Crops Research* 98 (1): 52-59. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2005.12.005>.
- Boshnakian S.**, 1918. « The Mechanical Factors Determining the Shape of the Wheat Kernel ». *Agronomy Journal* 10 (5): 205-9. <https://doi.org/10.2134/agronj1918.00021962001000050003x>.
- Calderini D. F., Abeledo L. G., Savin R., et Slafer G. A.**, 1999. « Effect of Temperature and Carpel Size during Pre-Anthesis on Potential Grain Weight in Wheat ». *The Journal of Agricultural Science* 132 (4): 453-59.
- De Vries A. P.**, 1973. « Some Aspects of Cross-Pollination in Wheat (*Triticum aestivum* L.) 2. Anther Extrusion and Ear and Plant Flowering Pattern and Duration ». *Euphytica* 22 (3): 445-56. <https://doi.org/10.1007/BF00036640>.
- Grafius J. E.**, 1978. « Multiple Characters and Correlated Response 1 ». *Crop Science* 18 (6): 931-34. <https://doi.org/10.2135/cropsci1978.0011183X001800060004x>.
- Hanif M., et Langer R. H. M.**, 1972. « The Vascular System of the Spikelet in Wheat (*Triticum aestivum*) ». *Annals of Botany* 36 (4): 721-27. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a084628>.
- Hasan A. K., Herrera J., Lizana C, et Calderini D. F.**, 2011. « Carpel Weight, Grain Length and Stabilized Grain Water Content Are Physiological Drivers of Grain Weight Determination of Wheat ». *Field Crops Research* 123 (3): 241-47.
- Hughes N., Askew K., Scotson C. P., Williams K., Sauze C., Corke F., Doonan J. H., et Nibau C.**, 2017. « Non-destructive, high-content analysis of wheat grain traits using X-ray micro computed tomography ». *Plant Methods* 13 (1): 76. <https://doi.org/10.1186/s13007-017-0229-8>.
- Lukac M., Gooding M. J., Griffiths S., et Jones H. E.**, 2012. « Asynchronous flowering and within-plant flowering diversity in wheat and the implications for crop resilience to heat ». *Annals of Botany* 109 (4): 843-50. <https://doi.org/10.1093/aob/mcr308>.
- Millet E., et Pinthus M. J.**, 1984. « The association between grain volume and grain weight in wheat ». *Journal of Cereal Science* 2 (1): 31-35. [https://doi.org/10.1016/S0733-5210\(84\)80005-3](https://doi.org/10.1016/S0733-5210(84)80005-3).
- O'Brien T. P., Sammut M. E., Lee J. W., et Smart M. G.**, 1985. « The Vascular System of the Wheat Spikelet ». *Functional Plant Biology* 12 (5): 487-511. <https://doi.org/10.1071/pp9850487>.
- Philipp N., Weichert H., Bohra U., Weschke W., Schulthess A. W., et Weber H.**, 2018. « Grain Number and Grain Yield Distribution along the Spike Remain Stable despite Breeding for High Yield in Winter Wheat ». *PloS ONE* 13 (10): e0205452. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205452>.

Prasad P. V. V., and Djanaguiraman M., 2014. “Response of Floret Fertility and Individual Grain Weight of Wheat to High Temperature Stress: Sensitive Stages and Thresholds for Temperature and Duration.” *Functional Plant Biology* 41 (January): 1261. doi.org/10.1071/FP14061.

Radley M., 1978. « Factors Affecting Grain Enlargement in Wheat ». *Journal of Experimental Botany* 29 (4): 919-34. <https://doi.org/10.1093/jxb/29.4.919>.

Whingwiri E. E., Kuo J., et Stern W. R., 1981. « The Vascular System in the Rachis of a Wheat Ear ». *Annals of Botany* 48 (2): 189-202. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a086113>.