HAL open science

Déterminisme génétique et écophysiologique de la variabilité des masses de grains individuels chez le blé tendre (Triticum aestivum).

Aurore Beral

▶ To cite this version:

Aurore Beral. Déterminisme génétique et écophysiologique de la variabilité des masses de grains individuels chez le blé tendre (Triticum aestivum).. Biologie végétale. Université Clermont Auvergne [2017-2020], 2020. Français. NNT : 2020CLFAC039 . tel-03156382

HAL Id: tel-03156382

https://theses.hal.science/tel-03156382v1

Submitted on 2 Mar 2021

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 à l'Université Clermont Auvergne

Pour l'obtention du grade de

DOCTEUR D'UNIVERSITE

Spécialité : Biologie végétale

Aurore BERAL

Déterminisme génétique et écophysiologique de la variabilité des masses de grains individuels chez le blé tendre (*Triticum aestivum*)

Sélectionner pour la moyenne ou sélectionner pour la variance ?
Vers de nouveaux caractères cibles pour améliorer la tolérance aux stress abiotiques

Directeur de thèse :
Jacques Le Gouis, Directeur de Recherche, INRAE, Clermont-Ferrand

Co-encadrants :
Vincent Allard, Chargé de Recherche, INRAE, Clermont-Ferrand
Christine Girousse, Ingénieure de Recherche, INRAE, Clermont-Ferrand

Soutenance : 18 décembre 2020

Composition du jury :
Delphine Moreau, Chargée de Recherche, INRAE***, Rapporteur***
Jérôme Enjalbert, Directeur de Recherche, INRAE***, Rapporteur***
Delphine Luquet, Senior scientist, CIRAD***, Examinateur***
Céline Richard-Molard, Chargée de Recherche, INRAE***, Examinateur***
Ludovic Bonhomme, Maître de Conférences des Universités, UCA***, Examinateur***
Jacques Le Gouis, Directeur de Recherche, INRAE, Clermont-Ferrand, ***Directeur de thèse***

UMR 1095 GDEC UCA/INRAE
"Génétique, Diversité et Ecophysiologie des Céréales"
234, Avenue du Brézet, F-63 000 Clermont-Ferrand, France

RESUME

L'amélioration variétale du blé tendre doit faire face au double enjeu du changement climatique et de l'évolution des pratiques agricoles. Dans ce contexte, de nouvelles stratégies de sélection basées sur la recherche de stabilité du rendement dans le matériel génétique futur se développent. Le rendement final du blé est la résultante de composantes (nombre d'épis/m², nombre de grains/épi, nombre de grains/m², poids de mille grains (PMG)) corrélées entre elles du fait de compensations entre les différentes échelles du couvert (m2, plante, épi, grain). Jusqu'à aujourd'hui, l'amélioration du rendement s'est principalement réalisée à travers l'augmentation du nombre de grain par m². Cependant, avec le risque accru d'occurrence de stress abiotiques pendant la période post-floraison, le PMG, qui se met en place durant cette période, peut être une cible importante pour l'amélioration du rendement. Il est donc pertinent d'en étudier les déterminismes génétique et environnemental. Le PMG, comme les autres composantes de rendement, est classiquement étudié via sa valeur moyenne à l'échelle de la parcelle. Or, il existe une variabilité intra-génotypique importante des masses finales des grains individuels entre épis et au sein des épis. L'identification d'une telle variabilité intra-génotypique et son rôle dans la construction du PMG et sa réponse aux stress abiotiques post-floraison reste inexplorée. Le travail présenté dans cette thèse cherche donc à évaluer l'intérêt de la prise en compte de la variabilité intra-génotypique dans l'amélioration du rendement par une sélection du PMG en conditions de stress abiotiques post-floraison.

Les résultats montrent qu'il existe une variabilité génétique dans le lien grain individuel-PMG, c'est-à-dire que des génotypes peuvent construire un PMG similaire à partir de distributions de masses de grains individuels de variabilité intra-génotypique différentes. Cette variabilité intra-génotypique est essentiellement déterminée par des différences dans la mise en place du nombre de grains par m² mais aussi par un déterminisme génétique spécifique. De plus, la prise en compte explicite de l'échelle du grain individuel a permis d'affiner notre compréhension des bases physiologiques de la variabilité génétique du PMG en mettant en évidence des différences génotypiques de masses de grains individuels indépendantes de la mise en place du nombre de grains par m² et variables selon la position du grain au sein de l'épi. L'étude à l'échelle du grain individuel a également révélé des réponses différentielles des grains individuels à un stress thermique post-floraison selon leur position au sein d'un épi.

L'ensemble de ces résultats démontre la pertinence de prendre en compte non seulement la valeur moyenne du caractère cible (le PMG) mais aussi sa variance pour envisager la recherche de matériel génétique futur tolérant à des stress abiotiques post-floraison. Pour cela il faut cibler des stratégies génotypiques spécifiques de mise en place du nombre de grains par m² et/ou de la variabilité génétique intrinsèque de la variance intra-génotypique. Plus globalement, cette thèse s'est inscrite dans une démarche, inspirée de l'écologie, de compréhension du rôle de la variabilité intra-génotypique des traits sur la stabilité de la performance des couverts végétaux.

Mots-clés : *Triticum aestivum*, amélioration variétale, PMG, stress abiotiques post-floraison, variabilité, intra-génotypique, masses de grains individuels, nombre de grains par m², épi, stabilité

ABSTRACT

Title: Genetic and ecophysiological determinism of intra-genotypic variability of individual grain mass in bread wheat (*T. aestivum*)

Wheat breeding faces the dual challenge of climate change and changes in agricultural practices. In this context, new breeding strategies based on the search for yield stability in future genetic material are being developed. Wheat grain yield is usually decomposed into yield components: number of spikes/m², number of grains/spike, number of grains/m² and thousand kernel weight (TKW). These components are correlated one with another due to compensations that exist between the different scales of the canopy (m^2, plant, spike, grain). Until now, the yield gains achieved by wheat breeders in recent decades mainly occured through increases in grain number per m². However, with increasing occurrences of post-flowering abiotic stress associated with climate change, TKW may become severely limiting and hence a target for breeding. TKW is usually studied at the plot scale as it represents the average mass of a grain. However, this view disregards the large intra-genotypic variance of individual grain mass that exists between- and within spikes. The identification of such intra-genotypic variability and its implication in TKW setting as well as in the response of TKW to post-flowering abiotic stresses remains unexplored. This work therefore aims to evaluate the interest of taking into account explicitly intra-genotypic variability in improving yield through breeding for TKW under post-flowering abiotic stress.

The results show that there is a genetic variability of the correlation between the individual grain mass and TKW, i.e. genotypes may have similar TKW from distributions of individual grain masses with different intra-genotypic variability. This intra-genotypic variability is mainly driven by canopy structure (number of grains per m²) but has also a specific genetic determinism. Moreover, considering the single grain scale allowed to refine our understanding of the physiological basis of the genetic variability of TKW by highlighting constitutive genotypic differences in individual grain masses; these differences are independent from the number of grains per m², and vary according to the position of the grain within the spike. This single grain scale also reveals differential responses of individual grains to post-flowering heat stress depending on their position within the spike. These results demonstrate the relevance of considering not only the mean value of the target trait (TKW) but also its variance and offer new perspectives for the search for future genetic material tolerant to post-flowering abiotic stress. To do this, genotypic strategies of grain number establishment and/or the specific genetic variability of the intra-genotypic variance could be targeted. More generally, this thesis is part of a conceptual framework developed in ecology with the aim to understand the role of intra-genotypic variability of traits on the stability of plant canopy performance.

Keywords: Triticum aestivum, breeding, TKW, post-flowering abiotic stress, variability, intra-genotypic, individual grain mass, number of grains per m², spike, stability

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, je tiens à remercier toutes les personnes qui ont rendu possible le financement de cette thèse via l'obtention d'une demi-bourse INRAE et d'une demi-bourse du projet I-Site. Je remercie également la direction de l'UMR 1095 GDEC et toutes les personnes qui ont permis la bonne réalisation de cette thèse.

Ensuite, je tiens à remercier les membres du jury, Delphine Moreau et Jérôme Enjalbert, rapporteurs de la thèse, et Delphine Luquet, Ludovic Bonhomme et Céline Richard-Molard, examinateurs de la thèse, d'avoir accepté d'évaluer mon travail.

Un grand merci aux membres de mes comités de thèse, Denis Vile, Delphine Luquet, Jacques David, Pierre Roumet, Bruno Andrieu et Nicolas Heslot d'avoir évalué l'avancement des travaux durant cette thèse ainsi que pour leur suivi pertinent et leurs remarques constructives.

Je remercie vivement mon directeur de thèse, Jacques Le Gouis, pour son encadrement bienveillant, ses précieux conseils et son suivi pertinent et juste. Je remercie également sincèrement Vincent Allard et Christine Girousse pour leurs implications inestimables tout au long de cette thèse, pour leur pédagogie, leur patience et leur complémentarité enthousiaste ! Je ne doute pas que les connaissances et les compétences développés à vos côtés me seront précieuses pour la suite de mon projet professionnel.

Merci beaucoup à Renaud Rincent, pour ton temps et ton aide en génétique quantitative.

A Wa Ngo, pour ton aide précieuse, ton énergie, ton écoute et pour tous ces milliers de grains pesés, merci infiniment ! Un grand merci à Boris Adam et David Cormier, pour leur accueil dans l'équipe, leur aide respective lors des différentes expérimentations, et les pauses cafés ! Merci à Christophe Lecarpentier pour son soutien et sa gentillesse.

Un grand merci aux équipes techniques qui ont œuvré pour la mise en œuvre des différentes expérimentations.

Pour leur aide et leur intérêt pour cette thèse, merci beaucoup à Denis Vile, Agathe Mini et Estelle Kuhn.

Merci beaucoup aux membres de l'équipe QualiGrain, Catherine Grand-Ravel, Julie Boudet et leurs collègues, pour ces réunions et piques-niques partagés.

Je remercie vivement l'équipe de l'ICREA de l'Université de Lleida, qui m'a accueilli chaleureusement pendant mes trois mois hispaniques. A Gustavo Slafer, un très grand merci pour le temps passé à discuter sur ma thèse et sur l'article qui a émergé de cette mission; à Roxana Savin et Ignacio Romagosa, merci pour leur aide et leur gentillesse. Enfin, merci infiniment à Priya, Alicia, Filippo, JK, Hector et tous les autres doctorants qui m'ont fait découvrir la vie à l'heure espagnole.

Un grand merci à tous les doctorants, les post-doctorants et les chercheurs croisés durant ma thèse à l'INRAE, qui ont contribué à éveiller ma curiosité scientifique et élargir mes horizons.

Une pensée musicale pour le groupe musical de l'INRAE de Crouël, qui ont accueilli une ancienne musicienne dans leur groupe.

A vous tous, pour tous les moments partagés à l'INRAE et en dehors, un grand merci : à Pauline, ma co-thésarde et première oreille à l'écoute de mes tribulations, à Nadège ensuite, pour ce début de thèse partagé avec le sourire, et ses conseils; à Amélie, pour son écoute et sa gentillesse ; enfin à Pierre, Lauren, Rohan, Sammy, Michel, Samuele, pour ces moments de pause et de détente.

Aux amis qui m'ont toujours encouragé et qui ont rempli ces trois ans d'escroqueries: Arthur et Sophie, Pierre-Jean, Juliette, Pierre-Etienne, Nicolas et Lucas, chat-peau à vous ! Sans oublier mes amies de la pole, qui m'ont sportivement soutenu : Nina, Manon, Emmanuelle, Romane et Lianne. Enfin, merci à mes « vieux » amis, qui ont suivi mon parcours depuis la prépa, et avec qui les retrouvailles sont toujours touchantes : Anissia et Gustave (merci de m'avoir fait partager votre aventure !), Kévin (merci pour ton soutien !), Amélie, Mathilde, Mickaël, Maxime et Adrien. A Estelle, à nos aventures doctorales/nos réussites/nos échecs/nos fous rires partagés ! Enfin, à Céline et Marion, merci pour vos sourires et votre bienveillance.

J'ai une pensée toute particulière pour ma famille. Pour mes parents d'abord, sans qui je n'en serais pas là aujourd'hui. Pour mes sœurs ensuite, sans qui ma vie serait beaucoup trop tranquille !

A Simon enfin, pour avoir partagé mon quotidien et avoir été aux premières loges de mes succès et de mes échecs, merci d'avoir toujours été là pour moi… Prête à de nouvelles aventures avec toi !

LISTE DES PRODUCTIONS

Les résumés des différentes productions se trouvent dans le Chapitre 6 (Annexes).

Publications dans des revues à comité de lecture :

- Beral A, Rincent R, Le Gouis J, Girousse C, Allard V (2020) Wheat individual grain-size variance originates from crop development and from specific genetic determinism. PLoS ONE 15 (3): e0230689. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230689
- A. Beral, C. Girousse, J. Le Gouis, V. Allard, G. Slafer (Soumis à la revue Field Crops Research le 06/08/2020). Physiological bases of genotypic differences in average grain weight in wheat: scaling down from plot to individual grain in elite material.

Communications :

- Colloque INRA Graines, Angers, 21-23 mai 2019, Communication orale
- Phloème, Paris, 29-30 janvier 2020, Communication orale
- Eucarpia cereal section, Clermont-Ferrand, 19-22 mars 2018, Poster
- Journées de l'Ecole Doctorale, Clermont-Ferrand, 23-24 mai 2019, Poster
- International Wheat Congress, Saskatoon, Canada, 21-26 juillet 2019, Poster

TABLE DES MATIERES

RESUME **3**

ABSTRACT **4**

REMERCIEMENTS **5**

LISTE DES PRODUCTIONS **7**

TABLE DES MATIERES **8**

LISTE DES TABLEAUX **12**

LISTE DES FIGURES **13**

LISTE DES ABREVIATIONS **16**

CHAPITRE 1: ETAT DE L'ART **17**

I. Contexte général : un changement de paradigme dans la sélection du blé **19**

II. Elaboration du rendement chez le blé tendre : des composantes interdépendantes avec des réponses spécifiques aux contraintes abiotiques **21**

2.1. Histoire d'un génome complexe 21

2.2. Cycle de développement du blé : mise en place des composantes de rendement et réponses aux facteurs génétiques et environnementaux 25

III. La sélection pour le rendement chez le blé tendre : effets différentiels sur les composantes et défis actuels de l'amélioration variétale **42**

3.1. Historique de la sélection variétale chez le blé tendre : synthèse des variétés modernes 42

3.2. Des variétés modernes aux variétés futures : les fronts de science de la sélection actuelle 47

3.3. Le PMG : de trait secondaire à cible pertinente de la sélection variétale en condition de stress abiotiques post-floraison 52

IV. La face cachée du PMG : une importante variabilité de masses de grains individuels qui reste ignorée **54**

4.1. Déterminisme du PMG : la complexité d'étude d'un trait moyen à l'échelle de la parcelle 54

4.2. Du trait moyen au trait individuel : origine de la variabilité des masses individuelles des grains 58

V. Problématique de la thèse et stratégies de travail **70**

VI. Bibliographie **71**

CHAPITRE 2: ETUDE DE LA VARIABILITE GENETIQUE DU LIEN ENTRE GRAIN MOYEN (PMG) ET DISTRIBUTION DES MASSES DE GRAINS INDIVIDUELS A L'ECHELLE DE PARCELLE 83

Partie 1: Présentation du chapitre 85

Partie 2: Wheat individual grain-size variance originates from crop development and from specific genetic determinism 86

I. Introduction 86

II. Materials and methods 89
2.1. Field experiments 89
2.2. Phenotypic measurement and genotypic data 90
2.3. Statistical analyses 91

III. Results 94
3.1. Individual grain size variance is subjected to both genetic and environmental variabilities 94
3.2. Individual grain size variance is partially driven by yield components 95
3.3. Individual grain size variance also has a specific genetic determinism 97

IV. Discussion 100
4.1. Representativity of the environments studied 100
4.2. GSV is partly driven by canopy structure 100
4.3. GSV also has a specific genetic determinism 102
4.4. Breeding for GSV: putative interest for wheat? 104

V. References 106

VI. Supporting information 110

CHAPITRE 3 : DU GRAIN MOYEN AU GRAIN INDIVIDUEL : APPORT DU CHANGEMENT D'ECHELLE DANS L'ETUDE DES BASES PHYSIOLOGIQUES DES DIFFERENCES GENOTYPIQUES DE PMG 123

Partie 1: Présentation du chapitre 125

I. Structuration du chapitre 3 125

II. Expérimentation : Matériels et méthodes 125
2.1. Choix des cultivars 125
2.2. Design expérimental 129
2.3. Échantillonnage des épis 129

Partie 2: Physiological bases of genotypic differences in average grain weight in wheat: scaling down from plot to individual grain in elite material 131

I. Introduction 132

II. Materials and methods 136

2.1. Experimental design 136
2.2. Plant sampling and measurements 137
2.3. Statistical analyses 138

III. Results 141
3.1. Yield components of the four cultivars under the two contrasting conditions 141
3.2. Differences in individual grain size between cultivars at the canopy scale 142
3.3. Correlations between average grain size and the physiological traits at the scale of the spike 143
3.4. Differences in individual grain sizes between cultivars independent of fruiting efficiency at spike scale 148

IV. Discussion 149
4.1. Relevance of the selected cultivars to explore the grain number/AGW relationship 149
4.2. A significant proportion of the average grain size differences between cultivars is constitutive 150
4.3. Implications at the single grain scale 151
4.4. Interest of independent genetic determinism for grain-size breeding 152

V. References 154

VI. Supplementary data 157

Partie 3: Les différences génotypiques des masses de grains individuels sont-elles constitutives à toutes les positions au sein de l'epi ? 164

I. Introduction 164

II. Matériels et méthodes 165
2.1. Acquisition des données 165
2.2. Analyses statistiques 166

III. Résultats 168
3.1. Composantes de rendement des quatre cultivars dans les deux conditions environnementales 168
3.2. Comparaison entre cultivars de la masse des grains proximaux des épillets 171

IV. Discussion 173

V. Bibliographie 177

VI. Données supplémentaires 178

CHAPITRE 4 : REPONSES DES GRAINS INDIVIDUELS A UN STRESS THERMIQUE POST-FLORAISON 185

Partie 1: Présentation du chapitre 187

Partie 2 : Réponses des grains individuels à un stress thermique post-floraison 188

I. Introduction 188

II. Matériel et méthodes 191
2.1. Expérience et choix des épis 191

2.2. Prélèvement des échantillons et acquisition des données ... 192
2.3. Analyses statistiques ... 194

III. Résultats ... 196
3.1. Impact du stress thermique post-floraison sur la biomasse aérienne ... 196
3.2. Décalages de floraisons et masses des ovaires à anthèse ... 198
3.3. Réponses différentielles des grains individuels au stress thermique post-floraison ... 200
3.4. Effet des décalages développementaux sur la réponse au stress thermique ... 202

IV. Discussion ... 204
4.1. Les grains individuels répondent différemment à un stress thermique post-floraison selon leur position au sein de l'épi ... 204
4.2. Expliquer ces réponses différentielles des grains individuels : vers un modèle d'allocations des assimilats ... 206

V. Bibliographie ... 211

VI. Données supplémentaires ... 213

CHAPITRE 5 : DISCUSSION GENERALE ET CONCLUSION ... 217

I. Synthèse des principaux résultats ... 219

II. Du grain individuel à l'élaboration des distributions de masses sèches au sein de l'épi : vers un modèle mécaniste simplifié d'allocation des assimilats au sein d'un épillet ... 220
2.1. Elaboration d'un modèle d'allocation des assimilats au sein d'un épillet ... 220
2.2. Résultats et perspectives du modèle simplifié d'allocation des assimilats au sein d'un épillet ... 226

III. Du grain individuel à l'élaboration du PMG sous stress abiotiques post-floraison : vers un modèle d'intégration de la variabilité des masses de grains individuels ... 232
3.1. Modélisation statistique de l'effet d'un stress thermique post-floraison sur des distributions de masses de grains individuels ... 233
3.2. Modélisation de distributions de masses de grains individuels ... 238
3.3. Vers l'idéotypage ... 241

IV. La variance : à la recherche de la stabilité ... 243

V. Bibliographie ... 245

CHAPITRE 6: ANNEXES ... 246

Partie 1 : Contributions scientifiques ... 247

I. Publications dans des revues à comité de lecture ... 247

II. Communications ... 249
2.1. Présentations orales ... 249
2.2. Communications écrites ... 253

Partie 2 : Formations ... 259

LISTE DES TABLEAUX

Chapitre 2 :

Table 2-1 : Description of the distributions of individual grain size (projected area (mm^2))..... 94
Table 2-2 : Description of yield components. 95
Table 2-3 : Description of the QTL found in the four environments. 97
Table 2-4 : Colocalisations of QTL. 98
Table 2-5 : Explained variance by QTL. 99

Chapitre 3 :

Table 3-1 : Average yield components of each cultivar in multi-environment field trials (Standard deviations in parentheses). 136
Table 3-2 : Design points chosen for each covariate under both conditions (well-watered and water-deficit) for the robust ANCOVA 139
Tableau 3-3 : Nombre d'épis pris en compte dans les analyses statistiques par classe (petits, médians et gros épis) pour les quatre cultivars pour les deux conditions environnementales 166
Tableau 3-4 : Composantes de rendement moyennes par épi pour les quatre cultivars pour les deux conditions environnementales. 169

Chapitre 4 :

Tableau 4-1 : Moyenne et écart-type (SD) pour la biomasse sèche à maturité des différents compartiments pris en compte en condition témoin et en condition de stress thermique post-floraison. 197

Chapitre 5 :

Tableau 5-1 : Symboles, description, équation et valeurs des différents variables et paramètres du modèle. 223
Tableau 5-2 : Tableau des abréviations utilisées..... 239

LISTE DES FIGURES

Chapitre 1 :

Figure 1-1 : Relations phylogénétiques entre les différentes céréales..... 21
Figure 1-2 : Evènements de polyploïdisation ayant abouti à l'apparition du blé tendre (A) et structuration du génome du blé tendre (B)..... 23
Figure 1-3 : Evolution des caractères morphologiques des épis de blé en lien avec la domestication. 24
Figure 1-4 : Les différents phases de développement dans le cycle de vie d'une plante de blé et les composantes de rendement associées. 26
Figure 1-5 : Agencement des talles chez le blé..... 27
Figure 1-6 : Morphologie de la plante de blé. 28
Figure 1-7 : Anatomie de l'épi de blé, de l'épillet et de la fleur. 31
Figure 1-8 : Détermination de la fertilité épi..... 31
Figure 1-9 : Effets des stress abiotiques sur la mise en place des organes reproducteurs des céréales 33
Figure 1-10 : Effets de la sécheresse, de températures élevées et de stress hydrique et thermique combinés à anthèse sur le nombre de grains par épi (P < 0,01) sur des génotypes de blé hexaploïdes synthétiques et des cultivars de blé tendre de printemps..... 33
Figure 1-11 : Relations et mises en place des composantes du rendement du blé. 35
Figure 1-12 : Histologie du grain de blé tendre..... 36
Figure 1-13 : Sections transversales d'un grain de blé tendre en développement (cultivar Hereward) illustrant les profondes modifications subies par le grain au cours de son développement. 38
Figure 1-14 : Dynamique de mise en place des dimensions et du contenu des grains pendant le développement du grain de blé..... 39
Figure 1-15 : Effets de la sécheresse, de températures élevées et de stress hydrique et thermique combinés 21 jours après anthèse sur la masse moyenne d'un grain (mg) (P < 0,01) sur des génotypes de blé hexaploïdes synthétiques et des cultivars de blé tendre de printemps..... 41
Figure 1-16 : Chronologie de la sélection chez le blé. 43
Figure 1-17 : Modèle conceptuel des composantes physiologiques du rendement du blé..... 45
Figure 1-18 : Régressions sur les 26 cultivars d'une collection de Cimmyt (CIMCOG) a) du rendement en grains sur la biomasse aérienne (AGDM) à la récolte, b) du rendement en grains sur l'indice de récolte (Harvest Index), c) de l'indice de récolte sur l'AGDM à la récolte et d) du rendement en grains sur la hauteur de la plante. 49
Figure 1-19 : Régressions sur les 26 cultivars CIMCOG de l'efficience de la fructification (Fruiting efficiency) (nombre de grains par gramme de matière sèche d'épi par m^{-2}) sur le nombre de grains par m²..... 50
Figure 1-20 : Schéma présentant les deux possibilités physiologiques qui pourraient entraîner une augmentation de l'efficience de fructification (en pointillé), soit en réduisant la demande de fleurs individuels en assimilats nécessaires à leur survie, soit en modifiant la répartition des assimilats au sein de l'épi en faveur des fleurs potentielles. 51
Figure 1-21 : Réponse relative au stress thermique pendant le remplissage du grain de la durée de remplissage du grain observée et simulée à partir de quatre modèles de blé pour deux cultivars de blé d'hiver..... 53
Figure 1-22 : Contrôle génétique du PMG dans le blé..... 55

Figure 1-23 : Représentation schématique du gradient vertical (A, B), et du gradient horizontal (C, D) au sein de l'épi. 59
Figure 1-24 : Décalage moyen du temps de floraison par rapport à la position de l'épillet dans l'épi et à la position de la fleur dans l'épillet pour les cultivars Apache (A) et Renan (B). 61
Figure 1-25 : Relations entre la masse de l'ovaire à anthèse et la masse finale du grain. 63
Figure 1-26 : Représentation schématique du modèle vasculaire d'aorte proposé dans un épi/épillet de blé. 66
Figure 1-27 : Masse moyenne des grains individuels en position 1 (G1, grain le plus proximal), 2 (G2), 3 (G3), 4 (G4) au sein d'un épillet (Figure 1-19) le long d'un épi pour des cultivars inscrits à différentes périodes. 69

Chapitre 2 :

Figure 2-1 : Pearson correlations among grain size variance and yield components. 96

Chapitre 3 :

Figure 3-1 : Positionnement des cultivars Altigo, Solehio, Cellule et SY Moisson en fonction de leurs nombres d'épis par m² et leur nombre de grains par épi par rapport à un panel de cultivars dans des essais post-inscription multi-environnements (entre 2007 et 2019). 127
Figure 3-2 : Positionnement des cultivars Altigo, Solehio, Cellule et SY Moisson en fonction de leurs nombres de grains par m² et leur PMG (Poids de Mille Grains) par rapport à un panel de cultivars dans des essais post-inscription multi-environnements. 128
Figure 3-3 : Méthode d'échantillonnage des épis à partir d'un prélèvement de 130 épis par micro-parcelle par génotype. La centaine d'épis sera utilisée dans les analyses de la partie 2 du chapitre 4. Les 24 épis (8 épis*3 classes d'épis) seront utilisés dans les analyses de la partie 3 du chapitre 4. 130
Figure 3-4 : Boxplot of average grain weight (AGW) determined for each spike sampled from the four wheat cultivars Altigo, Solehio, Cellule and SY Moisson, under well-watered (A) and water-deficit conditions (B). 142
Figure 3-5 : Distributions of all individual grain sizes (mm²) for all spikes sampled for all four cultivars under well-watered (A) and water-deficit conditions (B). 143
Figure 3-6 : Relationship between the number of grains per spike and their average grain size (mm²) for each cultivar under well-watered (A) and water-deficit conditions (B). 144
Figure 3-7 : Relationships between spike dry weight at anthesis (SDWa) (g) and average grain size (mm²) per spike for each cultivar under well-watered (A) and water-deficit conditions (C). Distributions of spike dry weight at anthesis (SDWa) (g) for each cultivar under well-watered (B) and water-deficit conditions (D). 145
Figure 3-8 : Relationship between the fruiting efficiency (FE) (number of grains per gram of spike (g^{-1})) and the average grain size (mm²) per spike for each cultivar under well-watered (A) and water-deficit conditions (C). Distributions of the fruiting efficiency (FE) (number of grains per gram of spike (g^{-1})) per spike for each cultivar under well-watered (B) and water-deficit (D) conditions. 147
Figure 3-9 : Relationship between grain classes and the estimated adjusted grain size (mm²) per grain class for each wheat cultivar under well-watered (A) and water-deficit conditions (B). 148
Figure 3-10 : Numérotation des grains selon leur positionnement de chaque grain selon la position de l'épillet sur l'épi et sa position au sein d'un épillet. 166
Figure 3-11 : Distributions de masses de grains individuels selon la position de l'épillet pour les deux conditions environnementales (A) Well-watered condition, B) Water-deficit condition). 172

Chapitre 4 :

Figure 4-1 : Chambre 1 (Témoin, Température moyenne journalière = 25°C) pendant la phase de remplissage des épis. Les épis repérés présentent une étiquette rouge avec un numéro unique. 192
Figure 4-2 : Echantillonnage d'un épi avec position des grains individuels au sein d'un épi (A) et dans une plaque 96 puits permettant le repérage des grains (B). 193
Figure 4-3 : Date de floraison (°CJ) à partir de la première floraison à chaque position du grain au sein des épillets et pour tous les épillets (numérotés à partir de la base). 198
Figure 4-4 : Masse sèche moyenne de l'ovaire (mg) à chaque position de l'ovaire au sein des épillets et pour tous les épillets. 199
Figure 4-5 : Pourcentage moyen de perte de matière sèche due au stress thermique post-floraison par rapport à la masse sèche moyenne des grains (mg) en condition témoin pour chaque grain au sein de chaque épillet. 201
Figure 4-6 : Masses sèches moyennes des épillets par position d'épillet (mg). Ces masses sèches sont calculées en prenant compte les masses de tous les grains individuels par épillet. 201
Figure 4-7 : Relation entre la date de floraison à chaque position du grain au sein de l'épi (°CJ) à partir de la première floraison et le pourcentage moyen de perte de matière sèche due au stress thermique post-floraison par numéro d'épillet (code couleur) et par position des grains au sein des épillets (code forme) 202
Figure 4-8 : Relation entre la masse sèche de l'ovaire à floraison complète (mg) et le pourcentage moyen de perte de matière sèche due au stress thermique post-floraison par numéro d'épillet (code couleur) et par position des grains au sein des épillets (code forme). 203

Chapitre 5 :

Figure 5-1 : Schéma du modèle mécaniste simple d'allocations des assimilats au sein d'un épillet. 222
Figure 5-2 : Exemple de simulation des flux d'assimilats dans les grains 1 (A,B) et 3 (C,D) et des limitations par le système vasculaire (FV_i) et la capacité de fourniture en assimilats ($FS_{i,t}$). D_i est la demande et $FE_{i,t}$ le flux entrant. 225
Figure 5-3 : Dynamique simulée de remplissage des grains 1 et 3 au sein d'un épillet modélisé. 225
Figure 5-4 : Pourcentage de perte de masse sèche allouée aux grains 1 par rapport à la perte totale de masse sèche des grains 1 et 3 (Ratio de perte de masse sèche) pour différentes combinaisons du ratio des forces de puits du grain 1 par rapport au grain 3 (PFP) et du ratio de limitations vasculaires du grain 1 sur le faisceau principal (PFV). 229
Figure 5-5 : Masses des grains individuels 1 et 3 (G1 et G3 respectivement) en mg dans la condition témoin et la condition stressée (diminution de 15% des forces de puits).. 229
Figure 5-6 : Modélisation statistique de la perte de masse pour chaque grain individuel de la distribution de masse de grain individuel à partir des données du chapitre 4. 234
Figure 5-7 : Perte de PMG (P_{PMG}) (%) due à un stress thermique post-floraison en fonction de la variance des masses de grains individuels intra-génotypiques (σ^2). 237
Figure 5-8 : Distributions de masses de grains individuels pour un PMG_t = 40 mg et avec des variances de masses de grains individuels (50 mg^2; 150 mg^2) dans deux conditions (témoin et stress thermique post-floraison).. 237
Figure 5-9 : Schéma récapitulatif de la mise en place de la variabilité des masses de grains individuels à l'échelle de la parcelle. 239
Figure 5-10 : Effet de la mise en place du nombre de grains par m² sur la variabilité des masses de grains individuels à l'échelle de la parcelle. 240

LISTE DES ABREVIATIONS

AGW : Masse moyenne des grains (Average grain weight)

ANCOVA: Analyse de la covariance

ANOVA: Analyse de la variance

FE : Efficience de fructification (Fruiting efficiency)

GPM2: Nombre de grains par m² (Number of grains per m²)

GPS: Nombre de grains par épi (Number of grains per spike)

GSM : Surface moyenne des grains (Grain size mean)

GSV : Variance des surfaces des grains (Grain size variance)

GY: Rendement en grains (Grain yield)

LD: Déséquilibre de liaison (Linkage disequilibrium)

PMG: Poids de Mille Grains

QTL: Quantitative trait loci

SDWa: Masse sèche d'épi à anthèse (Spike dry weight at anthesis)

SDWm: Masse sèche d'épi à maturité (Spike dry weight at maturity)

SNP: Single Nucleotide Polymorphism

SPM2: Nombre d'épis par m² (Number of spikes per m²)

TKW: Thousand Kernel Weight

CHAPITRE 1: ETAT DE L’ART

I. Contexte général : un changement de paradigme dans la sélection du blé

Le blé joue un rôle majeur dans la sécurité alimentaire mondiale avec environ 760 millions de tonnes produits en 2020 (Source : FAOSTAT 2020) et une contribution de 20% au total des calories et protéines consommées en alimentation humaine. Avec une projection d'une population mondiale de 9.7 milliards d'habitants d'ici 2050, un des défis pour la filière productrice de blé est une augmentation des rendements dans un contexte général complexe.

La situation actuelle est en effet marquée par un contexte climatique changeant, des évolutions socio-économiques importantes, aussi bien que par une tendance lourde à un changement des pratiques en agriculture. A partir des années 60, l'augmentation des rendements en céréales a été réalisée *via* l'amélioration variétale en lien avec le développement de techniques agricoles innovantes (fertilisation et protection des cultures, irrigation, techniques de travail du sol). Les conséquences de la mise en place de tels systèmes agronomiques intensifs, ainsi que leur légitimité, sont discutées dans le contexte actuel où la prise en compte des externalités négatives de la production agricole est devenue une préoccupation majeure (Hamant, 2020; Phipps and Park, 2002). De plus, le changement climatique augmente de manière drastique la probabilité d'occurrence et l'intensité des épisodes de stress abiotiques (Semenov, 2007; Weisheimer and Palmer, 2005), tels que la sécheresse et les stress thermiques (Semenov and Shewry, 2011) ; stress évidemment particulièrement dévastateurs pour les cultures (Bartels and Sunkar, 2005). Ainsi, il a été estimé que la production mondiale de blé serait diminuée de 6 % pour chaque °C d'augmentation de la température globale et deviendrait toujours plus variable dans l'espace et le temps (Asseng *et al.*, 2015). Le gain génétique annuel est en partie contrebalancé par cette occurrence accrue d'épisodes de stress abiotiques. Une étude en France (Brisson *et al.*, 2010) a en effet montré depuis la fin des années 1990 une stagnation des rendements en blé malgré un gain génétique annuel de 0.10 à 0.12 $t.ha^{-1}$.

Dans ce contexte, la sélection telle qu'elle était effectuée dans le passé, c'est-à-dire en sélectionnant des variétés très productives dans des environnements caractérisés par de forts niveaux d'intrants, n'est plus possible. De nouvelles stratégies agronomiques basées sur la recherche de résilience des cultures face aux fluctuations environnementales sont en plein essor et ont vocation à se généraliser (Hamant, 2020). Parmi ces stratégies, les pratiques agro-écologiques se développent abondamment (Wezel *et al.*, 2014), telles que les mélanges variétaux (Barot *et al.*, 2017) ou les mélanges interspécifiques (Malézieux *et al.*, 2009) pour ne

mentionner que celles qui s'appliquent à l'échelle de la parcelle cultivée. De nouvelles solutions sont donc à trouver et à mettre en œuvre pour créer des variétés adaptées à ce nouveau contexte. Cette thèse s'inscrit dans cette dynamique.

Dans ce premier chapitre, nous allons d'abord décrire les grandes étapes de la mise en place du rendement chez le blé tendre et l'impact des stress abiotiques sur le cycle de développement du blé. Par la suite, nous verrons quels effets la sélection passée a pu avoir sur les différentes composantes mises en place lors de l'élaboration du rendement et quels nouveaux défis apparaissent pour la sélection variétale des décennies à venir. Cela nous permettra de mettre en évidence l'intérêt de nous focaliser sur une composante particulière qui, bien que largement étudiée dans des travaux antérieurs, peut mettre en lumière de nouvelles pistes d'intérêt : le Poids de Mille Grains ou PMG. En conclusion, les objectifs de la thèse seront présentés.

II. Elaboration du rendement chez le blé tendre : des composantes interdépendantes avec des réponses spécifiques aux contraintes abiotiques

2.1. Histoire d'un génome complexe

2.1.1. Classification du genre Triticum

Le blé tendre (*Triticum aestivum* L.) est une espèce du genre *Triticum*. Le genre *Triticum* appartient à la famille des Poacées au sein des angiospermes monocotylédones. La famille des Poacées est elle-même constituée de trois sous-familles majeures, les Panicoidées (sorgho, maïs), les Ehrhartoidées (riz) et les Pooidées (blé, orge) (Figure 1-1). Cette famille de plantes inclut les céréales cultivées les plus importantes sur le plan économique. Ces sous-familles présentent de nombreux points communs. Ce sont toutes des plantes herbacées, cultivées pour leurs grains utilisés en alimentation humaine ou animale, et elles possèdent des caractéristiques morphologiques communes (tiges, organisation de l'inflorescence).

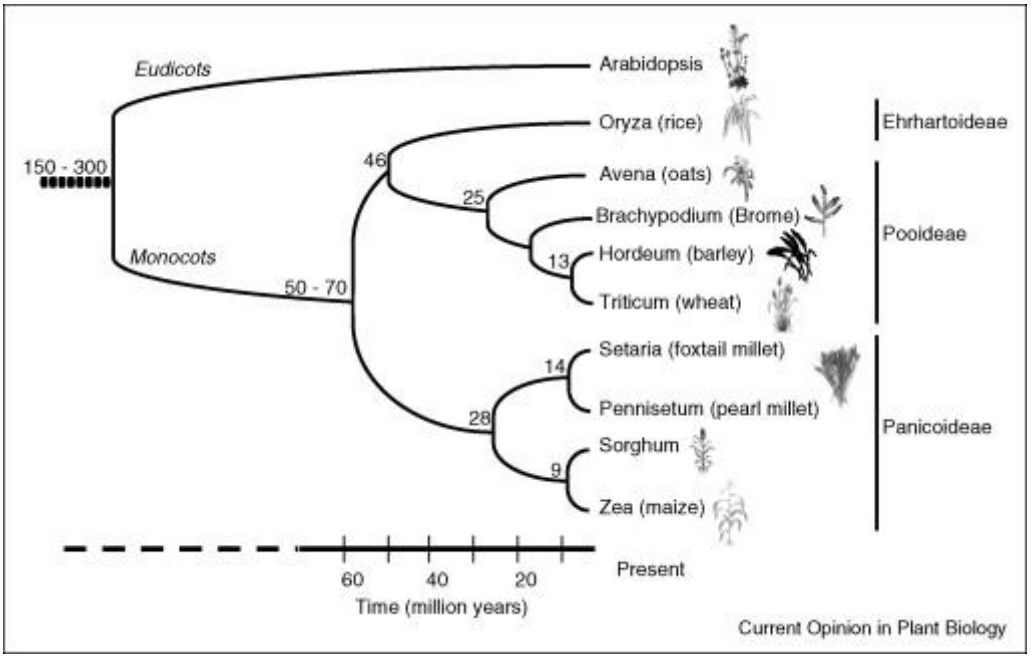


Figure 1-1: Relations phylogénétiques entre les différentes céréales. *Les nombres représentent les temps de divergence d'un ancêtre commun (en millions d'années). D'après (Bolot et al., 2009).*

Des études génétiques (Bolot *et al.*, 2009 et références citées) ont démontré d'ailleurs une importante colinéarité entre les chromosomes des espèces de ces sous-familles et l'existence de nombreux gènes orthologues entre ces espèces.

2.1.2. Histoire évolutive du genre Triticum

L'histoire du genre *Triticum* est marquée par plusieurs évènements d'alloploïdisation liés pour certains à la domestication (Dubcovsky and Dvorak, 2007) et aboutissant à des espèces modernes de ploïdie variée. A la base de ces espèces modernes, trois ancêtres communs diploïdes présentant trois génomes distincts peuvent être identifiés : *Triticum urartu* (portant le génome AA; 2n=14), une espèce diploïde inconnue proche de l'espèce *Aegilops speltoïdes* (portant le génome BB; 2n=14) et *Triticum tauschii* (portant le génome DD; 2n=14). Il y a environ 0.5 Ma, une première hybridation entre *T. urartu* portant le génome AA, et une espèce diploïde inconnue proche de l'espèce *A. speltoides* portant le génome BB a eu lieu pour donner une nouvelle espèce tétraploïde, l'amidonnier sauvage, (*T. dicoccoides*) portant le génome BBAA. La domestication de cette nouvelle espèce tétraploïde est à l'origine de *T. durum* (blé dur). Il y a environ 8000 - 10000 ans, une deuxième hybridation entre l'amidonnier cultivé et *Aegilops tauschii*, est à l'origine du blé tendre allohexaploïde *T. aestivum* (BBAADD), composé des trois sous-génomes ancestraux et par conséquent de 6n = 42 chromosomes (Figure 1-2).

Le génome du blé tendre est par conséquent de très grande taille et estimé à 16 Gb, sa séquence de référence étant publiée en 2018 (The International Wheat Genome Sequencing Consortium (IWGSC) *et al.*, 2018). Cependant, ce génome est d'une part très redondant du fait de la présence des trois sous-génomes apparentés (copies homéologues) et d'autre part présente 85% de séquences répétées (IWGSC, 2018). Les évènements de polyploïdisation ont ainsi généré un génome complexe et plastique, qui a permis une grande adaptabilité du blé tendre à un grand nombre d'environnements. Ces évènements de polyploïdisation ont également eu des effets sur la diversité génétique et par extension impactent la recherche de progrès génétique.

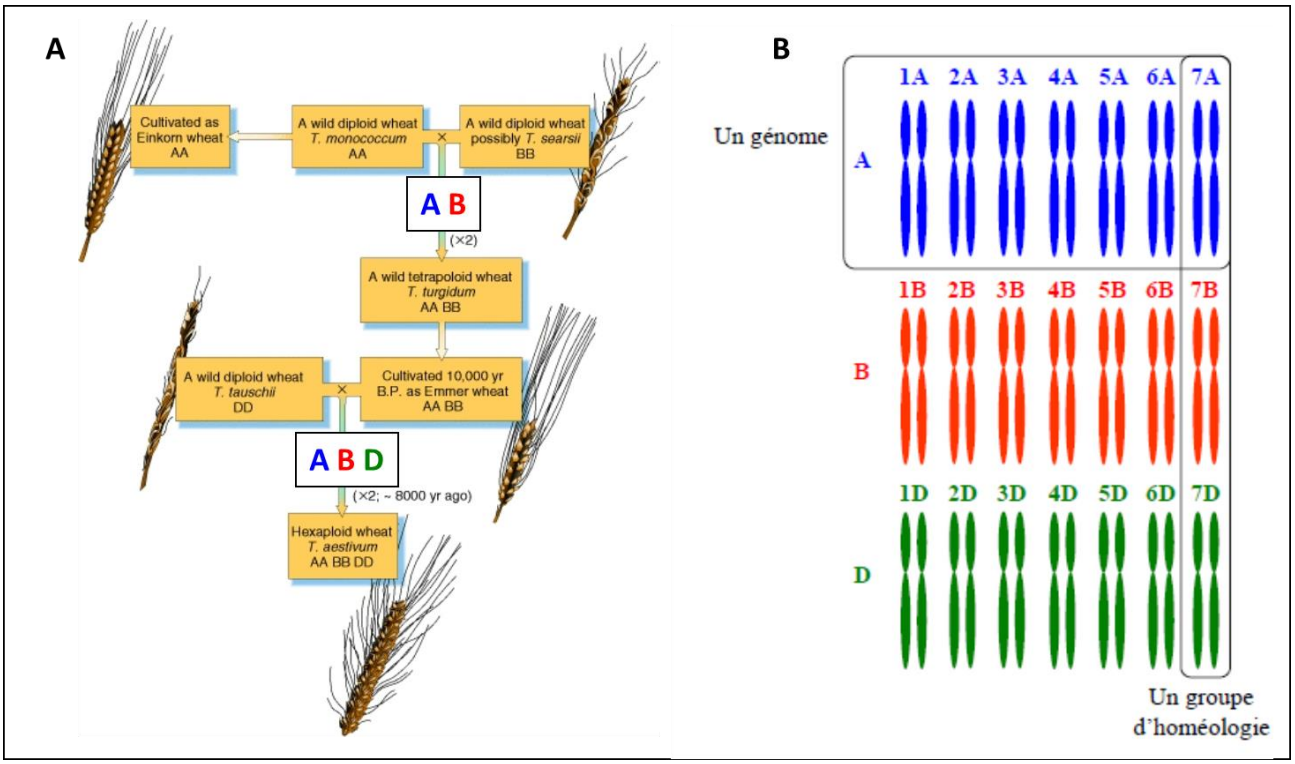


Figure 1-2 : Evènements de polyploïdisation ayant abouti à l'apparition du blé tendre (A) et structuration du génome du blé tendre (B) *(The Wheat Big Picture, http://biogromit.bio.bris.ac.uk/cerealgenomics/WheatBP).*

La domestication du blé a, de plus, eu des conséquences sur les caractéristiques morphologiques de la plante *via* la sélection empirique d'allèles mutés sur certains locus. En particulier la fixation de mutation sur les locus Br, Q et Tg a abouti à des épis solides, compacts et porteurs de grains nus (Dubcovsky et Dvorak, 2007 ; Shewry, 2009; Xie *et al.*, 2018) (Figure 1-3). Une diminution de la dormance de la graine, une diminution du nombre de talles, une modification de l'architecture de l'épi de blé (d'un épi fragile avec un rachis cassant à un épi solide et compact) ainsi qu'une augmentation de la taille des grains sont également des caractéristiques morphologiques issues de la domestication (Dubcovsky et Dvorak, 2007). Ces caractères morphologiques ont ensuite constamment évolué sous la pression des processus de sélection (*Cf.* III.2.).

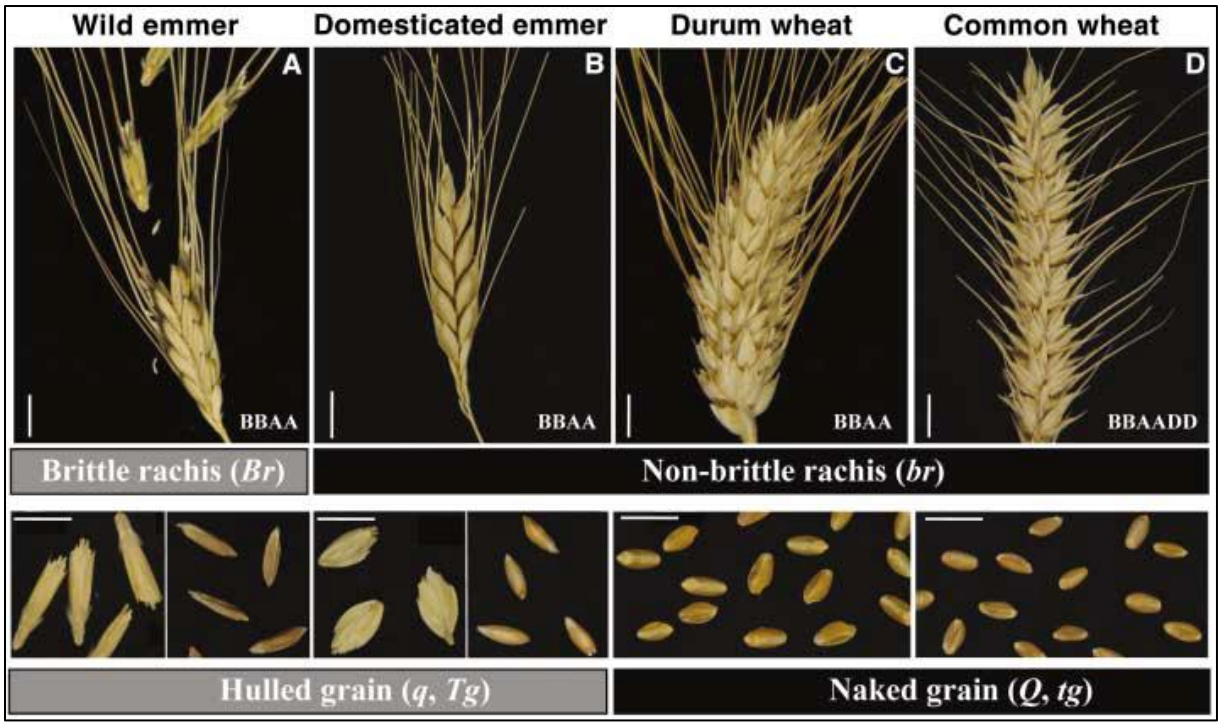


Figure 1-3: Evolution des caractères morphologiques des épis de blé en lien avec la domestication. *Épis de blé montrant (A) un rachis cassant, (B à D) un rachis non cassant, (A et B) un grain vêtu (glumelles adhérentes au caryopse) et (C et D) un grain nu. (A) Amidonnier sauvage (T. turgidum ssp. dicoccoides), (B) amidonnier domestique (T. turgidum ssp. dicoccon), (C) du blé dur (T. turgidum ssp. durum) et (D) du blé tendre (T. aestivum). Les barres d'échelle représentent 1 cm. Les lettres dans le coin inférieur droit indiquent le génome de chaque type de blé. Symboles : Br, rachis cassant ; Tg, glumes tenaces ; et Q, épi cassant avec glumes. D'après Dubcovsky et Dvorak, 2007.*

Pour mieux comprendre quels ont été les effets de la sélection sur le blé et ses caractéristiques morphologiques, que cela soit sur la valeur moyenne des traits à l'échelle de l'espèce ou à l'échelle des écotypes adaptés à des zones pédo-climatiques spécifiques, une analyse plus fine du cycle de développement de la plante est nécessaire.

2.2. Cycle de développement du blé : mise en place des composantes de rendement et réponses aux facteurs génétiques et environnementaux

Dans un objectif de simplicité, le cycle de développement du blé tendre peut être divisé en trois phases physiologiques : la phase végétative, la phase reproductive et la phase de remplissage des grains. Classiquement, l'analyse agronomique de la performance du blé se fait par une décomposition en composantes de rendement, dont une des premières formalisations date de 1923 (Engledow and Wadham, 1923). Cette approche a le mérite de décomposer le cycle en processus distincts, séparés temporellement et ayant chacun des sensibilités spécifiques aux variables de l'environnement. Le rendement est ainsi décomposé de manière simplifiée en trois principales composantes : le nombre d'épis par m², le nombre de grains par épi et la masse moyenne des grains exprimée souvent sous la forme du Poids de Mille Grains ou PMG. Le nombre d'épis par m² peut se décomposer en deux sous-composantes : le nombre de plantes par m² et le nombre d'épis par plante. Le nombre de grains par épi peut également se diviser en deux sous-composantes : le nombre d'épillets par épi et le nombre de grains par épillet (Figure 1-4).

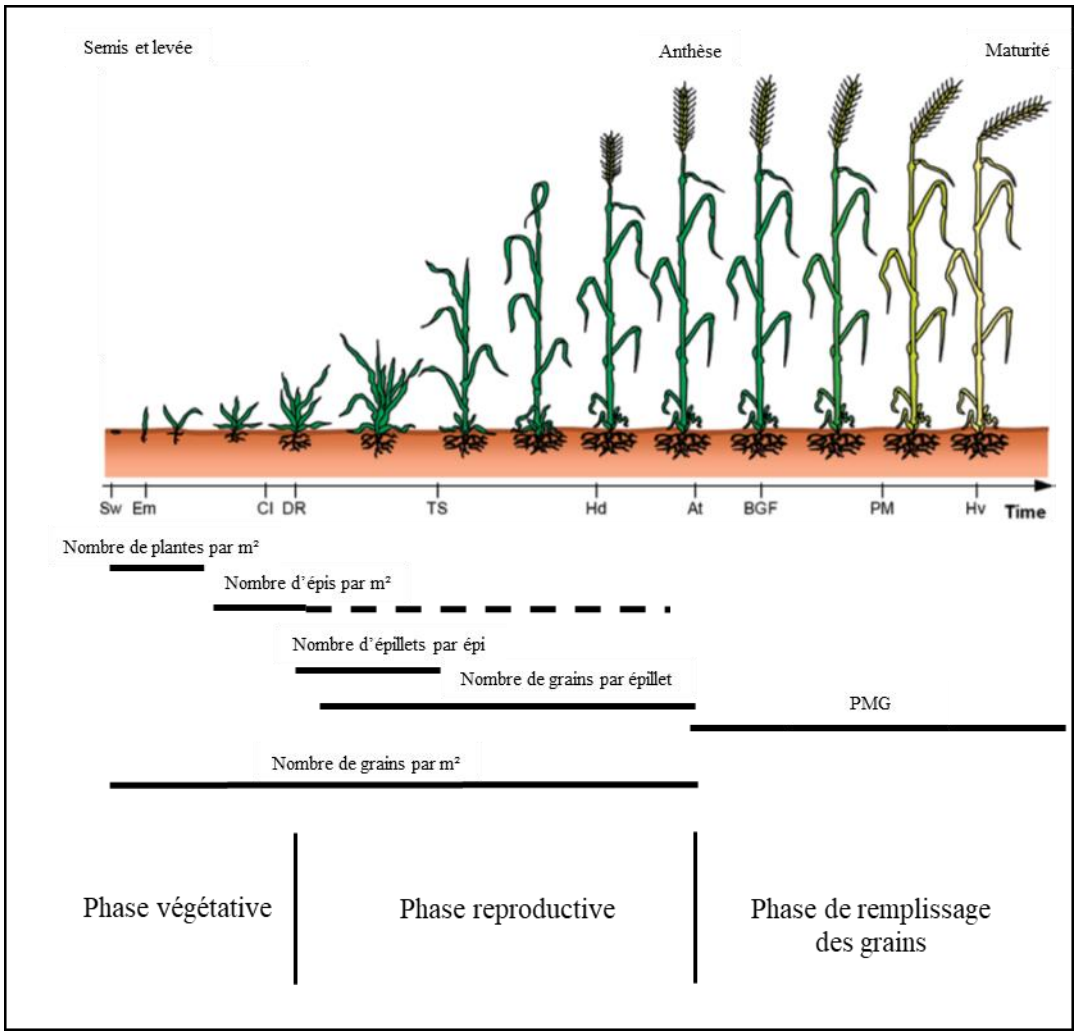


Figure 1-4: Les différents phases de développement dans le cycle de vie d'une plante de blé et les composantes de rendement associées. *Sw : Sowing ; Em : emergence ; CI: Collar initiation ; DR : Double ridge ; TS : Terminal spikelet ; Hd : Heading ; At : Anthesis ; BGF: Beginning of grain filling; PM: Physiological maturity ; Hv: Harvest. Adapté d'après Guo et al., 2015.*

2.2.1. La phase végétative : mise en place du nombre d'épis par m²

La mise en place des composantes de rendement commence lors de la phase végétative après le semis. Suite au semis, la germination de la graine de blé peut se produire entre 4°C et 37°C, les températures optimales étant entre 12°C et 25°C. Un contenu minimum en eau de la graine de 35 à 45% est également requis. Lors de la germination, une radicule émerge suivie du coléoptile, qui est une structure transitoire formant une gaine protectrice pointue autour des pousses émergentes. Les racines séminales se développent ensuite en même temps que les premières feuilles (Figure 1-5) (Setter et Carlton 2000; Acevedo *et al.*, 2002). La taille et la forme de la graine peuvent avoir une influence sur le processus de germination (Aparicio *et al.*, 2002; Lafond and Baker, 1986; Spilde, 1989). Chez le blé dur (Aparicio *et al.*, 2002), la surface des premières feuilles est ainsi très sensible à la taille et la forme de la graine. Chez le blé tendre (Lafond and Baker, 1986), une taille importante de la graine favorise une plus grande biomasse de la radicule. Enfin, Spilde (1989) a montré que chez l'orge et le blé tendre de printemps une graine de grande taille permet une croissance plus importante et potentiellement un rendement supérieur.

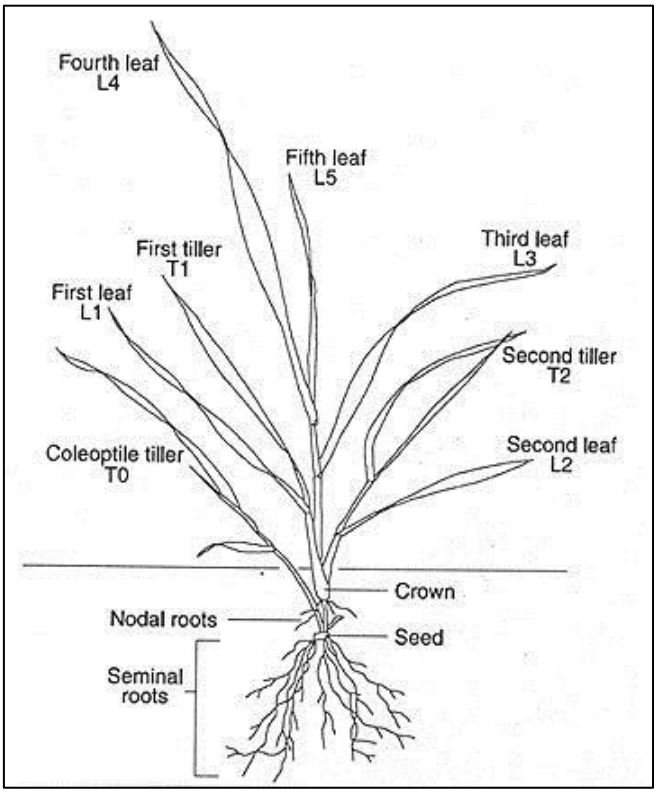


Figure 1-5 : Agencement des talles chez le blé. *La talle primaire ou maître brin est issue du bourgeon apical, tandis que les talles secondaires sont issues de bourgeons axillaires situés au niveau du plateau de tallage. La talle issue du bourgeon du coléoptile n'est pas une talle secondaire au sens strict, et demeure généralement plus chétive. D'après Bertheloot, 2009.*

Suite à la germination, la croissance de la plantule se poursuit, depuis le stade début du tallage jusqu'à l'apparition de la dernière feuille (Setter et Carlton 2000 ; Acevedo *et al.*, 2002).

Le début du tallage correspond à la mise en place et au développement des talles à partir du plateau de tallage (Figure 1-6). La première talle formée est appelée le « brin maître » ou maître-brin. Les deux talles suivantes apparaissent et se développent à partir de bourgeons à l'aisselle des feuilles lorsque le brin maître possède trois ou quatre feuilles. Le développement aérien se réalise par émission de phytomères successifs (Figure 1-6) avec un intervalle d'environ 100°C.j^{-1} qui sépare l'émergence d'une feuille et la suivante (phyllochrone) (Setter et Carlton 2000 ; Acevedo *et al.*, 2002).

En parallèle, le système racinaire primaire (racines séminales, Figure 1-5) mis en place lors de la germination laisse la place en début de tallage à un système racinaire secondaire fasciculé.

Au cours de cette phase, les appareils racinaire et aérien se développent permettant de mettre en place des capacités de stockage et d'assimilation du carbone et de l'azote. Ainsi, si les capacités d'absorption de l'azote sont liées au développement du système racinaire (Laperche *et al.*, 2006), les capacités d'absorption du carbone sont en majorité liées à la surface foliaire (Evans, 1989; Makino, 2011).

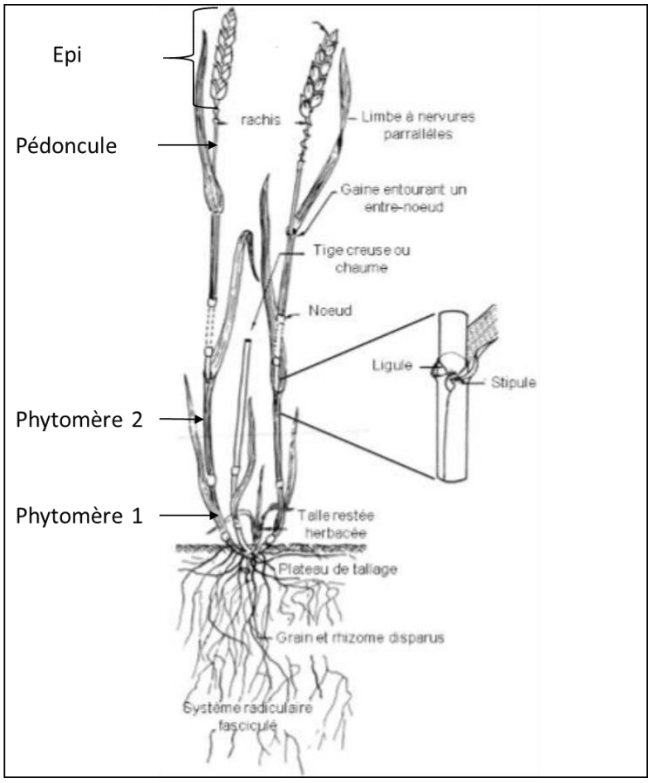


Figure 1-6 : Morphologie de la plante de blé. *La partie souterraine est constituée d'un système racinaire fasciculé, et la partie aérienne de talles. Une talle est constituée d'un appareil racinaire, d'un ensemble d'unités morphologiques appelées phytomères (un nœud, un entre-noeud, une gaine foliaire ainsi qu'un limbe foliaire), d'un pédoncule et d'un épi. D'après Soltner, 1988 et Bertheloot, 2009.*

Durant cette phase végétative, le nombre de plantes par m² et le nombre d'épis par plante (issus du tallage) se mettent en place. Ces sous-composantes de rendement sont soumis à des facteurs génétiques, pour le nombre d'épis par m², et environnementaux.

Il existe en effet un déterminisme génétique du tallage (Soltner, 1988 ; Acevedo *et al.*, 2002). Son étude a dévoilé une influence majeure du gène TIN (Tiller INhibitor, Moeller *et al.*, 2014) mais également d'un QTL majeur expliquant entre 12 et 56% de la variance phénotypique du nombre de talles fertiles (Liu *et al.*, 2020).

L'environnement a également un effet sur la mise en place du nombre de plantes par m² et du nombre d'épis par plante. Dès la levée, l'engorgement et/ou la compaction des sols peuvent ralentir la diffusion de l'oxygène et par conséquent ralentir le processus de germination (Setter et Carlton, 2000). De plus, les stress thermiques et hydriques sont susceptibles de diminuer l'émergence des graines (Bouaziz and Hicks, 1990) et donc d'impacter la qualité de la levée de la culture qui détermine le nombre de plantes par m². Par la suite, le tallage est sensible à la densité de semis (Yang *et al.*, 2019) ainsi qu'à la compétition lumineuse du couvert. Le tallage est ainsi limité par la perception de la densité de couvert via la détection et l'intégration du ratio de lumière de type rouge clair-rouge sombre (R:FR) (Evers *et al.*, 2007). La disponibilité en azote joue également un rôle prédominant dans la mise en place du nombre d'épis par m² (Sinclair and Jamieson, 2006 et références citées). La sensibilité du tallage aux stress thermiques (Acevedo *et al.*, 2002.; Midmore *et al.*, 1984) se traduit par une diminution de la durée du cycle et une diminution de la surface foliaire avec par exemple un indice de surface foliaire divisé par cinq en cas d'augmentation de 15°C (Acevedo *et al.*, 2002). Le tallage est également sensible à la sécheresse (Blum *et al.*, 1990), même si un tallage tardif peut lui permettre de compenser partiellement. Enfin, un stress salin fort (Pessarakli and Huber, 1991) peut diminuer de 30 à 40% la biomasse racinaire.

A l'issue de cette phase de développement végétatif, le nombre d'épis par m² peut être considéré comme fixé. Il est à noter qu'un tallage tardif est possible dans certaines circonstances, par exemple en cas de stress hydrique précoce (Acevedo *et al.*, 2002) mais a très peu d'effets sur le rendement en conditions environnementales optimales.

2.2.2. La phase reproductive : mise en place du nombre de grains par épi

La phase reproductive succède à la phase végétative et correspond à la mise en place des organes reproducteurs. Lorsque le maître-brin présente 4 à 8 feuilles, l'apex de la plante cesse de former des ébauches de feuilles pour initier le développement de l'épi ce qui constitue l'initiation florale. Un épi, qui est botaniquement une inflorescence d'inflorescences, présente un axe principal, le rachis, qui porte entre 15 à 25 épillets, organisés en 2 rangées situées de part et d'autre du rachis. Un épillet est un ensemble de fleurs ordonnées à l'intérieur de deux glumes (Figure 1-7). Lors de la formation de l'épi, l'apex s'allonge et, en se segmentant, forme les ébauches des futurs épillets ainsi que les *primordia* des glumes les entourant (Figure 1-7) (Soltner, 1988). Chaque épillet présente un nombre initial de fleurs potentielles (*primordia*), jusqu'à 12 fleurs au maximum selon la position des épillets au sein de l'épi (Sibony and Pinthus, 1988). Ce grand nombre de fleurs potentielles est initié entre le stade TS (terminal spikelet ou épillet terminal) et le stade GA (green anther ou anthères vertes) (Figure 1-8), où le nombre maximal de fleurs potentielles est atteint (Guo and Schnurbusch, 2015). Cette initiation des fleurs potentielles débute pour les fleurs basales des épillets centraux et se poursuit de façon acropète au sein de chaque épillet et de façon acropète et basipète le long de l'axe de l'épi (Baillot *et al.*, 2018; Sibony and Pinthus, 1988). Moins de la moitié de ces fleurs survit et génère des fleurs fertiles à floraison (ou anthèse) (Fischer, 1985). La floraison (ou anthèse) est empiriquement notée au moment où les étamines (et donc les anthères) émergent des glumelles de 50% des fleurs d'un épi. Le blé est cléïstogame, c'est-à-dire que la fécondation a le plus souvent lieu à l'intérieur des glumelles (Soltner, 1988). La fécondation précède l'anthèse de quelques heures qui est prise comme point de référence pour la fécondation. Du fait de ces caractéristiques de floraison, l'autofécondation est le mode de reproduction principal du blé, qui est par conséquent une plante très majoritairement autogame. Une fois les ovaires de ces fleurs fertilisés, une proportion réduite de ces ovaires fécondés peut avorter (Figure 1-8). En prenant en compte les phénomènes de stérilité et d'avortement, le taux de survie des fleurs est généralement faible, entre 20 et 40% (Ghiglione *et al.*, 2008; González *et al.*, 2011; Miralles *et al.*, 1998; Ferrante *et al.*, 2013a). Le nombre de fleurs fertiles à floraison est déterminé au cours de l'élongation de la tige, parallèlement à la croissance des épillets. Le ratio entre le nombre de fleurs fertiles à floraison et le nombre de grains final est défini comme étant le « grain set » ou mise en place des grains (Bancal, 2008). Cependant, dans la suite de ce texte, quand il s'agira

d'évoquer la mise en place du nombre grains, le terme « grain set » sera utilisé pour décrire l'ensemble des processus aboutissant à un nombre de grains par épi.

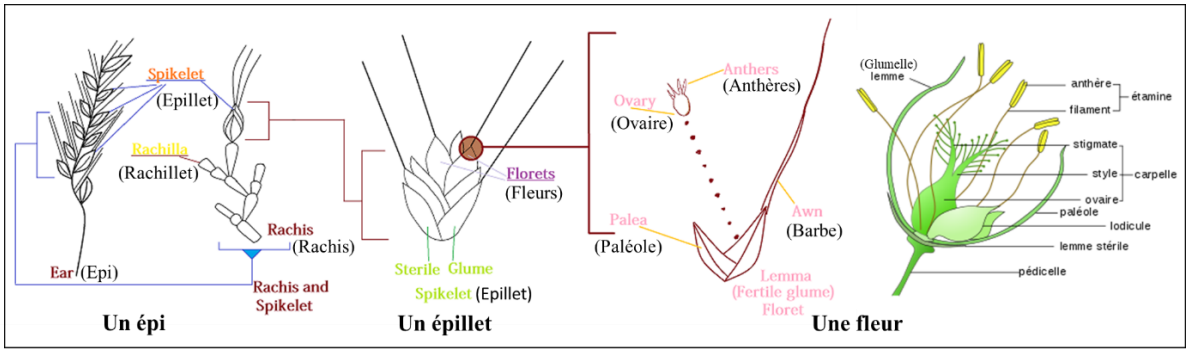


Figure 1-7 : Anatomie de l'épi de blé, de l'épillet et de la fleur. *Un épi de blé est composé de deux rangées d'épillets disposés de manière alterne de part et d'autre du rachis. Chaque épillet comporte deux glumes, et peut contenir jusqu'à dix fleurs. La fleur de blé est dépourvue de pétales et est composée d'un ovaire surmonté de deux styles plumeux, ainsi que de trois étamines. Elle est protégée par deux glumelles. Adaptée de Setter et Carlton (2000).*

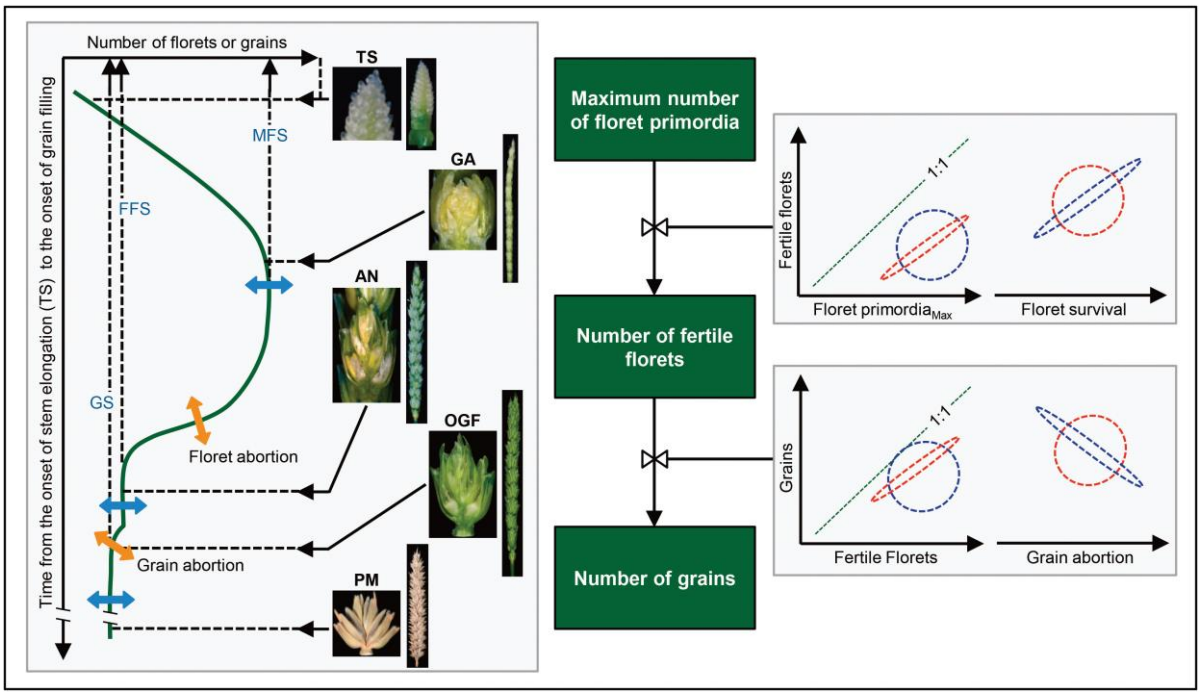


Figure 1-8: Détermination de la fertilité épi. *Dans la partie gauche du schéma, la dynamique de la génération/dégénérescence de fleurs et mise en place des grains à différents stades de développement (TS: terminal spikelet; GA: green anther; AN: anthesis; OGF: onset of grain filling; PM: physiological maturity) est illustrée, avec des flèches bleues indiquant une éventuelle variation génotypique des variables et des flèches orange indiquant une variation génotypique possible dans les processus de survie des fleurs et d'avortement des grains. À droite, un simple diagramme de flux montre les principaux déterminants des trois variables dans la génération/ dégénérescence des organes (nombre maximal de fleurs primordia, nombre de fleurs fertiles et nombre de grains) : le nombre de les fleurs fertiles peut être une conséquence du nombre maximum de primordia (les relations hypothétiques sont illustrées en rouge) ou du niveau de survie des fleurs (relations hypothétiques en bleu) (les deux relations hypothétiques étant présentes sur le même graphe) ; alors que le nombre de grains peut être une conséquence du nombre de fleurs fertiles (relations hypothétiques en rouge) ou du taux d'avortement (relations hypothétiques en bleu) (les deux relations hypothétiques étant présentes sur le même graphe). D'après Guo et al., 2016.*

Le nombre de grains par épi est la résultante d'une dynamique complexe d'initiation et de dégénérescence des fleurs potentielles, qui peuvent produire des fleurs fertiles à l'anthèse (Kirby, 1988). Une relation positive et quantitative entre le nombre de fleurs fertiles à floraison et le nombre final de grains par épi a été établie dans de nombreux environnements (González *et al.*, 2011; Miralles *et al.*, 1998; Serrago *et al.*, 2008; Zhu *et al.*, 2019). La plupart des études sur le lien entre le nombre final de grains par épi et la dynamique d'initiation et de dégénérescence de fleurs potentielles a ainsi montré que le nombre final de grains par épi est principalement lié à la survie des fleurs potentielles et donc à la dégénérescence florale (González *et al.*, 2011, 2005; Miralles *et al.*, 1998; Serrago *et al.*, 2008). Une autre théorie a cependant été développée par Bancal (2009) qui montre que la probabilité pour une fleur de devenir un grain est fortement lié à la répartition des assimilats au sein de l'épi dès le stade d'initiation florale et donc que le nombre final de grains par épi est déterminé dès le stade d'initiation florale.

Le nombre de grains par épi, chez toutes les céréales, est également très sensible aux stress abiotiques (Dolferus *et al.*, 2011; Figure 1-10). Cela peut être dû à une réduction du nombre d'épillets et/ou à un faible développement floral. Selon le moment d'occurrence et la durée des stress abiotiques, ceux-ci peuvent avoir des effets fortement contrastés. Le nombre d'épillets par épi sera en effet réduit par un stress hydrique intervenant avant l'initiation des fleurs (Ji *et al.*, 2010; Oosterhuis and Cartwright, 1983). Lorsque que ce même stress hydrique intervient environ 10 jours avant l'émergence de l'épi, les fleurs à la base et au sommet de l'épi seront stériles (Oosterhuis and Cartwright, 1983). De plus, si le stress abiotique intervient lors de la gamétogénèse, les gamètes mâle et femelle sont impactés de manière différente. Si les ovaires sont assez résilients face aux stress abiotiques (Ji *et al.*, 2010, Hayase *et al.*, 1969), une stérilité du pollen sera en revanche induite chez le riz (Oliver *et al.*, 2005) comme chez le blé (Demotes-Mainard *et al.*, 1995; Ji *et al.*, 2010) (Figure 1-10) pour des stress thermiques, hydriques ou d'éclairements. En conséquence, le nombre de grains par épi est diminué d'environ 28% sur des cultivars sensibles (Ji *et al.*, 2010). Les stress abiotiques peuvent également induire une indéhiscence des anthères, empêchant par conséquent la fécondation chez des espèces autogames telles que le riz et le blé. Enfin, il a été montré que les stress thermiques et hydriques au moment de l'anthèse avaient des effets importants sur le nombre de grains par épi avec des pertes pouvant aller jusqu'à 83% du nombre de grains par épi (Figure 1-9, Pradhan *et al.*, 2012).

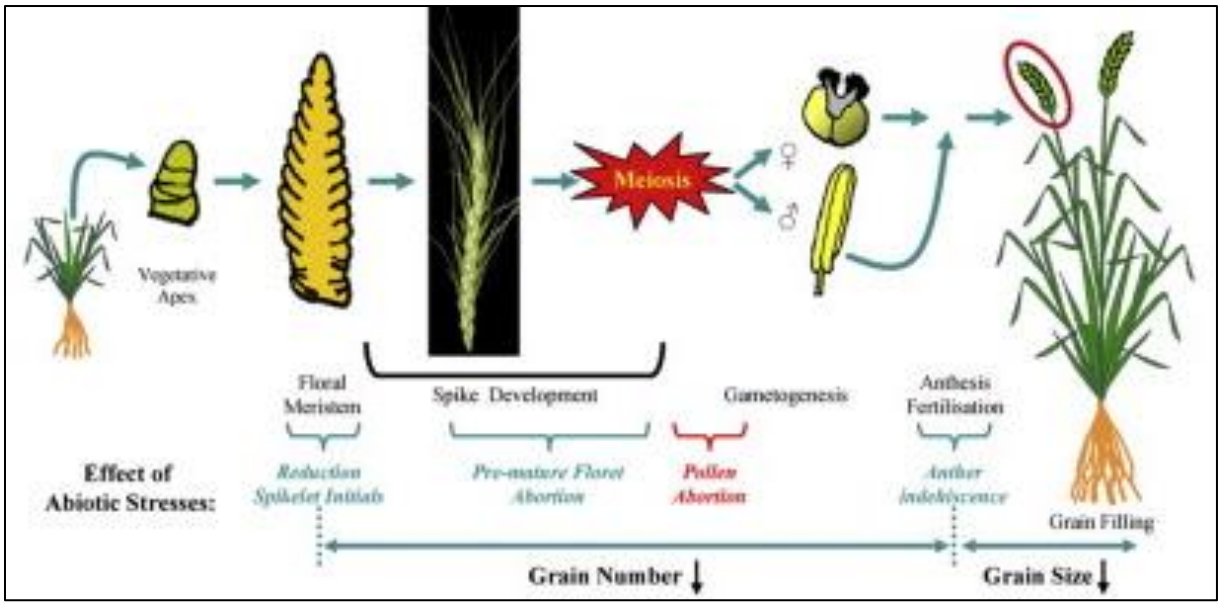


Figure 1-9: Effets des stress abiotiques sur la mise en place des organes reproducteurs des céréales. *D'après Dolferus et al., 2011.*

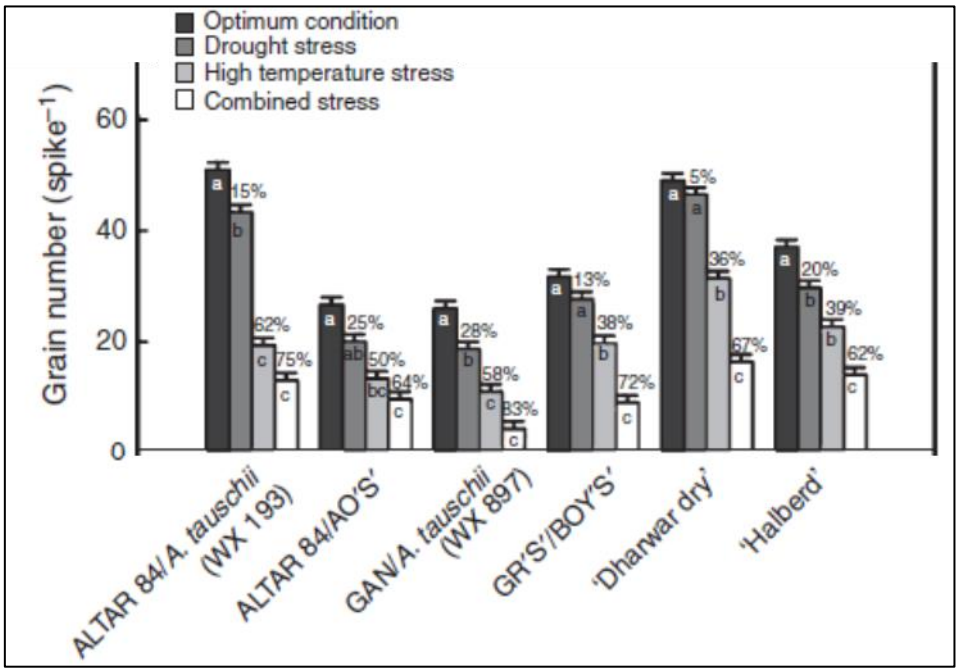


Figure 1-10 : Effets de la sécheresse, de températures élevées et de stress hydrique et thermique combinés à anthèse sur le nombre de grains par épi (P < 0,01) sur des génotypes de blé hexaploïdes synthétiques et des cultivars de blé tendre de printemps. *Les blés hexaploïdes synthéthiques sont des blés hexaploïdes issus du croisement d'un blé tétraploïde et d'Aegilops Tauschii. Les barres avec les mêmes lettres à l'intérieur pour chaque génotype ne sont pas significativement différentes à P = 0,05. Le pourcentage de perte due au stress par rapport à l'environnement optimal est indiqué en pourcentage. Les lignes verticales sur les barres indiquent les erreurs types. D'après Pradhan et al., 2012.*

En sus des effets environnementaux évoqués, le nombre de grains par épi, tout comme le nombre d'épis par m², est soumis également à un déterminisme génétique fort pour lequel une forte variabilité existe (Sreenivasulu and Schnurbusch, 2012; Wolde *et al.*, 2018). Cette variabilité génétique traduit l'existence de différentes stratégies variétales dans la mise en place du nombre de grains par m². Pour mieux comprendre le fondement de ces différentes stratégies, il est nécessaire à ce stade d'aller au-delà de la représentation utilisée jusque-là laissant supposer que les différentes composantes sont complètement indépendantes les unes des autres. A l'inverse, il a été montré qu'il existe des compensations, ou trade-off, entre les composantes du rendement impliquant que la valeur d'une composante est intimement dépendante de la valeur de celles établies avant elle. Saeki *et al.* (2014) définissent la notion de trade-off entre deux caractères, ou traits, d'une même plante comme « des relations causales réciproques négatives ». Elle peut être également décrite comme l'expression d'une compensation entre caractères en lien avec le niveau de ressources disponibles pour réaliser la croissance de la plante. Le premier trade-off entre composantes est celui existant entre le nombre d'épis par m² et le nombre de grains par épi (Figure 1-11), observé aussi bien en réponse à des facteurs génétiques (différentes variétés observées dans un environnement) qu'à des facteurs environnementaux (une variété observée dans plusieurs environnements) (Slafer *et al.*, 2014). Les relations entre le nombre final de grains et d'une part, le nombre de talles et d'autre part, le nombre de fleurs fertiles peuvent être expliquées en partie par des schémas variables de distribution d'assimilats entre organes selon la structure de la plante. Ainsi, chez le blé comme chez l'orge, il a été montré que lorsque le nombre de talles est limité, le rendement par épi augmente via un nombre de grains plus important et des plus gros grains. Ce phénomène traduit le fait que les talles sont en compétition pour la lumière (Alaoui *et al.*, 1988; Gu and Marshall, 1988; Kemp and Whingwiri, 1980; Kirby *et al.*, 1994; Mohamed and Marshall, 1979) ; de ce fait, une diminution du nombre de talles augmente la quantité de lumière interceptée par talle et donc les assimilats disponibles pour la croissance des épis et des tiges de ces brins. De plus, au sein d'une talle, il est fréquemment admis qu'il existe une compétition pour les assimilats entre les tiges et les épis (Kirby, 1988). Ainsi toute augmentation de la quantité totale d'assimilats disponibles à l'échelle du brin peut ensuite atténuer la compétition existant entre la tige et l'épi en maximisant la fraction de ces assimilats allouée au développement floral. Conjointement, ces deux processus expliquent pourquoi sous faible densité de nombre d'épis par m², la dégénérescence florale est réduite, ce qui favorise l'augmentation du nombre maximum de primordia floraux, de fleurs fertiles et, au final, de nombre final de grains par épi (Guo and Schnurbusch, 2015; Siddique *et al.*, 1989). Ceci est particulièrement visible, par

exemple, chez les variétés semi-naines où l'augmentation du nombre de grains par épi est expliquée par une plus faible compétition au sein des tiges (Miralles *et al.*, 1998).

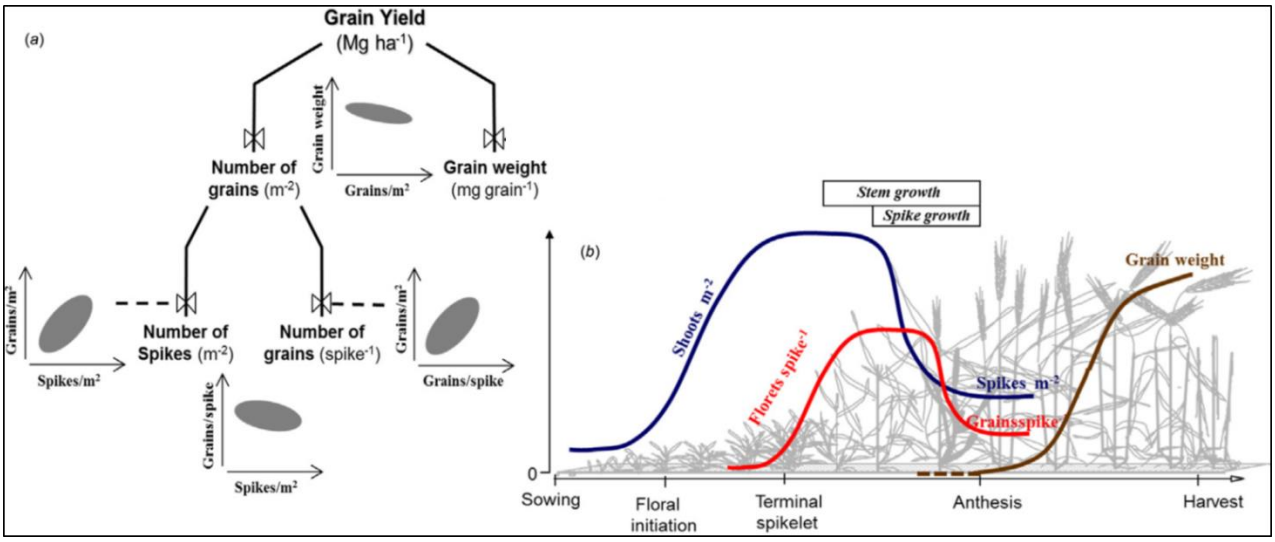


Figure 1-11: Relations et mises en place des composantes du rendement du blé. *(a) Relations entre les composantes du rendement du blé. (b) Mise en place des composantes de rendement. D'après Slafer et al., 2014.*

A l'échelle de la parcelle, les floraisons des différents épis sont sujettes à un décalage dans le temps, mineur par rapport aux décalages au sein des épis. La date de floraison à l'échelle d'une parcelle est notée lorsqu'au moins 50% des épis sont eux-mêmes en floraison. **A ce stade, le nombre de grains par épi moyen peut être considéré comme fixé, bien qu'il y ait une possibilité d'avortement après la floraison. En conséquence, à la floraison de la parcelle, le nombre d'épis par m² et le nombre de grains par épi étant fixés, il est possible de considérer que le nombre de grain par m² est lui aussi fixé. Ce nombre de grains par m² caractérise le nombre de puits que l'ensemble des processus prenant place après la floraison aura la charge de remplir.**

2.2.3. La phase de remplissage des grains : mise en place du PMG

Le PMG est la dernière composante de rendement à se mettre en place, et s'établit au cours de la phase de remplissage (Figure 1-4). Deux sources d'assimilats carbonés vont permettre le remplissage des grains : la première provient de la photosynthèse des feuilles et de l'épi, la deuxième qui fournit entre 20 et 30% de la masse finale (Ehdaie *et al.*, 2008; Wardlaw and Willenbrink, 2000), provient de la remobilisation des carbohydrates solubles stockés dans la tige (Blum, 1986).

La description de la structure histologique du grain (Figure 1-12) nous permet de mieux comprendre quelles sont les grandes étapes du développement du grain. Un grain de blé mature est composé de trois principaux compartiments : l'embryon ou germe, l'albumen et les enveloppes. L'embryon, qui représente entre 2 et 3% de la matière sèche du grain, sera à l'origine de la future plantule de blé et du cotylédon. L'albumen, qui représente entre 80 et 85% de la matière sèche du grain, est constitué de l'albumen amylacé et de la couche à aleurone qui serviront de principales ressources énergétiques pendant le processus de germination. Enfin, les enveloppes, qui ne représentent qu'une très faible proportion de la masse sèche du grain, sont riches en fibres et en vitamines.

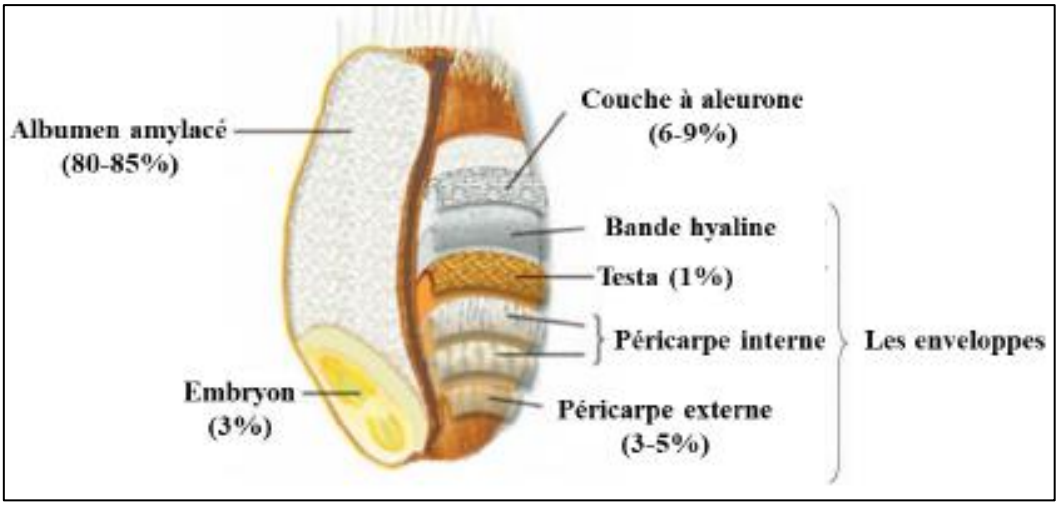


Figure 1-12 : Histologie du grain de blé tendre. *Le grain de blé est constitué de trois principaux compartiments : l'embryon, l'albumen et les enveloppes. D'après Surget et Barron, 2005.*

A partir de la fécondation, le développement du grain de blé est classiquement divisé en trois phases définies sur la base du développement de l'albumen (Figure 1-14) (Shewry *et al.*, 2012) : la phase de division cellulaire, la phase de remplissage *sensu stricto*, et la maturation physiologique. Le début et la fin de chacune de ces phases est identifié par le nombre de jours après l'anthèse (JAA) ou par le temps thermique exprimé en degrés-jour après anthèse (°CJ). Le temps thermique est calculé en additionnant les températures moyennes journalières supérieures à 0°C qui sont accumulées au cours du développement du grain. Les processus biologiques à l'œuvre dans l'albumen se mettant en place graduellement et se chevauchant parfois, les limites chronologiques entre phases peuvent varier légèrement selon les sources.

La première phase, la phase de division cellulaire, se déroule de 0 à 220-250 °CJ (0 à14 JAA). Le début de cette phase est marqué par une double fécondation avec les deux gamètes mâles et le gamète femelle qui sont à l'origine de l'embryon et l'albumen (Evers and Millar, 2002; Sabelli and Larkins, 2009). Le noyau triploïde à l'origine de l'albumen va subir plusieurs divisions synchrones, sans formation de parois cellulaires le tout formant un *syncitium*. La cellularisation de l'albumen en devenir commence ensuite à partir de 6 JAA, suivie d'une phase de multiplication cellulaire entre 9 et 14 JAA (175°CJ à 220-250°CJ), associée à une différenciation cellulaire (albumen amylacé et couche à aleurone) (Figure 1-13). Il a été montré que le nombre de cellules est corrélé partiellement à la masse finale sèche du grain d'où l'hypothèse que la quantité maximale d'amidon et de protéines de réserves accumulées soit dépendante du nombre de cellules (Brocklehurst, 1977). La phase de division cellulaire est donc une étape-clé dans le développement de l'albumen et la mise en place du rendement. A la fin de cette première phase, la longueur maximale du grain est fixée (Nadaud *et al.*, 2010).

La deuxième phase, ou phase de remplissage *sensu stricto*, débute alors et se déroule d'environ 220-250 à 600°CJ (14 à 28 JAA). Les processus d'expansion cellulaire et d'endoréduplication s'accompagnent d'une accumulation des assimilats. Durant cette phase, de multiples composantes de réserves, l'amidon (issu du métabolisme du carbone), les protéines de réserves (issu du métabolisme de l'azote), ainsi que des micronutriments (fer, zinc, calcium) (Dominguez and Cejudo, 1996; Gupta *et al.*, 2006; Johansson *et al.*, 1994; Mecham *et al.*, 1981; Shewry *et al.*, 2009; Sofield *et al.*, 1977) sont accumulées selon un profil similaire dans le temps (Shewry *et al.*, 2012) (Figure 1-14). Cette cinétique de croissance est classiquement représentée par une courbe sigmoïde caractérisant une croissance lente qui débute à 10 JAA, puis qui augmente fortement entre 14 et 21 JAA (dite phase linéaire de croissance) avant de ralentir jusqu'à 42 JAA (Figure 1-14). Au cours de cette phase de remplissage, la forme du grain

change. Si la longueur du grain a été fixée lors de la phase de division cellulaire, la largeur et l'épaisseur du grain augmentent au cours de la phase de remplissage (Chateigner-Boutin *et al.*, 2018). La teneur en eau du grain atteint également son maximum pendant cette phase et est maintenue jusqu'à ce que le grain atteigne une masse sèche maximale à environ 40 JAA.

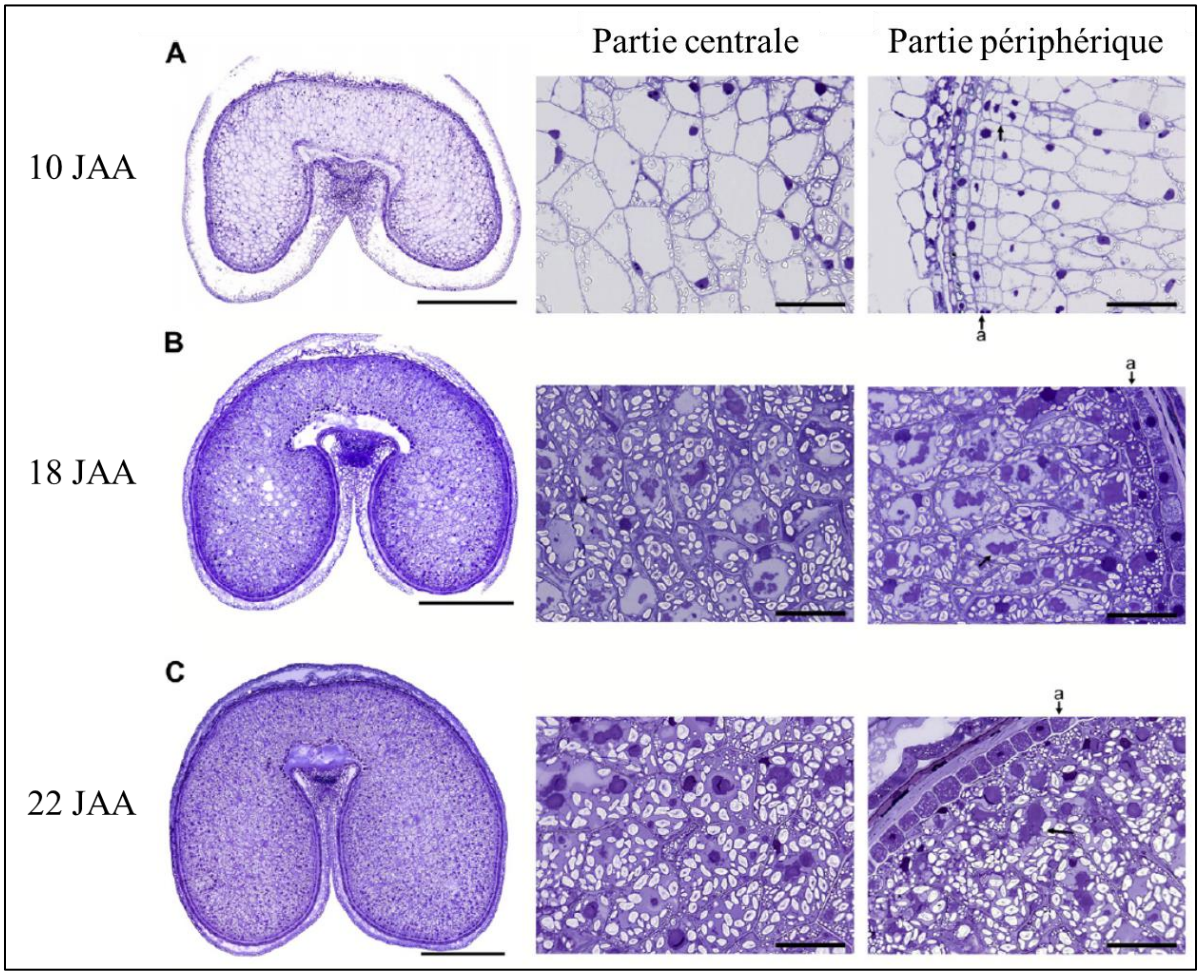


Figure 1-13: Sections transversales d'un grain de blé tendre en développement (cultivar Hereward) illustrant les profondes modifications subies par le grain au cours de son développement*. Les sections transversales entières de grain sont représentées à gauche ; des images agrandies de la partie centrale et périphérique de l'albumen sont représentées au milieu et à droite. La couche à aleurone est indiquée par la lettre « a ». (A) La flèche noire indique des cellules sous la couche à aleurone qui se sont divisées récemment. (B) La flèche noir indique une accumulation protéique dans la vacuole d'une cellule sous la couche à aleurone. (C) La flèche noir indique une cellule remplie de protéines sous la couche à aleurone. Les sections sont colorées au bleu de toluidine. Barre = 1mm dans le panneau gauche ; 100 nm dans les panneaux centraux et droite. D'après Shewry et al, 2012.*

Enfin, la troisième et dernière phase, dite phase de maturation, se déroule de 600 à 800°CJ (28 à 42 JAA). Elle comprend les processus biologiques suivants : la mort cellulaire programmée, la dormance et la dessiccation. La mort cellulaire programmée, bien qu'elle commence à 16 JAA, atteint son maximum vers 30 JAA (Sabelli and Larkins, 2009). La dormance étant une inhibition du processus de germination, elle est nécessaire afin que la graine puisse attendre des conditions favorables pour germer (II.2.). Au cours de la dessiccation, le grain est déshydraté rapidement (Figure 1-14), entraînant une légère diminution du volume globale du grain (Xie *et al.*, 2015). Une polymérisation couplée à une agrégation des protéines de réserve (gluten) ainsi que la formation d'un réseau avec l'amidon ont également lieu durant cette phase. Cette phase est donc particulièrement cruciale pour l'élaboration de la qualité du grain. Physiologiquement, le grain a atteint sa matière sèche finale.

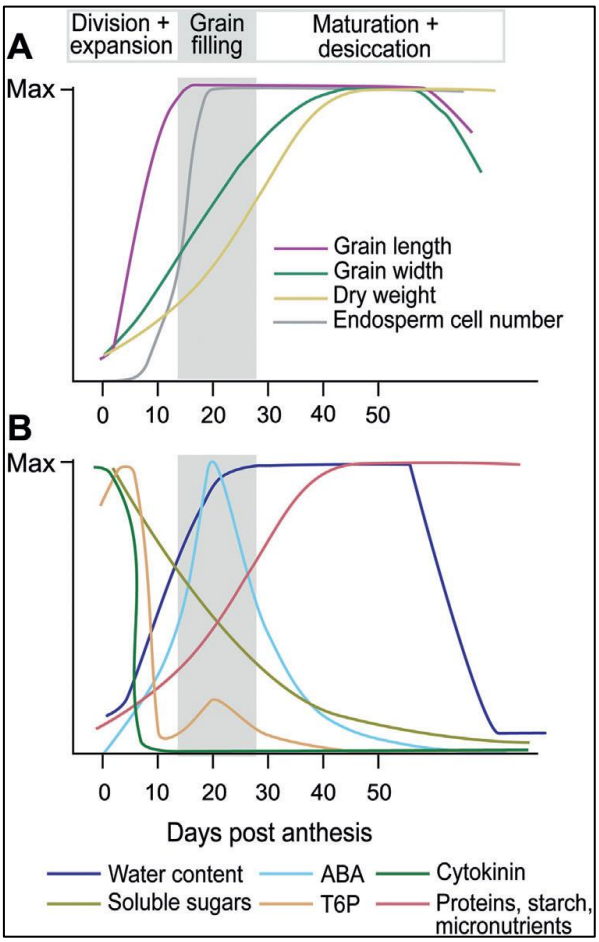


Figure 1-14: Dynamique de mise en place des dimensions et du contenu des grains pendant le développement du grain de blé. *Evolution des dimensions, de la masse sèche du grain de blé (A) et de la teneur de certaines substances (B) pendant le développement, exprimé en jours post-anthèse (JAA). Les courbes montrent le niveau de chaque substance par rapport à la teneur maximale pendant les différentes phases du développement du grain : Division + expansion (0-14 JAA), remplissage sensu stricto (14-28 JAA) (partie grisée) et Maturation + dessiccation (28 JAA et plus ; d'après Shewry et al., 2012). ABA : acide abscissique, T6P : trehalose 6-phosphate. D'après Brinton and Uauy, 2019.*

Il a été démontré largement que les stress abiotiques survenant lors du remplissage du grain affectent fortement le PMG (Farooq *et al.*, 2014, 2011; Pradhan *et al.*, 2012). C'est particulièrement le cas de la sécheresse et des stress thermiques. Nous nous focaliserons ici sur l'étude des stress thermiques qui permettent une description plus complète de la diversité des effets d'un stress sur le fonctionnement de la plante. Globalement, il est généralement considéré qu'une augmentation de 1°C de la température moyenne pendant le remplissage génère une perte de la matière sèche finale des grains de l'ordre de 4% (Figure 1-15, Acevedo *et al.*, 2002). Ce chiffre recouvre deux aspects distincts des effets de la température sur le remplissage du grain. De plus, la température peut jouer directement d'une part sur les organes sources (feuilles/tiges) via la photosynthèse et d'autre part sur les organes puits.

Premièrement, la durée de remplissage pouvant être considérée comme stable en temps thermique, toute augmentation des températures pendant le remplissage aura pour effet de raccourcir la durée de remplissage exprimée en jours calendaires. L'augmentation de température génère donc une diminution de la quantité globale de rayonnement intercepté par la culture et donc d'assimilats potentiellement alloués à la croissance des grains (Triboi and Triboi-Blondel, 2002). Deuxièmement, les effets de températures élevées pendant le remplissage des grains peuvent relever de stress au sens strict, c'est à dire de l'altération de processus biologiques clés. Les effets d'un stress thermique peuvent induire une altération des sources, c'est à dire de la capacité de la plante à produire des assimilats. Sous températures élevées une diminution de la teneur en chlorophylle dans les feuilles est ainsi fréquemment observée, générant une accélération de la sénescence et donc une diminution de la capacité photosynthétique globale de la plante (Pradhan *et al.*, 2012). Dans ce type de situations, les réserves qui sont stockées dans la tige peuvent être remobilisées, pour tenter de maintenir la croissance des grains. Leur contribution à la masse finale du grain peut alors passer de 20-30% en condition optimale à plus de 50% en cas de stress abiotique sévère (Ehdaie *et al.*, 2008).

Les stress thermiques peuvent aussi impacter directement les puits c'est-à-dire la capacité des grains à valoriser les assimilats disponibles. Des températures élevées pendant la phase de division cellulaire ont un effet négatif sur le nombre de cellules de l'albumen, ce qui pourrait être à l'origine de la diminution de la taille des grains observée dans ces conditions (Nicolas *et al.*, 1985; Acevedo *et al.*, 2002). Les fortes températures sont également responsables de changements structuraux dans la couche à aleurones et l'albumen en terme de taille et de forme des granules d'amidon menant à une réduction de la taille du grain (Farooq *et al.*, 2011; Tashiro and Wardlaw, 1990). Enfin, de fortes températures ou des stress hydriques sont responsables de la diminution de la biosynthèse de l'amidon via des effets sur les gènes codant pour les

enzymes impliquées dans ce processus ou des effets sur le fonctionnement des enzymes, chacune présentant des optimaux thermiques différents. (Lu *et al.*, 2019).

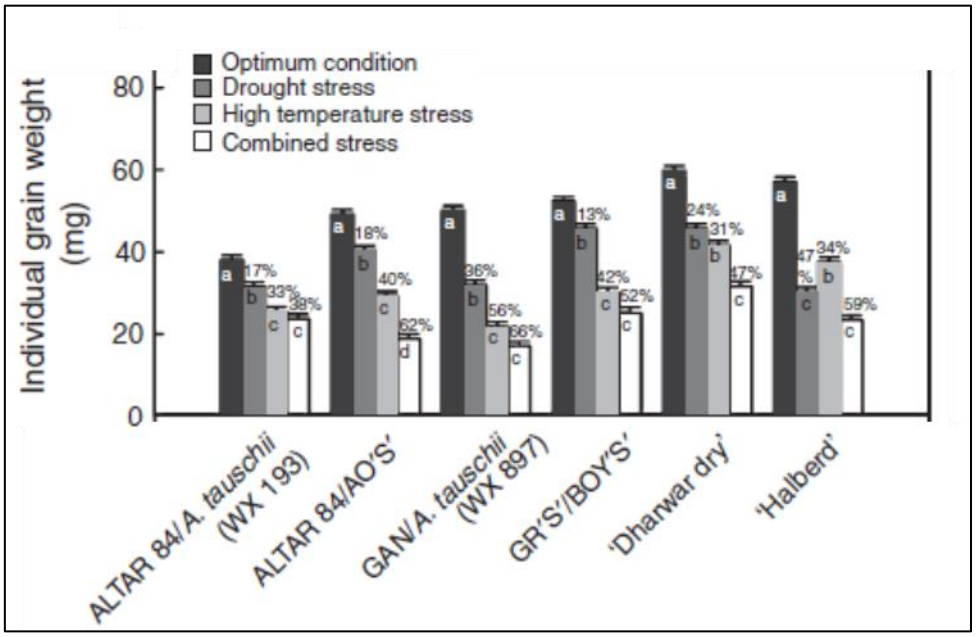


Figure 1-15 : Effets de la sécheresse, de températures élevées et de stress hydrique et thermique combinés 21 jours après anthèse sur la masse moyenne d'un grain (mg) (P < 0,01) sur des génotypes de blé hexaploïdes synthétiques et des cultivars de blé tendre de printemps. *Les barres avec les mêmes lettres à l'intérieur pour chaque génotype ne sont pas significativement différentes à P = 0,05. Le pourcentage de perte due au stress par rapport à l'environnement optimal est indiqué en pourcentage. Les lignes verticales sur les barres indiquent les erreurs types. D'après Pradhan et al., 2012.*

Au terme de la phase de remplissage, la masse finale de l'ensemble des grains est fixée. A l'échelle de la parcelle, la valeur moyenne de la masse finale des grains définit le PMG. Le PMG interagit avec le nombre de grains par m² via un trade-off dont les bases physiologiques seront développées largement dans la partie IV.1. du chapitre 1. Cette dernière composante étant fixée, le rendement surfacique de la culture, produit des composantes déterminées avant la floraison (nombre d'épis par m², nombre de grains par épi) et du PMG, est ainsi déterminé. L'intérêt de la décomposition du rendement en composantes se déterminant successivement au cours du cycle dépasse l'analyse de la dynamique temporelle de la construction du rendement qu'elle permet. En effet, cette décomposition permet de plus d'accéder à une compréhension plus fine des effets des variables environnementales sur la performance de la culture en analysant les réponses spécifiques de chacune des composantes aux facteurs environnementaux. Nous allons maintenant chercher à déterminer si ces composantes et les trade-off qui leurs sont associés sont des co-produits de la sélection variétale.

III. La sélection pour le rendement chez le blé tendre : effets différentiels sur les composantes et défis actuels de l'amélioration variétale

Analyser l'histoire de la sélection pour le blé tendre au regard de ses effets sur les composantes de rendement et leurs trade-off devrait permettre d'envisager des solutions nouvelles pour faire face aux défis qui s'imposent à la sélection variétale actuelle et future.

3.1. Historique de la sélection variétale chez le blé tendre : synthèse des variétés modernes

3.1.1. De la domestication à la sélection scientifique

Nous avons développé dans la partie II.1. l'histoire de l'émergence du blé tendre à travers le processus de domestication. Cette céréale a très vite été cultivée dans le monde entier, grâce à son adaptabilité à de nombreux environnements et à ses qualités nutritives (Venske *et al.*, 2019). La sélection variétale commence à la fin du XVIIIème siècle. Il s'agissait à l'époque d'une sélection empirique, marquée par des premières fécondations croisées et les premières fécondations effectuées par l'homme (Figure 1-16). La sélection dite « scientifique » débute avec la redécouverte des recherches de Mendel au début des années 1900 (Figure 1-16) en particulier via l'application de ses travaux sur des résistances aux maladies (Biffen, 1905); ainsi que les premières introgressions réussies. A partir de la révolution verte, dans les années 1960, tout s'accélère pour la sélection variétale, en particulier sur le blé et le riz où les innovations technologiques sont nombreuses (Borlaug, 2007; Evenson and Gollin, 2003; Reynolds and Borlaug, 2006). Les principaux objectifs de la sélection chez le blé depuis les années 1960 jusqu'à nos jours dans la plupart des régions du monde ont été les suivants: (i) l'augmentation du rendement, (ii) la résistance aux maladies et (iii) la tolérance aux stress abiotiques (Borlaug, 2007; Venske *et al.*, 2019) et (iv) augmentation de la qualité d'utilisation.

Le CIMMYT (International Center for Maize and Wheat Improvement) est à l'origine des premiers cultivars modernes. Ceux-ci sont caractérisés par une hauteur réduite et une floraison plus précoce qui ont permis une meilleure valorisation des pratiques agronomiques modernes (fertilisation minérale principalement) et donc une forte augmentation des rendements. Ces modifications morphologiques et développementales sont principalement dues à l'introgression

des gènes Rht (Reduced height) et Ppd (Photoperiod sensitivity). Ces gènes se retrouvent aujourd'hui dans une grande partie des variétés modernes. Par la suite, la sélection chez le blé tendre n'a cessé d'évoluer en suivant l'apparition de nouvelles techniques et technologies. Ainsi, la production de plantes haploïdes doublées est couramment utilisée pour accélérer les cycles de sélection (Thomas *et al.*, 2003). L'utilisation des marqueurs moléculaires s'est largement développée, en parallèle du séquençage du génome du blé qui a été initié au milieu des années 2000 (The International Wheat Genome Sequencing Consortium (IWGSC *et al.*, 2018). L'accès à ces ressources génomiques couplées à l'essor du phénotypage haut-débit permet l'application croissante de la sélection génomique et laisse entrevoir un usage croissant de création de variabilité nouvelle par édition du génome. (Leišová-Svobodová *et al.*, 2020; Venske *et al.*, 2019; Figure 1-13) dans les pays où les variétés obtenues ne sont pas considérées comme des OGM.

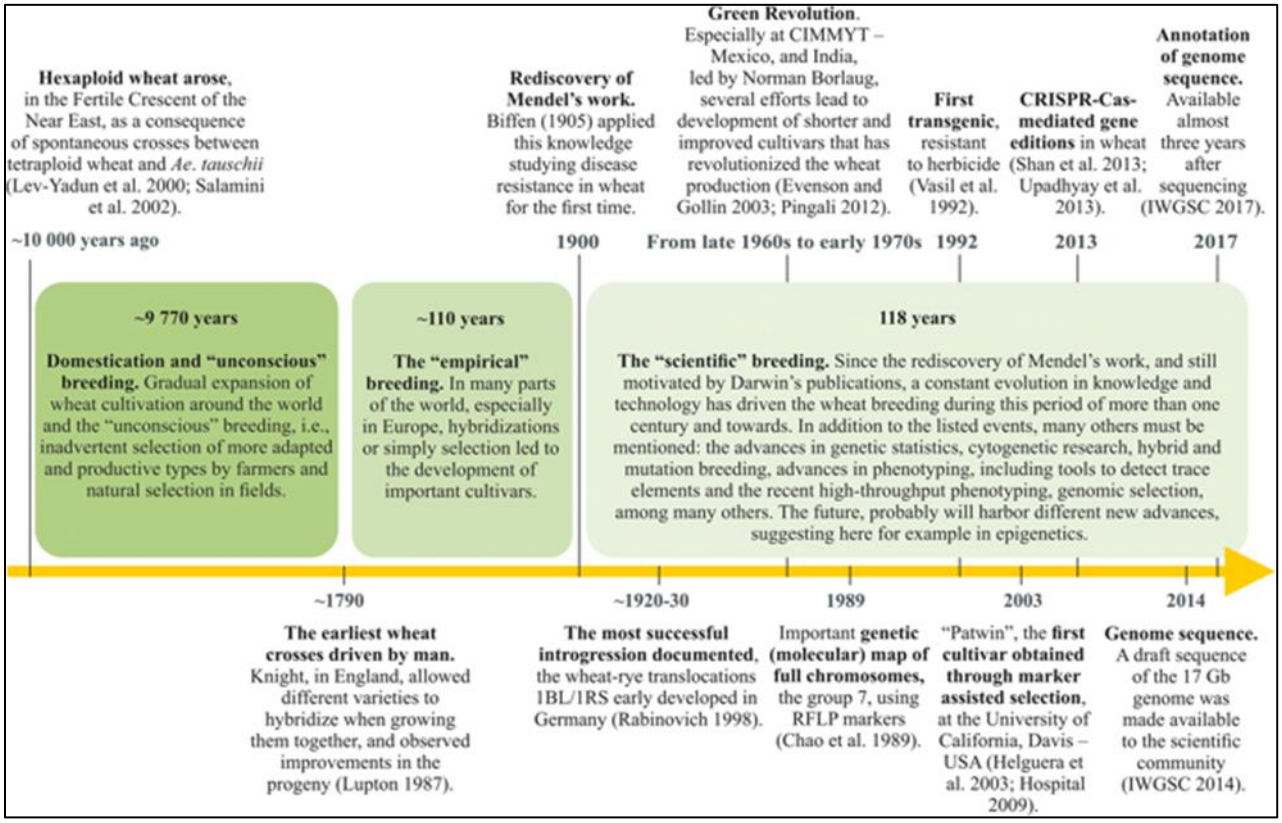


Figure 1-16 : Chronologie de la sélection chez le blé. *Trois phases principales peuvent être définies dans l'histoire de la sélection du blé : la domestication et la sélection « inconsciente », la sélection empirique et la sélection "scientifique". Cette dernière sélection est illustrée par plusieurs événements importants. D'après Venske et al., 2019.*

3.1.2. Effets de la sélection sur les composantes de rendement

La sélection variétale chez le blé à partir de la révolution verte a été réalisée de manière à obtenir des variétés à fort potentiel de rendement dans des environnements rendus favorables par l'application de forts niveaux intrants. Le rendement potentiel du blé a été défini comme le rendement d'un cultivar lorsqu'il est cultivé dans un environnement auquel il est adapté, en conditions non limitantes (en eau et macronutriments) et avec un contrôle efficace des différents incidents de cultures (parasites, maladies, adventices, verse) (Evans and Fischer, 1999).

L'amélioration du rendement potentiel chez le blé s'est en particulier reposée sur une augmentation de l'indice de récolte (harvest index) au début de la révolution verte (Figure 1-17) (Austin *et al.*, 1980, 1989; Sayre *et al.*, 1997; Siddique *et al.*, 1989; Slafer and Andrade, 1991; Terrile *et al.*, 2017), puis à partir des années 80 grâce à une augmentation de la biomasse à maturité (Reynolds *et al.*, 1999; Shearman *et al.*, 2005; Terrile *et al.*, 2017). L'amélioration du rendement via une augmentation de l'indice de récolte a été particulièrement étudiée. L'indice de récolte correspond à la part de la biomasse aérienne à maturité allouée aux parties récoltables, grains dans le cas du blé (Foulkes *et al.*, 2011). La sélection pour le rendement a donc conduit à une répartition des assimilats en faveur des épis en formation en restreignant la croissance de la tige par la voie génétique (gène Rht) (Miralles *et al.*, 1998; Siddique *et al.*, 1989; Slafer *et al.*, 2015; Slafer and Andrade, 1993). Par conséquent, la masse des épis à anthèse (Spike dry weight at anthesis ou SDWa) a fortement augmenté (Figure 1-17). C'est cette augmentation de la masse des épis en formation (SDWa) qui a induit une augmentation de la fertilité des épis (Miralles *et al.*, 1998), elle-même responsable de l'augmentation du nombre de grains par m² et par conséquent du nombre de puits (Figure 1-17) (Abbate *et al.*, 1998; Calderini *et al.*, 1999; Sayre *et al.*, 1997). Ces résultats tendent à démontrer que **l'augmentation du rendement a été réalisée au 20ème siècle, principalement via une augmentation du nombre de grains par m², que cela soit via une augmentation du nombre d'épis par m² et/ou du nombre de grains par épi (Fischer, 2008; Quintero *et al.*, 2018)**. En particulier, l'augmentation du nombre de grains par épi a été obtenue principalement via une augmentation de la fertilité des épillets (nombre de grains par épillet) et non par l'augmentation du nombre d'épillets fertiles. En résumé, cette position, majoritaire dans la littérature, implique que le rendement est limité principalement par les puits. Il est à noter que quelques auteurs, minoritaires, considèrent toutefois que la corrélation positive entre le rendement et le nombre de grains par m² n'est pas directement causale. Dans ce cadre de lecture, la forte surface foliaire détermine aussi bien l'établissement d'un nombre de grain par m² élevé et un fort niveau de

rendement mais de manière indépendante. Dans cette vision, le rendement est limité principalement par les sources (Sinclair and Jamieson, 2008).

En considérant l'hypothèse dominante présumant que le rendement potentiel a principalement été augmenté à travers le nombre de grains par m², il est néanmoins nécessaire de noter que le PMG a également été impacté lors des processus de domestication et de sélection. La sélection pour le rendement a entraîné une augmentation marginale du PMG de 4% (Philipp *et al.*, 2018), observée entre une population de variétés « ressources » et une population de variétés élites. Cette augmentation n'est sans doute pas liée à la sélection pour le rendement mais à des traits en lien avec la qualité. Cette augmentation du PMG s'est en effet réalisée à travers une augmentation de la largeur (2.36%) et la surface (2.21%) du grain et non de la longueur (Philipp *et al.*, 2018; Xie *et al.*, 2018). Or il a été montré que les grains larges et courts permettaient un meilleur taux d'extraction de la farine et une hausse de la qualité de la farine (Boz *et al.*, 2012). Il est donc probable que l'augmentation de PMG soit collatérale à la sélection pour un trait de qualité et pas spécifiquement le produit d'une sélection pour le rendement.

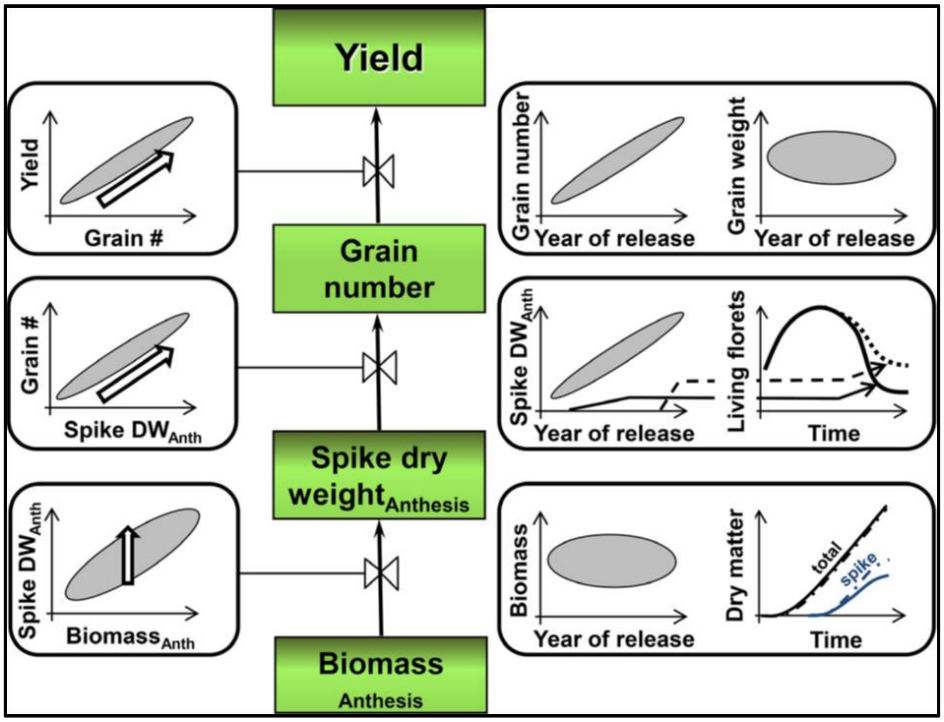


Figure 1-17: Modèle conceptuel des composantes physiologiques du rendement du blé. *À gauche, les relations entre ces composantes sont indiquées en prenant en compte des gammes de variations du rendement produites par des facteurs génotypiques ou environnementaux. Les flèches indiquent les principales voies utilisées par la sélection pour obtenir des gains génétiques de rendement au cours de la seconde moitié du 20ème siècle. A droite, l'évolution de ces composantes en fonction de l'année de mise en circulation du cultivar a été représentée. Lorsque l'abscisse est « Time », il s'agit du temps entre le début de l'élongation de la tige et l'anthèse. Les lignes pleines et pointillés représentent dans ce cas respectivement les cultivars mis en circulation avant ou après la Révolution verte. D'après Slafer et al., 2015.*

Le processus de domestication puis la sélection, empirique et scientifique ont ainsi eu des effets majeurs et très différents sur les différentes composantes de rendement et ont dessiné le profil des variétés modernes.

3.2. Des variétés modernes aux variétés futures : les fronts de science de la sélection actuelle

La sélection variétale fait actuellement face à certaines limites et à un changement de paradigme. Comme nous l'avons vu dans la partie I., la sélection actuelle prend place dans un contexte de changements climatiques, socio-économiques et agronomiques.

3.2.1. Des goulots d'étranglement génétiques

Parmi ces limites, la perte de variabilité génétique de plusieurs caractères peut d'abord être citée. Ainsi, parmi les effets secondaires de la domestication et de la sélection, la perte de diversité génétique et d'allèles favorables est souvent évoquée. Cette perte de diversité allélique peut être purement liée au hasard ou au fait que ces allèles étaient en déséquilibre de liaison avec des allèles contre-sélectionnés. Quoi qu'il en soit, cette érosion de diversité disponible peut avoir un impact négatif non négligeable sur les sélections actuelles et futures (Charmet, 2011). Ainsi, pour des résistances à certaines maladies, des goulots d'étranglement génétiques sont apparus face aux mutations rapides des pathogènes (Ledesma-Ramírez *et al.*, 2019). Une des solutions auxquelles la sélection fait appel est le pré-breeding, qui consiste à aller chercher de la variabilité génétique dans des « ressources » génétiques qui sont maintenues dans les centres de ressources biologiques. Des résultats sont déjà publiés pour certaines maladies connues comme la rouille jaune (Ledesma-Ramírez *et al.*, 2019).

Ces goulots d'étranglements génétiques existent également sur certaines composantes de rendement. Philipp *et al.* (2018) ont ainsi montré que, comme attendu, la variabilité génétique pour le rendement par unité de surface est largement plus faible (-54%) au sein d'une population de variétés élites qu'au sein d'une population de variétés « ressources ». A l'inverse, la variabilité génétique observée pour la masse de grain par épi (c'est-à-dire le nombre de grain par épi × masse moyenne des grains de l'épi) avait doublé dans la population élite (+109%). En d'autres termes, le resserrement de la gamme de rendement vers des valeurs hautes ne semble pas s'être réalisé via une uniformisation des stratégies de mise en place du rendement du fait des compensations possibles entre le nombre d'épis par m² et la masse de grains par épi. Ce qui n'est pas le cas du PMG, qui a perdu de la variabilité génétique suite à la domestication et à la sélection (Arora *et al.*, 2017; Brinton and Uauy, 2019) sans doute, comme déjà évoqué, pour des raison en lien avec la sélection de variétés à forte qualité technologique. Le sous-génome

D ayant été apporté par un nombre limité d'accessions *d'Aegilops tauschii* et présentant une variabilité importante pour des traits liés au PMG, une part de variabilité génétique importante dans le génome du blé tendre est inexplorée (Arora *et al.*, 2017). La diversité génétique du sous-génome D est également exploitée par la création de blés hexaploïdes synthétiques, issus du croisement d'un blé tétraploïde et d'*A. tauschii* (Pradhan *et al.*, 2012). Plusieurs études ont montré le potentiel de certaines ressources génétiques pour apporter de la variabilité génétique qui a pu être exclue du pool de gènes durant la domestication et la sélection (Brinton and Uauy, 2019; Golan *et al.*, 2015). En particulier, une de ces études a montré que la masse du grain avait été sélectionnée indépendamment de la masse de l'embryon, laissant donc une variabilité génétique inexploitée liée à la taille de l'embryon et à la vigueur de germination qui en résulte (Golan *et al.*, 2015).

3.2.2. Sélectionner le rendement à travers des traits physiologiques d'intérêt

Une limite majeure de la sélection pour augmenter le rendement potentiel concerne la faible augmentation, voire la stagnation, du gain génétique sur le rendement, qui devrait croître de 0.3% à 1.1% par an d'ici 2050 pour répondre aux besoins alimentaires mondiaux (Asseng *et al.*, 2015; Bruinsma, 2011).

Or, l'amélioration génétique du rendement est principalement due à une augmentation du nombre de grains par m². En augmentant la biomasse aérienne, et donc la production d'assimilats, le rendement est en effet plus élevé (Figure 1-18a). Cependant, des études ont montré qu'une augmentation de la biomasse aérienne n'était pas forcément corrélée positivement avec l'indice de récolte (Figure 1-18c) (Lo Valvo *et al.*, 2018; Rivera-Amado *et al.*, 2019). Or, cet indice de récolte présente une limite théorique de 65% chez le blé (Foulkes *et al.*, 2011), qui n'est pas totalement atteinte chez le blé d'hiver (en moyenne 0.50-0.55) (Figure 1-18b) (Foulkes *et al.*, 2011). En d'autres termes, la répartition des assimilats entre les grains et la biomasse végétative n'est pas optimale. Il y a donc une co-limitation dans le processus de sélection par la source et les puits chez les variétés modernes (Acreche and Slafer, 2009). Ceci implique d'augmenter simultanément la capacité photosynthétique (Parry *et al.*, 2011; Reynolds *et al.*, 2012), et donc la production d'assimilats (Figure 1-18a) ; et la répartition de ces assimilats en favorisant l'augmentation du nombre de puits (Rivera-Amado *et al.*, 2019). Par conséquent, plusieurs stratégies pour augmenter le nombre de grains par m² ont été

fortement développées et se focalisent sur l'augmentation de la masse d'épi à anthèse (SDWa) ou sur la fertilité intrinsèque de l'épi.

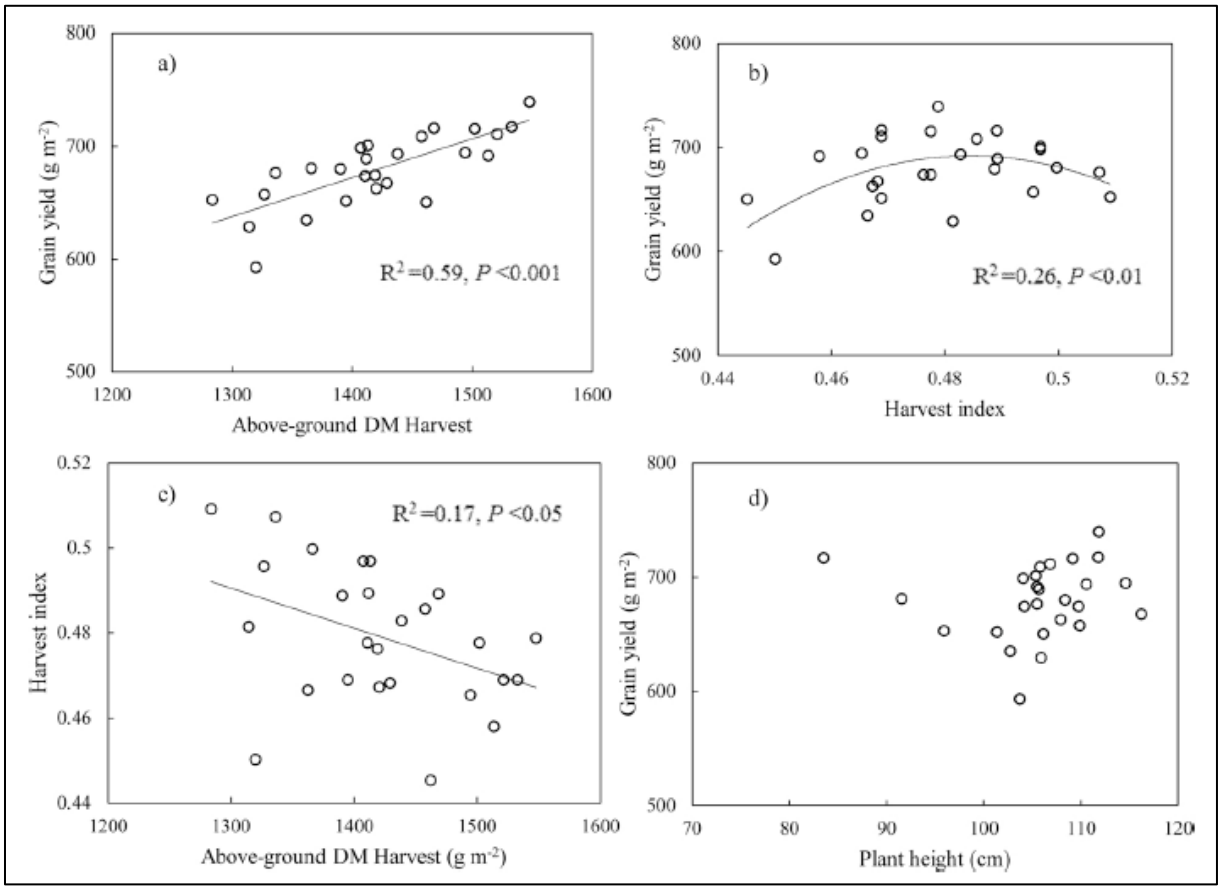


Figure 1-18 : Régressions sur les 26 cultivars d'une collection de Cimmyt (CIMCOG) a) du rendement en grains sur la biomasse aérienne (AGDM) à la récolte, b) du rendement en grains sur l'indice de récolte (Harvest Index), c) de l'indice de récolte sur l'AGDM à la récolte et d) du rendement en grains sur la hauteur de la plante. Les valeurs représentent les moyennes en 2012 et 2013. *D'après Rivera-Amado et al., 2019.*

La première stratégie pour augmenter le nombre de grains par m² est d'accroître la masse d'épi à anthèse (SDWa). Par le passé, comme nous l'avons vu dans la partie précédente, la diminution de la hauteur de tige a permis de diminuer la compétition entre la tige et l'épi et d'augmenter la SDWa. Or, chez les variétés modernes, la hauteur de tige est considérée comme optimale en conditions intensives de culture (Figure 1-18d) (e.g. Slafer *et al.*, 2015 et références citées). D'autres solutions ont été alors étudiées pour accroître SDWa en augmentant la durée de croissance de l'épi (González *et al.*, 2011) ou en diminuant l'allocation d'assimilats aux organes autres que l'épi (Foulkes *et al.*, 2011). Cette première stratégie a peu à peu été délaissée au profit des deux stratégies suivantes.

Une autre stratégie, prometteuse, pour augmenter le nombre de grains par m² est d'augmenter la fertilité des épis dont le déterminisme génétique est largement exploré (Golan *et al.*, 2019; Guo *et al.*, 2017, 2016; Guo and Schnurbusch, 2015; Pradhan *et al.*, 2019; Sakuma *et al.*, 2019).

Il s'agit d'augmenter le taux de conversion de la masse d'épi à anthèse en nombre de grains autrement dit l'efficience de fructification (Fruiting efficiency). Il a ainsi été montré que l'efficience de fructification était bien corrélée positivement avec le nombre de grains par m² (Figure 1-19) (Rivera-Amado *et al.*, 2019; Slafer *et al.*, 2015). Pour augmenter l'efficience de fructification, il est possible d'optimiser la répartition des assimilats en faveur des parties non structurales de l'épi (rachis, glumes, …) ou de diminuer la taille des fleurs pour permettre à un plus grand nombre de fleurs de se développer (Figure 1-20) (Rivera-Amado *et al.*, 2019; Slafer *et al.*, 2015). Cette dernière stratégie pour augmenter le rendement est particulièrement prometteuse et une meilleure répartition des assimilats en faveur des parties non structurales de l'épi est favorisée dans les études récentes (e.g. Garcia *et al.*, 2019).

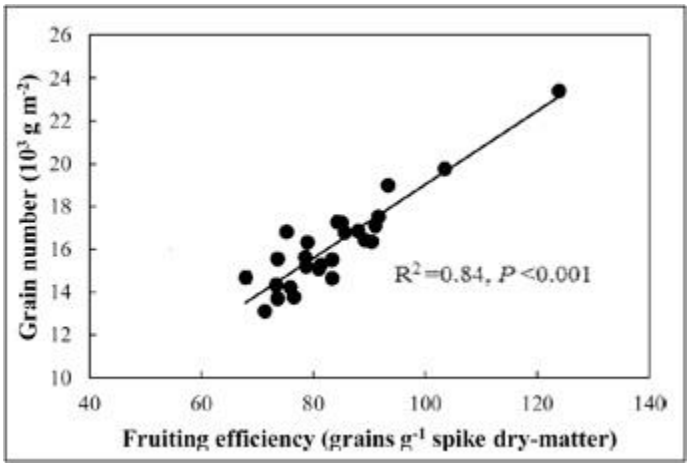


Figure 1-19: Régressions sur les 26 cultivars CIMCOG de l'efficience de la fructification (Fruiting efficiency) (nombre de grains par gramme de matière sèche d'épi par m^{-2}) sur le nombre de grains par m². *Les valeurs représentent les moyennes en 2012 et 2013. Adapté d'après Rivera-Amado et al., 2019.*

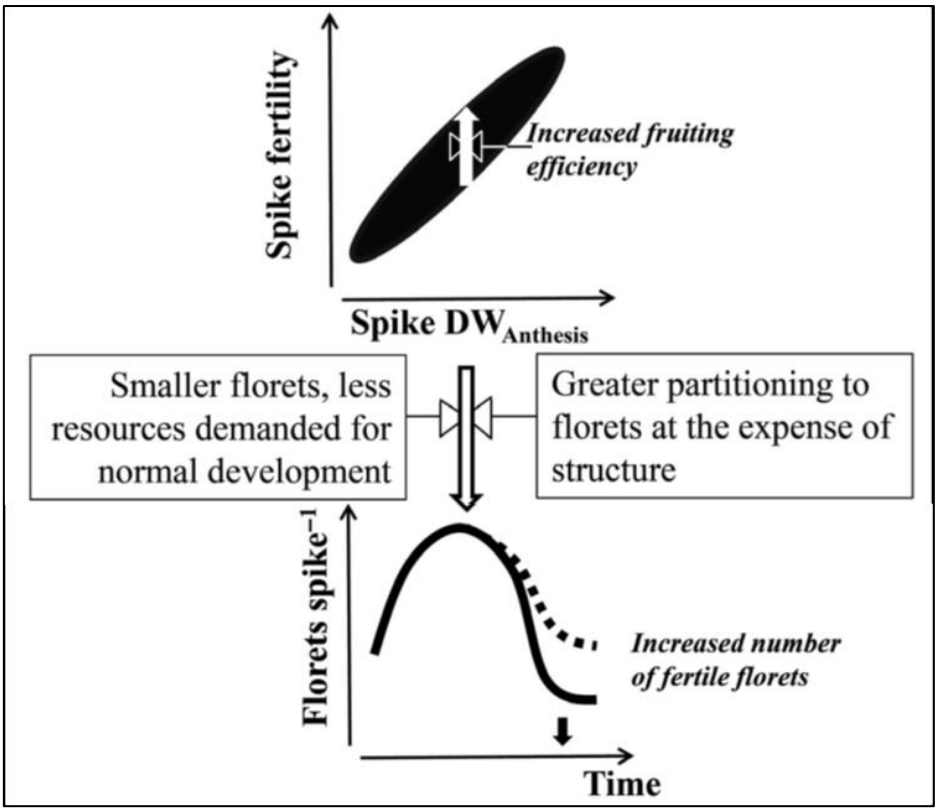


Figure 1-20 : Schéma présentant les deux possibilités physiologiques qui pourraient entraîner une augmentation de l'efficience de fructification (en pointillé), soit en réduisant la demande de fleurs individuels en assimilats nécessaires à leur survie, soit en modifiant la répartition des assimilats au sein de l'épi en faveur des fleurs potentielles. *Adapté de Slafer et al., 2015.*

Augmenter le rendement via le nombre de grains par m² est une stratégie actuellement promue par le CIMMYT et pour laquelle plusieurs voies sont explorées. Cette stratégie revient à délaisser partiellement la sélection directe du caractère d'intérêt final ; le rendement ; pour une sélection basée sur des traits d'importance tels que le nombre de grains par m². Cette démarche de sélection basée sur des traits d'intérêts pour augmenter le rendement est promue comme un outil permettant de sélectionner des stratégies spécifiques mieux adaptées à des conditions climatiques futures fortement variables. En effet, si la sélection variétale était jusqu'à peu réalisée dans des environnements optimaux, la diversité des environnements et leur instabilité face au changement climatique ne peuvent plus être ignorées. Ainsi, la démarche de sélection sur des traits d'intérêts pourrait s'appliquer sur le PMG en condition de stress abiotiques post-floraison.

3.3. Le PMG : de trait secondaire à cible pertinente de la sélection variétale en condition de stress abiotiques post-floraison

Cette composante présente en effet une sensibilité importante aux fluctuations environnementales et notamment aux stress abiotiques pendant le remplissage des grains, comme nous avons pu le voir dans la partie II.2.

Or, il a été largement montré que la fréquence et l'ampleur des événements météorologiques extrêmes augmenteront avec le changement climatique (IPCC, 2019). La plupart des modèles climatiques globaux (Global Climate Models ou GCM) simulent une augmentation de la sécheresse estivale dans la plupart des régions des latitudes moyennes et élevées. Weisheimer and Palmer (2005) ont utilisé plusieurs modèles et scénarios climatiques pour montrer que la probabilité de saisons extrêmement chaudes devrait aussi augmenter dans de nombreuses régions. Cette augmentation des saisons chaudes extrêmes résulte de l'effet combiné d'une hausse des températures moyenne et d'une augmentation de leur variabilité. De la même manière, Semenov (2007, 2009) a montré que la fréquence, la longueur et la sévérité des stress thermiques augmentera considérablement d'ici la fin du siècle. Il est à noter que la diminution de la durée du cycle de développement du blé liée à une augmentation des températures pourrait limiter en partie l'occurrence de fortes températures durant le remplissage du grain.

De nombreux études ont évalué les impacts mondiaux et régionaux de l'augmentation du stress thermique (Asseng *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2016; Semenov and Shewry, 2011; Teixeira *et al.*, 2013). L'utilisation de différents modèles de culture est très répandue pour évaluer l'impact du changement climatique sur la production végétale. Par exemple, le modèle CERES-Wheat, qui a été utilisé dans plusieurs études d'impact du changement climatique, a été évalué dans de nombreux sites en Asie, en Europe et en Amérique (Liu *et al.*, 2016 et références citées). Récemment, 30 modèles de culture simulant les rendements en blé ont été évalués dans une large gamme de conditions de température (températures moyennes allant de 15 à 32 °C) (Asseng *et al.*, 2015). Seules quelques études ont testé la réponse de modèles de culture sous un stress de température extrêmement élevée (Liu *et al.*, 2016 et références citées). Par exemple, Liu *et al.* (2016) ont montré que pour plusieurs modèles de culture, la durée de remplissage des grains était impactée négativement par le nombre de jours avec une température journalière moyenne supérieure à 30°C (Figure 1-21), excepté pour un modèle (APSIM-Wheat) qui réalise une mauvaise prédiction sur ce caractère par rapport aux autres modèles.

Cependant, avec une occurrence plus importante de périodes de température élevée (> 30 ° C), même de courte durée, au stade du remplissage du grain, le PMG et par conséquent le rendement peuvent être fortement affectés. Dans ce contexte, il devient donc pertinent de s'intéresser au PMG pour maintenir un bon niveau de rendement dans un futur où la probabilité d'occurrence de stress terminaux va augmenter fortement.

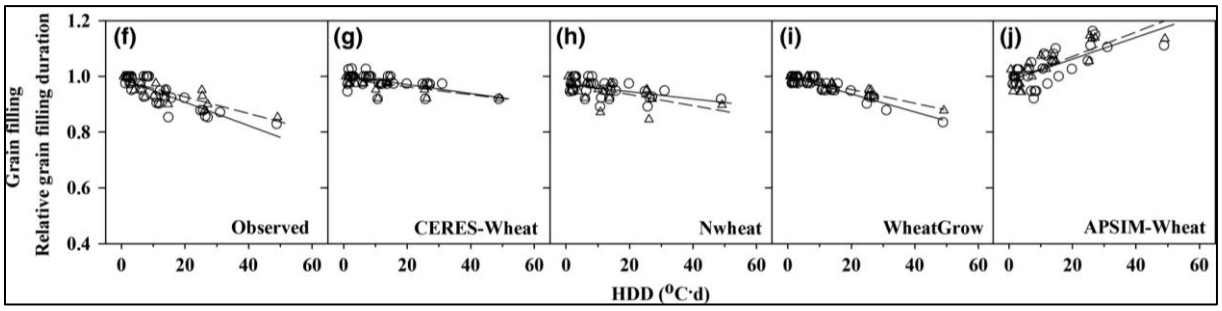


Figure 1-21: Réponse relative au stress thermique pendant le remplissage du grain de la durée de remplissage du grain observée et simulée à partir de quatre modèles de blé pour deux cultivars de blé d'hiver *(le cercle et la ligne pleine correspondent au cultivar Yangmai16 ; le triangle et la ligne de tiret correspondent au cultivar Xumai30) Observation en milieu contrôlé (f). Simulation avec les modèles de culture suivants : CERES-Wheat (g), Nwheat (h), WheatGrow (d i), et APSIM-Wheat (j).HDD : temperatures journalières au-dessus de 30°C. D'après Liu et al., 2016.*

Quelques rares études ont été réalisées sur le potentiel du PMG comme critère de sélection indirecte pour le rendement. (Sharma and Duveiller, 2003; Sidwell *et al.*, 1976; Wiersma *et al.*, 2001). Ces études ont montré que le PMG comme critère de sélection indirecte avait un impact réduit sur le rendement final. Néanmoins, ces études ont toutes été effectuées en conditions optimales, en particulier sans stress abiotique post-floraison établi. D'autres études ont abordé la sélection indirecte du PMG comme un trait de tolérance aux stress abiotiques post-floraison (Sharma *et al.*, 2008 et références citées). Ainsi, (Sharma *et al.*, 2008) ont montré que la sélection pour une faible réduction du PMG (basée sur une comparaison entre conditions stressée et non stressée) pouvait permettre d'identifier des variétés tolérantes à un stress thermique post-floraison. De plus, des études antérieures ont montré qu'il existe une variabilité génétique pour la tolérance aux stress thermiques post-floraison sur le matériel génétique de la même région (Sharma *et al.*, 2004 et références citées). Ces études ponctuelles nous révèlent qu'il est possible et pertinent d'appliquer la démarche de sélection du rendement par des traits d'intérêts sur le PMG en condition de stress abiotique post-floraison.

L'hypothèse forte de la thèse est par conséquent que le PMG, dans des environnements caractérisés par une forte occurrence de stress abiotiques post-floraison, est un trait d'importance pour améliorer le rendement potentiel.

IV. La face cachée du PMG : une importante variabilité de masses de grains individuels qui reste ignorée

Si le PMG devient une cible pertinente pour l'amélioration du rendement dans le cas de stress abiotiques post-floraison, il est nécessaire de se pencher sur le déterminisme génétique de ce trait d'intérêt et sa complexité phénotypique.

4.1. Déterminisme du PMG : la complexité d'étude d'un trait moyen à l'échelle de la parcelle

4.1.1. Déterminisme du PMG : des gènes associés au développement du grain aux QTL sur le PMG

Dans la partie II.2., nous avons vu que le développement du grain de blé était décrit avec précision dans la littérature. De nombreuses études transcriptomiques et protéomiques ont permis de déterminer l'ontologie de gènes, c'est-à-dire décrire leurs fonctions, exprimés aux différentes phases du développement du grain. Il y a bien sûr une évolution des ontologies des gènes qui s'expriment selon les phases de développement du grain. Ainsi, au début du développement du grain, les gènes exprimés sont liés à la division cellulaire, à la photosynthèse et au métabolisme des protéines (Brinton *et al.*, 2018; Laudencia-Chingcuanco *et al.*, 2007; Wan *et al.*, 2008; Yang *et al.*, 2017). En ce qui concerne les phases plus tardives du remplissage du grain, des gènes associés à la synthèse d'amidon et aux protéines de réserve sont exprimés (Laudencia-Chingcuanco *et al.*, 2007; Liu *et al.*, 2020; Pellny *et al.*, 2012; Yu *et al.*, 2016).
L'étude du déterminisme génétique du PMG est en revanche moins aboutie. En effet, si de nombreux QTL de PMG ont été identifiés sur l'ensemble du génome du blé (Breseghello and Sorrells, 2007; Gegas *et al.*, 2010; Huang *et al.*, 2003; Kumar *et al.*, 2016; Rustgi *et al.*, 2013; Simmonds *et al.*, 2014; Sun *et al.*, 2008; Xian-Yin *et al.*, 2009), très peu ont été validés fonctionnellement (Brinton *et al.*, 2017; Farré *et al.*, 2016; Huang *et al.*, 2015; Röder *et al.*, 2008; Simmonds *et al.*, 2014) et aucun n'a encore été cloné (Figure 1-22). Dans ces études, la comparaison avec d'autres espèces, chez lesquelles le déterminisme génétique de la masse des grains est mieux connue, a été utilisée et l'analyse des variants de ces gènes chez le riz, l'orge, le maïs ou *A. thaliana* a permis de mieux comprendre leur rôle fonctionnel. L'exemple le plus marquant concerne le transfert des connaissances obtenues sur le gène GW2 du riz vers le gène

TaGW2 du blé. Chez le riz, le gène GW2 code pour une ubiquitine ligase qui régule négativement la largeur du grain (Song *et al.*, 2007). Ce mécanisme est conservé au niveau cellulaire et moléculaire chez de nombreuses espèces (blé, maïs, riz, *A. thaliana*) (Li *et al.*, 2010; Simmonds *et al.*, 2016; Xia *et al.*, 2013). Le gène orthologue chez le blé (TaGW2) a une activité d'ubiquitination mais également un effet sur le nombre de cellules dans les tissus maternels (Bednarek *et al.*, 2012; Dong *et al.*, 2017; Xia *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2018). Cependant, il y a une limite au transfert de connaissances entre espèces pour les gènes candidats, notamment ceux du PMG, et leurs fonctionnalités. Par exemple, les QTL du PMG chez le blé présentent des effets assez faibles comparés à d'autres espèces comme le riz (Figure 1-22). Ainsi, un QTL de PMG chez le blé a un effet moyen inférieur à 10% de variation phénotypique tandis que chez le riz (Figure 1-22), les effets sont supérieurs ou égaux à 20%. Certaines caractéristiques spécifiques du génome des espèces telles que le niveau de ploïdie ou les taux de recombinaisons jouent un rôle très important dans la recherche de QTL et la validation de gènes candidats (Borrill *et al.*, 2015a; Wang *et al.*, 2018).

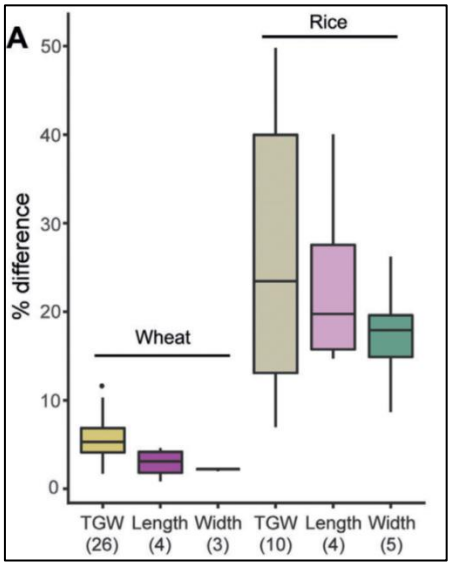


Figure 1-22: Contrôle génétique du PMG dans le blé *(A) L'effet en pourcentage des loci des caractères quantitatifs (QTL) pour le PMG (mesuré sur des milliers de grains) : le PMG, la longueur et la largeur du grain chez le blé et le riz. L'effet d'un QTL pour PMG chez le blé est généralement <10%, alors que dans le riz, les effets sont plus importants (moyenne=25.9%). Les valeurs entre parenthèses sont le nombre de QTL différents utilisés pour créer les boxplots. D'après Brinton and Uauy, 2019.*

Nous avons vu que le déterminisme génétique du PMG peut être complexe à étudier. Une difficulté supplémentaire dans la recherche de QTL de PMG est la prise en compte du trade-off existant entre ce trait et le nombre de grains par m². **Le trade-off existant entre le nombre de grains par m² et le PMG a en effet un impact important sur la recherche de gènes/QTL**

pour le PMG. Plusieurs études (Griffiths *et al.*, 2015; Zhai *et al.*, 2018) ont ainsi mis en évidence qu'une part du déterminisme génétique associé au PMG était en réalité un déterminisme du nombre de grains par m² ayant un impact indirect sur le PMG. Pour étudier le déterminisme génétique du PMG, il faut donc bien comprendre la relation de ce trait avec la composante de rendement qui la précède dans le cycle de développement de la culture et avec laquelle elle est fortement corrélée négativement : le nombre de grains par m².

4.1.2. Bases physiologiques du trade-off entre nombre de grains par m² et PMG

Dans le partie II.2., nous avons abordé les trade-off qui existent entre les différentes composantes de rendement. Dans cette partie, nous allons nous intéresser plus finement au trade-off entre le nombre de grains par m² et le PMG, dont la force (r^2) peut varier selon le génotype et l'environnement entre 0.27 et 0.60 (Quintero *et al.*, 2018 ; Figure 1-11).

Cette relation négative entre le nombre de grains par m² et le PMG est observée fréquemment chez le blé (Acreche and Slafer, 2006; Bustos *et al.*, 2013; Miralles and Slafer, 1995; Sadras, 2007) et d'autres céréales (Bulman *et al.*, 1993; Gambin and Borras, 2010; Pereira *et al.*, 1999).Les bases physiologiques de cette relation négative ont fait l'objet de nombreuses études (e.g. Acreche and Slafer, 2006; Chen *et al.*, 2019; Feng *et al.*, 2019; Ferrante *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2016; Miralles and Slafer, 1995). La première hypothèse élaborée pour expliquer cette relation négative est basée sur une compétition entre les grains pour les assimilats disponibles. En effet, plus le nombre de grains par épi/par m² augmente, plus il y a de puits à remplir à sources d'assimilats constantes, et donc une éventuelle limitation par la source. Or, il a été montré, grâce à des manipulations source-puits, que le remplissage des grains était majoritairement limité par les puits et non par les sources (Borrás *et al.*, 2004; Borrill *et al.*, 2015b; Elias *et al.*, 2016; Serrago *et al.*, 2013 et partie III.1.). La deuxième hypothèse élaborée et vérifiée (Acreche and Slafer, 2006; Chen *et al.*, 2019; Feng *et al.*, 2019; Ferrante *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2016; Miralles and Slafer, 1995) pour expliquer cette relation négative repose sur le fait qu'une augmentation du nombre de grains par m² implique une augmentation du nombre de grains à des positions spécifiques au sein du couvert et des épis. Ces grains supplémentaires sont en effet positionnés sur des talles secondaires et/ou à des positions spécifiques au sein d'un épi. Or, comme nous le verrons par la suite, ces grains supplémentaires présentent, du fait de

leur position, des masses de grains plus faibles. En conséquence, sous cette hypothèse, l'augmentation du nombre de grains se traduit par une augmentation de la proportion de grains à masse potentielle plus faible, impactant donc négativement le PMG. Par conséquent, augmenter le nombre de grains par épi augmente la variabilité des masses de grains individuels par l'ajout de grains à masse potentielle plus faible.

Une meilleure compréhension du trade-off entre le nombre de grains par m² et le PMG, implique donc de prendre en compte des masses de grains individuels qui permettent de construire la masse moyenne des grains (PMG). Il apparaît ainsi que le PMG, en tant que trait moyen étudié à l'échelle de la parcelle, masque l'existence de l'importante variabilité des masses de grains individuels, possiblement porteuse d'informations nouvelles sur les processus sous-jacents au remplissage du grain de blé.

4.2. Du trait moyen au trait individuel : origine de la variabilité des masses individuelles des grains

Que ce soit des espèces cultivées ou non, toutes les plantes présentent une variabilité intra-génotypique des masses de grains individuels au sein d'une parcelle (e.g. Mitchell *et al.*, 2016). Chez le blé, le PMG est établi sur la base de grains récoltés sur une parcelle (bulk ou lot) et représente la moyenne des masses de grains individuels. La variabilité des masses des grains individuels qu'on y observe provient de deux niveaux distincts de variabilité : l'un s'exerçant entre épis et l'autre entre grains du même épi.

4.2.1. Une variabilité des masses de grains inter-épis ou intra-épis

Le premier niveau est la variabilité entre les épis, qui peut être résumée par la variabilité observée de la masse moyenne des grains par épi au sein de la population d'épis présente au sein de la parcelle. Le tallage est en effet un processus dynamique qui produit à floraison, un nombre final d'épis au m² après la génération, le développement et la survie d'une population de talles toutes différentes (Davidson and Chevalier, 1990; Kirby *et al.*, 1985; Masle-Meynard, 1982). Ces différences entre talles individuelles ont déjà été largement étudiées pour un certain nombre de fonctions. Par exemple, le brin maître et les talles montrent des différences nettes en termes de capacité photosynthétique, de vitesse de sénescence et donc globalement en terme de capacité productive (Xu *et al.*, 2015). L'efficience de la fructification (nombre de grains par unité de matière sèche de l'épi à floraison) des talles est également plus élevée que pour les maîtres brins (Terrile *et al.*, 2017). Or, il a été démontré que l'augmentation de l'efficience de la fructification génère une proportion accrue de grains plus petits (Ferrante *et al.*, 2015). De ce fait, on trouve une proportion plus élevée de petits grains pour les talles secondaires (Acreche and Slafer, 2006). Ces différences conjointes des sources et des puits génèrent de fait, à l'échelle des épis individuels, des grains de masse moyenne différentes.

Le deuxième niveau de variabilité de la masse individuelle des grains, et sans doute le plus important, est la variabilité intra-épi. Plusieurs études mettent en évidence la variabilité de la masse des grains dans l'épi et au sein des épillets (e.g. Baillot *et al.*, 2018; Feng *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2016). Un premier gradient de masse des grains est observé le long de l'épi (gradient vertical) (Figure 1-23). Il est généralement admis que la masse des grains est plus élevée dans la partie centrale de l'épi (Baillot *et al.*, 2018; Bremner, 1972; Miralles and Slafer, 1995; Slafer

and Miralles, 1992). Il n'y a pas en revanche de consensus concernant la hiérarchie entre la masse des grains des parties apicale et basale. Dans certaines études, il n'y a pas de différence de masse de grain entre la partie apicale et basale de l'épi (Rawson and Evans, 1970; Rawson and Ruwali, 1972), tandis que d'autres décrivent que la masse des grains dans la partie basale de l'épi est supérieure à celle des grains situés sur la partie apicale (Bremner, 1972; Miralles and Slafer, 1995). A ce gradient vertical le long de l'épi, s'ajoute un second gradient (gradient horizontal) (Figure 1-23) de variabilité de la masse du grain au sein des épillets. Il est clairement montré que les grains proximaux sont plus lourds que les grains distaux (Baillot *et al.*, 2018; Feng *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2016; Miralles and Slafer, 1995).

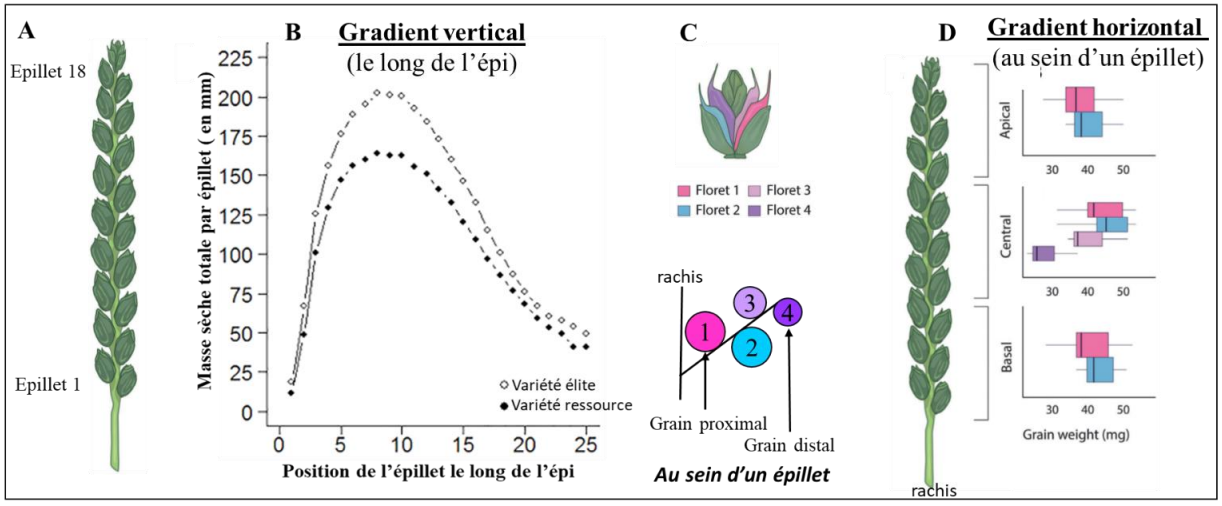


Figure 1-23 : Représentation schématique du gradient vertical (A, B), et du gradient horizontal (C, D) au sein de l'épi. *Le gradient horizontal correspond à la variation de masse des grains selon leur position au sein d'un épillet, le plus proche du rachis étant le grain proximal, le plus éloigné étant le grain distal. (B) Représentation graphique de la distribution de la masse totale des grains en fonction de la position des épillets le long de l'épi (gradient verticale) pour des variétés élites et des ressources génétiques. Adapté de Philipp et al., 2018. (C, D) Représentation de la distribution de la masse totale des grains au sein des épillets dans les parties basales, centrales et apicales et boxplots des masses des grains individuels à des positions spécifiques. Adapté de Brinton and Uauy, 2019.*

4.2.2. A l'origine de cette variabilité des masses de grains individuels : des mécanismes physiologiques non exclusifs

Un certain nombre d'études s'est focalisé sur les deux paramètres de remplissage du grain (vitesse et durée de remplissage) pour expliquer la variabilité intra-génotype des masses de grains individuels chez le blé tendre, comme chez plusieurs espèces (maïs, soja, blé dur). Ainsi, une forte corrélation a été mise en évidence entre la matière sèche des grains et la durée de remplissage chez le maïs, le soja et le blé dur (Cross, 1975; Daynard *et al.*, 1971; Egli *et al.*, 1978; Gebeyehou *et al.*, 1982). Pour le blé ainsi que d'autres céréales, les différences de masse sèche au sein de l'épi sont plutôt liées à des différences de vitesse de remplissage (Atta *et al.*, 2004; Baillot *et al.*, 2018; Calderini and Reynolds, 2000; Charmet *et al.*, 2005; Fussell and Pearson, 1978; Jones *et al.*, 1979; Miralles and Slafer, 1995; Xie *et al.*, 2015), bien que les deux paramètres (vitesse et durée de remplissage) soient corrélés à la masse sèche des grains (Bremner, 1972; Herzog and Stamp, 1983). Très peu d'études sur le blé ont utilisé ce type d'analyses pour expliquer les différences de masses au sein de l'épi. Ces études ont néanmoins permis de montrer que les grains situés dans la partie centrale ont une vitesse de croissance plus rapide que ceux de la partie basale, eux même ayant une vitesse de croissance plus élevée que les grains situés dans la partie apicale (Baillot *et al.*, 2018; Herzog and Stamp, 1983; Miralles and Slafer, 1995). Au sein des épillets, la masse plus grande des grains proximaux est expliquée par une vitesse de croissance plus élevée que celle des grains distaux (Miralles and Slafer, 1995).

Ainsi, il semble que la vitesse de croissance soit la principale cause des différences de masse des grains individuels au sein de l'épi. Cependant, aucune hypothèse sur les mécanismes sous-jacents n'a encore été démontrée. Pour expliquer la variabilité de masse de grain individuel au sein de l'épi, plusieurs hypothèses non exclusives liées respectivement au décalage développemental des grains, à des gradients hormonaux, à des contraintes physiques ou à l'architecture vasculaire de l'épi peuvent être exprimées.

Une première hypothèse liée au décalage développemental des grains repose sur des différences de date de floraison des grains au sein de l'épi et des épillets.

En effet, la date de floraison des fleurs est variable selon leur position au sein de l'épi et des épillets (Evans *et al.*, 1972; Rawson and Evans, 1970; Willenborg *et al.*, 2009; De Vries, 1973). Les fleurs des épillets centraux fleurissent plus précocement, suivies des fleurs situées en position apicale, puis basale (Baillot *et al.*, 2018; Rawson and Evans, 1970). Le décalage de floraison peut aller jusqu'à 100 °CJ entre les fleurs les plus précoces et les plus tardives (Baillot *et al.*, 2018; Figure 1-24). Au sein des épillets, les fleurs proximales fleurissent systématiquement avant les fleurs distales, ce qui peut induire un décalage de floraison allant jusqu'à 65 °CJ (Figure 1-24) (Baillot *et al.*, 2018). Ces décalages de floraison pourraient se traduire en différence de masse de grains individuels finales si le remplissage est interrompu avant que les grains atteignent leur taille potentielle. Toutefois, (Baillot *et al.*, 2018) ont montré qu'il n'y avait pas de corrélation significative entre le décalage de floraison et la masse finale des grains individuels au sein d'un épi.

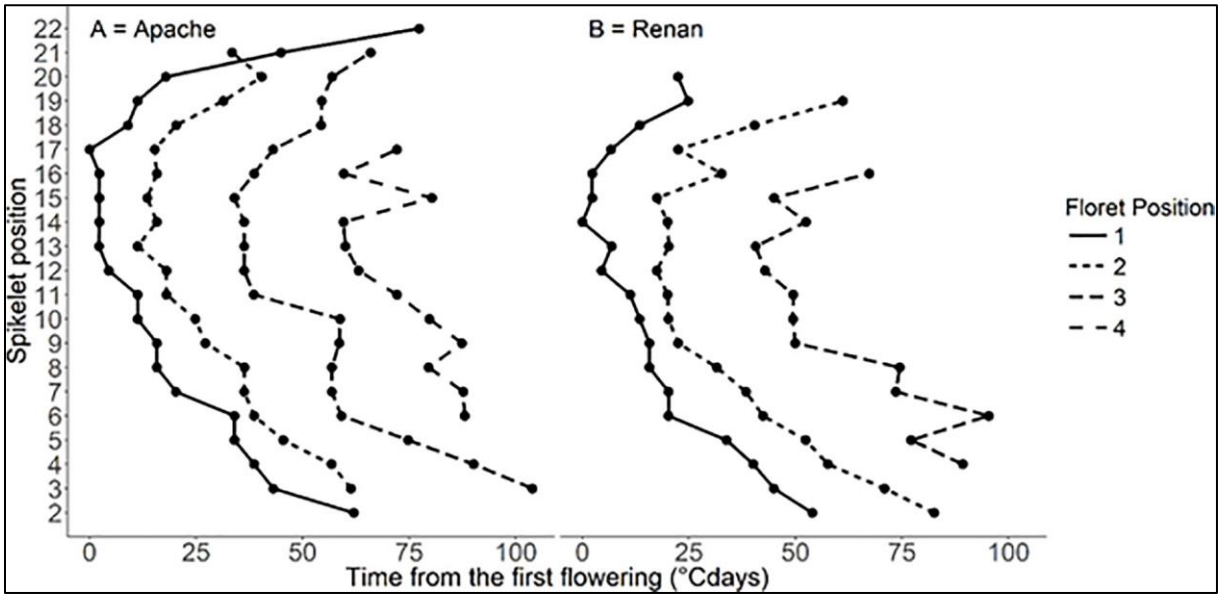


Figure 1-24: Décalage moyen du temps de floraison par rapport à la position de l'épillet dans l'épi et à la position de la fleur dans l'épillet pour les cultivars Apache (A) et Renan (B). *La position dans l'épi est numérotée de la base à l'apex et la position dans l'épillet est numérotée de la plus proche du rachis à la plus éloignée. Pour chaque cultivar, dix épis ont été observés avec 22 épillets pour le cv Apache et 20 épillets pour le cv Renan. Chaque point représente la moyenne des valeurs observées. °Cdays est le temps thermique (base 0°C). D'après Baillot et al., 2018.*

Une seconde hypothèse liée au décalage développemental des grains repose sur des différences de masse d'ovaire des grains selon leur position au sein de l'épi et des épillets.

Outre les décalages de floraison observables au sein d'un épi, des différences de masses (ou tailles) d'ovaires à anthèse sont également visibles au sein d'un épi. Plusieurs études ont montré, sur des génotypes et dans des environnements différents, qu'au sein d'un épillet la taille des ovaires proximaux était plus importante que la taille des ovaires plus distaux (Calderini *et al.*, 1999; Hasan *et al.*, 2011; Xie *et al.*, 2015). Cette variabilité de taille d'ovaire a été expliquée par des différences de nombre de cellules au sein de la paroi ovarienne chez le blé (Reale *et al.*, 2017) mais aussi chez le sorgho (Yang *et al.*, 2009). Or, chez un grand nombre d'espèces telles que le blé (Hasan *et al.*, 2011; Xie *et al.*, 2015), l'orge (Scott *et al.*, 1983), le tournesol (Cantagallo *et al.*, 2004), le sorgho (Yang *et al.*, 2009), la masse/taille de l'ovaire est fortement corrélée à la masse sèche du grain. Ceci est aussi vrai pour expliquer les différences variétales au sein du blé (Calderini *et al.*, 2001; Hasan *et al.*, 2011; Xie *et al.*, 2015) ou les effets des variables environnementales (effets de la température (Calderini *et al.*, 1999), disponibilité en azote, densité de plante (Benincasa *et al.*, 2017)). L'influence de la taille d'ovaire sur la masse finale du grain a aussi été observée en intra-épi (Calderini *et al.*, 1999; Hasan *et al.*, 2011). De plus, une corrélation forte a été observée entre la taille de l'ovaire et la vitesse de croissance des grains (Calderini *et al.*, 1999; Xie *et al.*, 2015). Les relations physiologiques entre la taille des ovaires, la matière sèche finale des grains, l'accumulation d'eau et les dimensions des grains sont confirmées par des liaisons de gènes associés à ces caractères et fonctionnellement liés (Xie *et al.*, 2015). Dans les grains distaux, le remplissage est plus lent et plus court (Millet and Pinthus, 1984; Simmons and Crookston, 1979) et la teneur en eau plus faible. Ce qui pourrait s'expliquer par le fait que les grains présentant des tailles d'ovaires plus importantes à floraison présentent des forces de puits plus importantes. Cependant, la variabilité des masses/tailles d'ovaire ne peut, à elle seule, expliquer la variabilité des masses de grains individuels observée au sein d'un épi. En effet, d'une part Baillot *et al.* (2018) n'ont trouvé aucun lien quantitatif entre la taille d'ovaire et la vitesse de croissance des grains. D'autre part, les coefficients de corrélations linéaires entre la masse d'ovaire à floraison et la masse sèche finale du grain varient par exemple entre 0.12 et 0.20 seulement pour Xie *et al.* (2015) en combinant plusieurs variétés de blé et différentes positions de grains au sein de l'épi (Figure 1-25), ce qui indique que la masse finale du grain n'est pas entièrement dépendante de sa taille d'ovaire et que d'autres processus sont à l'œuvre.

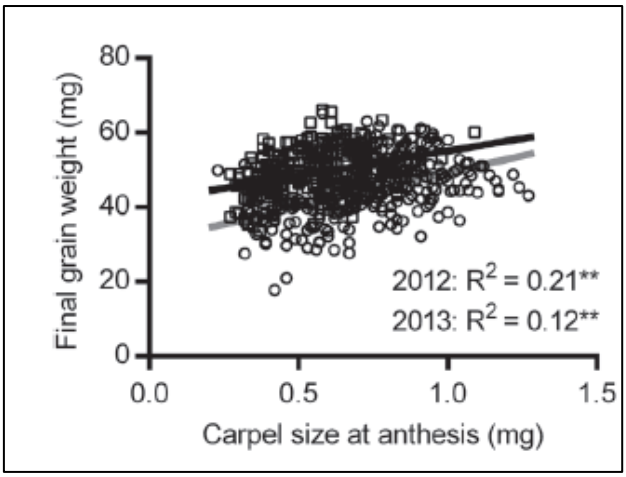


Figure 1-25: Relations entre la masse de l'ovaire à anthèse et la masse finale du grain. *Les données pour 2012 et 2013 sont indiquées respectivement par les cercles (lignes de régression grises) et les carrés (lignes de régression noires). Niveaux de signification pour l'analyse de régression : ns, non significatif ; *P<0,05 ; **P<0,01. D'après Xie et al., 2015.*

Une autre hypothèse qui peut être émise pour expliquer la variabilité des masses de grains individuels au sein d'un épi concernent des régulateurs de la croissance des grains. Les hormones et les polyamines sont notamment deux familles de substances qui sont impliquées dans la régulation de la croissance des plantes/du grain et qui interagissent. Les études sur le lien entre la masse de grains individuels selon la position au sein de l'épi et les gradients de substances chimiques au sein de l'épi sont toutefois très rares chez le blé.

Chez le blé, des cytokinines telles que la zéatine (Z), la zéatine riboside (ZR) et l'auxine (IAA), sont observées à des concentrations élevées dans l'albumen où elles favorisent la division cellulaire pendant les premiers stades de développement et donc sont impliquées dans la mise en place de la force du puits (Liu *et al.*, 2013, Figure 1-14). En parallèle, les grains proximaux de la partie centrale de l'épi présentent une concentration en acide abscissique (ABA) plus élevée que les grains distaux ; à l'inverse de la concentration en éthylène (ETH) plus élevés dans les grains basaux. Or il est admis que les rapports ABA/ETH et Z+ZR/ETH sont corrélés positivement avec la vitesse de remplissage des grains. Chez le riz, qui présente une masse des grains plus élevée au sommet de la panicule qu'à la base, l'ETH est un second messager qui inhibe la synthèse de l'amidon et régule la dominance apicale (Sekhar, 2015). Ces gradients hormonaux pourraient donc expliquer en partie les différences de masse des grains individuels observées au sein des épillets de blé (Yang *et al.*, 2006).

Les polyamines sont également impliquées dans la régulation du développement du grain. Elles ont été en particulier très étudiées chez le riz. La variabilité des masses de grains entre le sommet et la base de la panicule est expliquée en partie par des concentrations en putrescine

(Put), spermidine (Spd) et spermine (Spm) qui sont corrélées avec la vitesse moyenne et maximale de croissance (Tan *et al.*, 2009 [cité par Liu *et al.*, 2013]). Chez le blé, les résultats sont similaires, à l'exception de la concentration en putrescine qui n'est pas corrélée avec la masse des grains (Liu *et al.*, 2013). De plus, il semble que les concentrations en polyamines Spd et Spm soient corrélées avec les concentrations en Z+ZR, ABA, et IAA des grains et inhibent la synthèse de l'ETH. A l'inverse, la polyamine Put favorise la concentration en ETH des grains (Liu *et al.*, 2013).

Ainsi, les hormones et les polyamines, en agissant dès la phase de la division cellulaire, sont impliquées dans la variabilité des masses de grains individuels.

Une hypothèse liée aux contraintes physiques peut aussi être développée pour expliquer la variabilité intra-épi des masses de grains individuels.

L'architecture de l'épi pourrait en effet être responsable de contraintes physiques limitant la croissance volumique du grain et donc sa masse finale. En effet, de nombreuses études ont clairement montré que la masse sèche du grain est corrélé à son volume (Gambín *et al.*, 2007; Hasan *et al.*, 2011; E. Millet and Pinthus, 1984; Rondanini *et al.*, 2009; Yang *et al.*, 2009). Il a été décrit précédemment (deuxième hypothèse liée au décalage développementale) qu'il existe une variabilité du nombre de cellules de la paroi ovarienne selon la position du grain. Or le péricarpe du grain est directement issu de cette paroi ovarienne. Il a donc été supposé chez le blé et le maïs que le nombre de cellules de la paroi ovarienne pourrait limiter la capacité du grain à croître *via* son péricarpe (Calderini *et al.*, 1999; Hasan *et al.*, 2011; Millet and Pinthus, 1984; Ugarte *et al.*, 2007). D'autres contraintes physiques pourraient également limiter la croissance du grain individuel telles que le volume de la cavité au sein de laquelle se développent les grains, la rigidité des bractées florales (glumes et glumelles) ainsi que la compacité de l'épi (Boshnakian, 1918; Millet and Pinthus, 1984). Très peu d'études se sont focalisées sur ces effets d'encombrement stérique, qui sont difficiles à distinguer des effets de compétitions entre grains pour les assimilats (Calderini and Reynolds, 2000). Dans la thèse de Baillot (2019) sur la base d'ablation d'épillets trois jours après floraison et de prise en compte des différences de rapports source-puits entre les épis témoins et les épis ablatés, il n'a pas été montré d'effet d'encombrement inter-épillet au sein de la partie centrale de l'épi.

Enfin, une dernière hypothèse pour expliquer la variabilité des masses de grains individuels au sein d'un épi est liée à l'architecture vasculaire de l'épi.

Le système vasculaire est essentiel à la distribution des assimilats au sein de l'épi. Les faisceaux criblo-vasculaires présentent deux grands types tissulaires : le xylème et le phloème qui, via les tubes criblés, assurent la distribution des assimilats. Or, chez le blé comme chez d'autres Poacées (Hanif and Langer, 1972; Kirby and Rymer, 1974; O'Brien *et al.*, 1985; Whingwiri *et al.*, 1981), le nombre et la taille des faisceaux criblo-vasculaires est variable le long de l'épi comme au sein des épillets. Globalement, le nombre et le diamètre des faisceaux criblo-vasculaires diminuent de la base au sommet de l'épi (Whingwiri *et al.*, 1981). Un modèle récent, développé par Wolde and Schnurbusch (2019) (Figure 1-26), propose un système similaire au modèle type d'aorte (McCulloh *et al.*, 2003; Murray, 1926; Price *et al.*, 2013; Seki *et al.*, 2015). L'étude de Wolde and Schnurbusch, (2019) a montré, sur des lignées quasi-isogéniques avec ou sans des épillets surnuméraires partageant un même entre-nœud du rachis, que les épillets surnuméraires présentaient une fertilité réduite et une masse de grains moins importante que les épillets principaux. Il existe donc une forte régulation des apports en assimilats à travers le système vasculaire de l'épi, qui serait susceptible d'expliquer la variabilité des masses de grains individuels au sein de l'épi et des épillets. On sait que les faisceaux criblo-vasculaires sont divisés en tubes parallèles (McCulloh *et al.*, 2003), comme l'illustrent les Figures 1-26S et 1-26T. Ces multiples conduits ont été simplifiés sur la figure 1-26 en un grand faisceau (Seki *et al.*, 2015). Ainsi, après la division du faisceau dans le rachis/rachillet, un faisceau irrigue l'épillet/fleur à proximité immédiate alors que les autres faisceaux irriguent l'entre-nœud du rachis/rachillet (Figure 1-26). Malgré le fait que l'on trouve davantage de faisceaux criblo-vasculaires à la base de l'épi (Whingwiri *et al.*, 1981), Wolde and Schnurbusch (2019) ont suggéré que les épillets basaux pouvaient ne pas être directement reliés au faisceau principal du rachis. De plus, étant donné que les grains au sein des épillets les plus basaux sont souvent moins fertiles voire stériles, la ramification du faisceau principal pourrait partir du centre de l'épi et progresser de manière proximo-distale en suivant la direction de la différenciation des épillets (Bonnett, 1936 [cité par [Wolde and Schnurbusch, 2019]).

L'ensemble des travaux rapportés dans le précédent paragraphe montre qu'il existe une variabilité des masses de grains individuels et identifie plusieurs hypothèses susceptibles de l'expliquer. Nous allons voir que l'identification d'une telle variabilité peut être utile dans la proposition de nouvelles pistes de sélection.

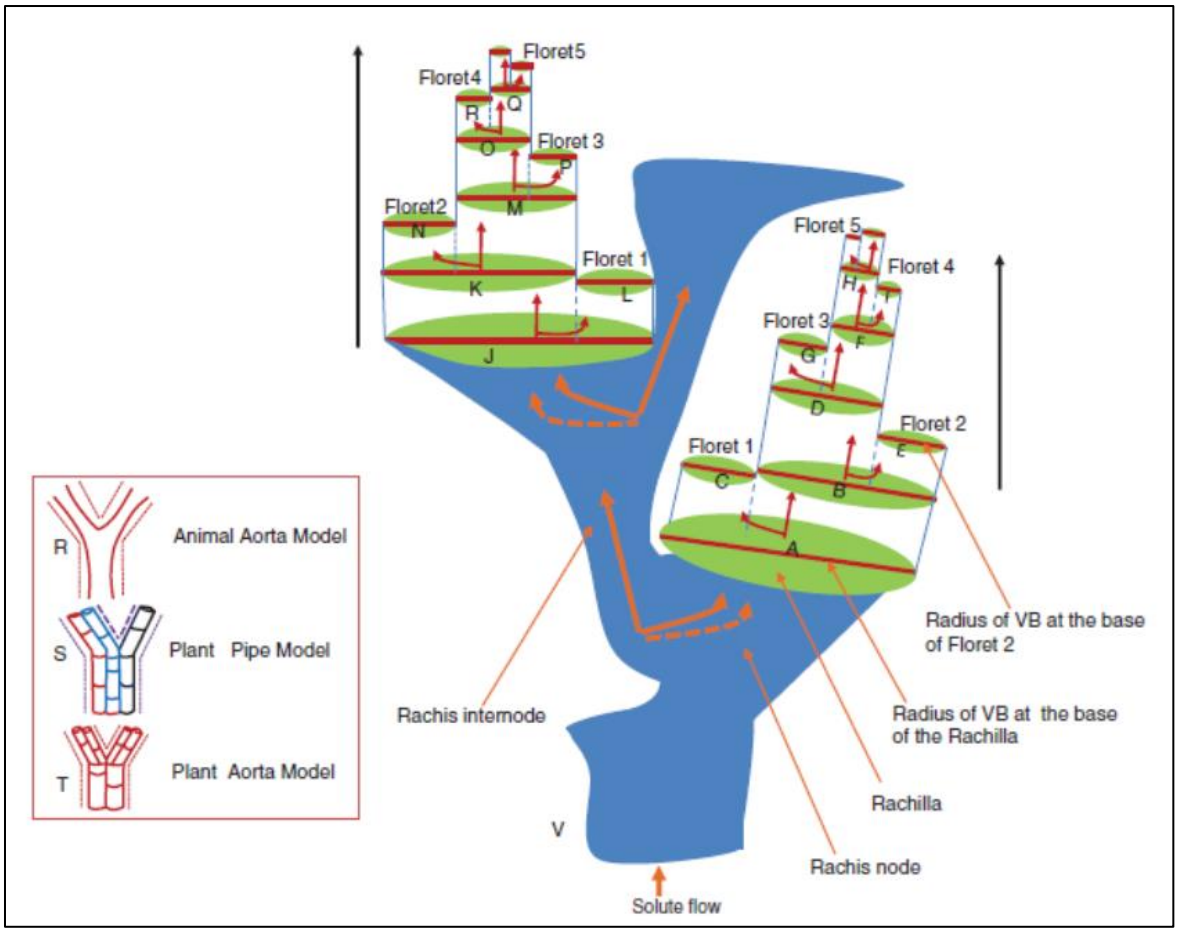


Figure 1-26: Représentation schématique du modèle vasculaire d'aorte proposé dans un épi/épillet de blé. *La figure en médaillon (R, S, T) montre les modèles d'aorte et de tuyau adaptés de McCulloh et al. (2003). (R) Modèle d'aorte dans le système des mammifères où un seul tube continu se bifurque en deux petits tubes fils, (S) modèle de tube dans les plantes où plusieurs faisceaux criblo-vasculaires sans ramification sont en parallèle dans chaque tube (code couleur) et (T) le modèle de l'aorte dans les plantes où les larges faisceaux criblo-vasculaires à la base alimentent de manière distale un nombre croissant de faisceaux criblo-vasculaires plus étroits. (V) Le modèle proposé d'aorte dans un épi/épillet de blé. Seuls les deux premiers nœuds du rachis à partir de la base du rachis sont représentés. La flèche noire pleine indique la direction du développement indéterminé des primordia (fleurs) dans chaque axe de l'épillet (rachillet). À chaque nœud du rachis/rachillet, le système vasculaire bifurque en deux faisceaux fils (flèches orange/rouge pleines) de telle sorte que l'un des faisceaux fils alimente l'épillet immédiat tandis que l'autre suit l'entre-nœud du rachis. Le schéma de bifurcation permet de donner le modèle suivant (Murray, 1926; Seki et al., 2015) : A= B+C; B= D+E; D= F+G ; et F = H+I et ainsi de suite. D'après Wolde and Schnurbusch, 2019.*

4.2.3. Pourquoi prendre en compte la variabilité des masses de grains individuels ?

Chez d'autres espèces que le blé, la variabilité des masses de grains individuels est prise en compte de différentes manières. La variabilité intra-génotypique des masses de grains individuels au sein d'une parcelle est connue chez plusieurs espèce (riz, orge, etc…) et étudiée principalement pour la recherche d'homogénéité des grains/semences (Bradshaw, 2006; Finch-Savage and Bassel, 2016). En effet, la variabilité des masses de grains individuels est accompagnée de variations des taux de macro- et micro-nutriments et des teneurs en gluten (Boz *et al.*, 2012; Calderini and Ortiz-Monasterio, 2003). Lorsque les grains sont destinés à subir des processus technologiques, une forte hétérogénéité de masse des grains est susceptible d'affecter le processus de transformation et la qualité du produit final. De manière similaire, pour les semences, une variabilité des masses de grains individuels peut être responsable d'une germination hétérogène (*Cf* II.2). Cependant, deux études ont montré d'autres utilisations de cette variabilité de masse de grains individuels. Ainsi, chez le riz, cette variabilité de masses de grains individuels a été prise en compte dans un modèle de sélection génomique comme caractère secondaire par rapport au rendement (Yabe *et al.*, 2018) et utilisée comme critère de caractérisation des stress abiotiques (Fabre *et al.*, 2005). Les distributions de masses de grains individuels chez le riz présentent en effet comme particularité une bimodalité, due au fait que les grains individuels chez le riz sont classés comme « remplis » ou « vides » selon si le remplissage du grain a été effectué ou non dans les grains vêtus (glumelles adhérentes au caryopse). Cette capacité de remplissage des grains étant un facteur primaire contrôlant le PMG chez le riz, la caractérisation des distributions de masses de grains individuels a été bien plus étudiée que chez le blé (Yabe *et al.*, 2018).

Une première condition pour justifier la prise en compte explicite de la variabilité des masses de grains individuels chez le blé, est de déterminer si cette variabilité est affectée par des facteurs génétiques et environnementaux. Les hypothèses émises pour expliquer la variabilité des masses de grains individuels sont en effet étudiées en intra-génotypique et plus particulièrement en intra-épi. Or, des facteurs génétiques et environnementaux ont un impact sur cette variabilité intra-génotypique des masses de grains individuels. L'effet de l'environnement sur la variabilité des masses de grains se traduit par le fait que la sensibilité au stress thermique post-floraison est différente selon les positions des grains au sein de l'épi : la

partie basale de l'épi et les grains en positions distales au sein d'un épillet sont les plus impactés (Tashiro and Wardlaw, 1990). Autre exemple, lors de certains stress hydriques, les variétés considérées comme plus tolérantes favorisent les parties basales et centrales des épis en y allouant plus d'assimilats (Yildirim, 2013). Par ailleurs, nous avons vu dans la partie III.2. que l'architecture de l'épi, c'est-à-dire la manière dont un épi de blé est organisé, n'a pas été impactée significativement par la sélection. Si les distributions de masses d'épillets le long de l'épi présentent une forme générale identique chez des anciens cultivars et chez des cultivars modernes (les épillets centraux étant toujours les plus lourds (Figure 1-23, Philipp *et al.*, 2018)) la masse des grains individuels le long de l'épi et au sein des épillets a évolué (Figure 1-27) (Feng *et al.*, 2019). Les grains proximaux (grains en position 1 et 2 au sein des épillets) ont vu leur masse augmenter de 20% environ entre les plus anciens cultivars et les modernes alors que les grains les plus distaux ont plutôt vu leur masse stagner (Feng *et al.*, 2019). La variabilité des masses de grains individuels chez le blé est donc soumise aux effets de l'environnement et présente de surcroît une variabilité génétique.

Cependant, le lien qui existe entre le PMG et la variabilité des masses de grains individuels n'a fait l'objet, à notre connaissance, d'aucune étude approfondie. En d'autres termes, explorer la manière dont les génotypes construisent leurs PMG à partir de distributions de masses de grains individuels variables est nécessaire. S'il existe de la variabilité génétique dans la relation entre le grain moyen (PMG) et la variabilité des masses de grains individuels, cela peut indiquer que le PMG seul ne permet pas d'établir de discrimination fine entre génotypes ni *a fortiori* de comprendre les interactions génotype x environnement potentielles.

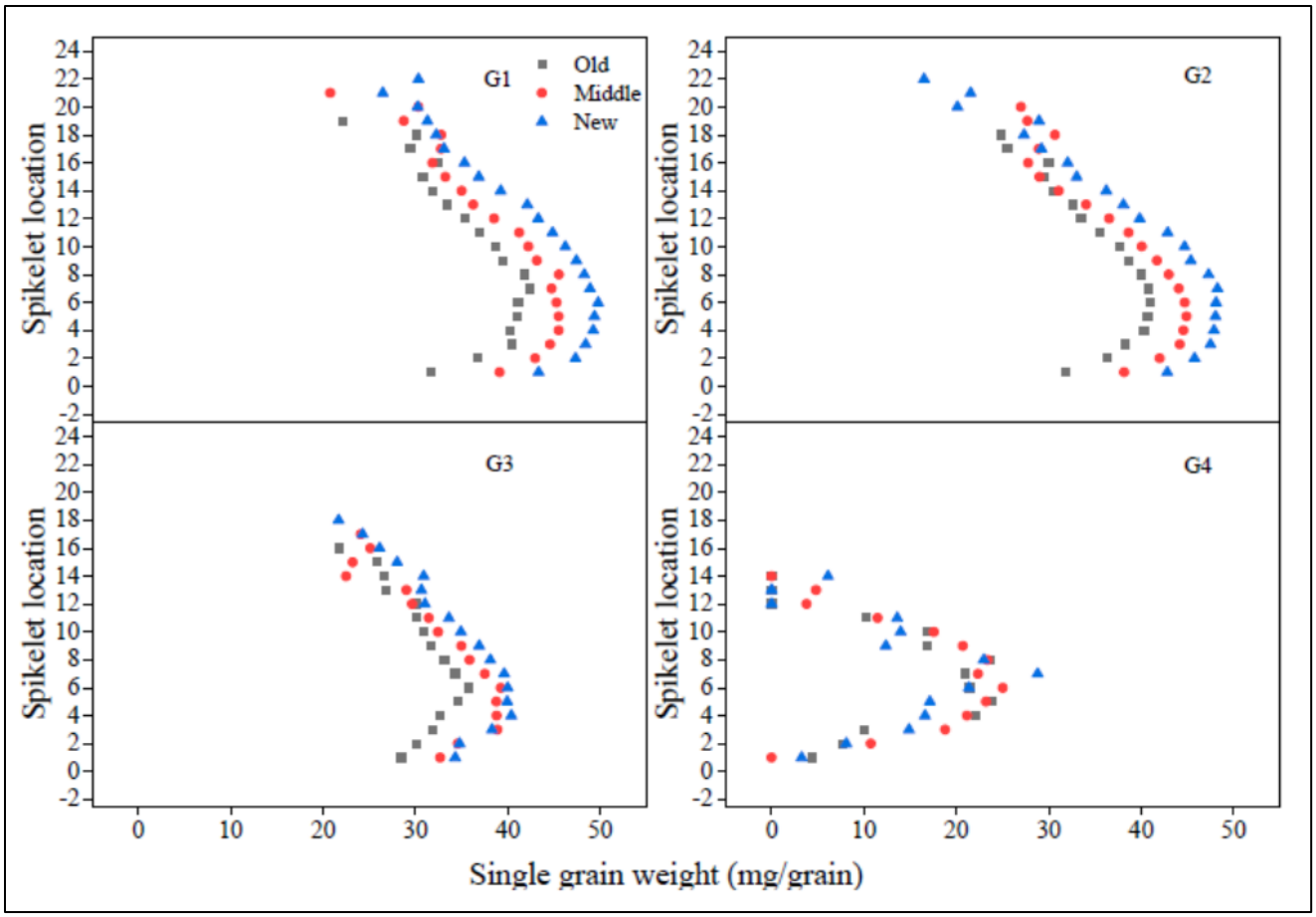


Figure 1-27: Masse moyenne des grains individuels en position 1 (G1, grain le plus proximal), 2 (G2), 3 (G3), 4 (G4) au sein d'un épillet (Figure 1-19) le long d'un épi pour des cultivars inscrits à différentes périodes*. Old : anciens cultivars inscrits entre les années 1940 et 1960 ; Middle : cultivars inscrits entre les années 1970 et 1990 ; New : cultivars modernes inscrits entre les années 2000 et 2010. Les données sont issues de trois ans d'expérimentation. D'après Feng et al., 2019.*

V. Problématique de la thèse et stratégies de travail

Nous avons vu que le PMG est une composante particulièrement impactée en cas de stress abiotiques post-floraison. Par conséquent, dans ces conditions environnementales, viser l'amélioration du rendement via une sélection indirecte pour le PMG peut constituer un levier prometteur.

Pour qu'il soit pertinent de prendre en compte la variabilité intra-génotypique des masses de grains individuels, une variabilité génétique sur le lien entre grain moyen (PMG) - variabilité des masses de grains individuels est indispensable. Dans un premier temps, il est donc nécessaire de vérifier qu'il existe des génotypes présentant des distributions de masses de grains individuels très différentes pour **un même PMG**. S'il existe bien une variabilité génétique sur le lien grain moyen (PMG) - variabilité des masses de grains individuels, est-elle le fruit d'un déterminisme spécifique ou bien le fruit de la mise en place des composantes de rendement élaborée en amont ? L'objectif du chapitre 2 sera de répondre à ces deux questions.

Dans un deuxième temps, mon travail portera sur la démonstration de la valeur ajoutée de la prise en compte explicite des masses individuelles de grains dans notre compréhension de l'élaboration du rendement. Plus précisément, nous avons vu que la compréhension du déterminisme génétique du PMG est difficile car les effets du nombre de grains par m² sur le PMG et l'effet « propre » du PMG sont souvent confondus. En effet, il est généralement admis que l'essentiel de la variabilité génétique du PMG est construite à partir du trade-off entre le nombre de grains par m² et le PMG. Nous verrons dans le chapitre 3 que le cadre d'analyse que je propose permet d'étudier plus finement les bases des différences génotypiques de PMG à l'échelle du grain individuel.

Enfin, le changement d'échelle d'étude, qui propose d'abandonner le grain moyen (PMG) pour aborder explicitement le grain individuel et sa variabilité au sein d'un lot de grains, peut apporter une vision nouvelle sur les effets des stress abiotiques sur les masses finales de grains. Dans l'idée de sélectionner des variétés tolérantes à des stress, nous verrons donc dans le chapitre 4 que le changement d'échelle proposé (du grain moyen au grain individuel) permettra de mieux comprendre les effets d'un stress thermique post-floraison.

VI. Bibliographie

Abbate, P.E., Andrade, F.H., Lázaro, L., Bariffi, J.H., Berardocco, H.G., Inza, V.H., Marturano, F., 1998. Grain Yield Increase in Recent Argentine Wheat Cultivars. Crop Science 38, cropsci1998.0011183X003800050015x. https://doi.org/10.2135/cropsci1998.0011183X003800050015x

Acevedo, E., Silva, P., Silva, H., 2002. GROWTH AND WHEAT PHYSIOLOGY, DEVELOPMENT 47.

Acreche, M.M., Slafer, G.A., 2009. Grain weight, radiation interception and use efficiency as affected by sink-strength in Mediterranean wheats released from 1940 to 2005. Field Crops Research 110, 98–105. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2008.07.006

Acreche, M.M., Slafer, G.A., 2006. Grain weight response to increases in number of grains in wheat in a Mediterranean area. Field Crops Research 98, 52–59. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2005.12.005

Alaoui, A.C.E., Simmons, S.R., Crookston, R.K., 1988. Effects of Tiller Removal on Spring Barley. Crop Sci. 28, 305–307. https://doi.org/10.2135/cropsci1988.0011183X002800020025x

Aparicio, N., Villegas, D., Araus, J.L., Blanco, R., Royo, C., 2002. Seedling development and biomass as affected by seed size and morphology in durum wheat. J. Agric. Sci. 139, 143–150. https://doi.org/10.1017/S0021859602002411

Arora, S., Singh, N., Kaur, S., Bains, N.S., Uauy, C., Poland, J., Chhuneja, P., 2017. Genome-Wide Association Study of Grain Architecture in Wild Wheat Aegilops tauschii. Front. Plant Sci. 8. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00886

Asseng, S., Ewert, F., Martre, P., Rötter, R.P., Lobell, D.B., Cammarano, D., Kimball, B.A., Ottman, M.J., Wall, G.W., White, J.W., Reynolds, M.P., Alderman, P.D., Prasad, P.V.V., Aggarwal, P.K., Anothai, J., Basso, B., Biernath, C., Challinor, A.J., De Sanctis, G., Doltra, J., Fereres, E., Garcia-Vila, M., Gayler, S., Hoogenboom, G., Hunt, L.A., Izaurralde, R.C., Jabloun, M., Jones, C.D., Kersebaum, K.C., Koehler, A.-K., Müller, C., Naresh Kumar, S., Nendel, C., O'Leary, G., Olesen, J.E., Palosuo, T., Priesack, E., Eyshi Rezaei, E., Ruane, A.C., Semenov, M.A., Shcherbak, I., Stöckle, C., Stratonovitch, P., Streck, T., Supit, I., Tao, F., Thorburn, P.J., Waha, K., Wang, E., Wallach, D., Wolf, J., Zhao, Z., Zhu, Y., 2015. Rising temperatures reduce global wheat production. Nature Clim Change 5, 143–147. https://doi.org/10.1038/nclimate2470

Atta, S., Maltese, S., Cousin, R., 2004. Protein content and dry weight of seeds from various pea genotypes. Agronomie 24, 257–266. https://doi.org/10.1051/agro:2004025

Austin, R.B., Bingham, J., Blackwell, R.D., Evans, L.T., Ford, M.A., Morgan, C.L., Taylor, M., 1980. Genetic improvements in winter wheat yields since 1900 and associated physiological changes. J. Agric. Sci. 94, 675–689. https://doi.org/10.1017/S0021859600028665

Austin, R.B., Ford, M.A., Morgan, C.L., 1989. Genetic improvement in the yield of winter wheat: a further evaluation. J. Agric. Sci. 112, 295–301. https://doi.org/10.1017/S0021859600085749

Baillot, N., 2019. 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.

Baillot, N., Girousse, C., Allard, V., Piquet-Pissaloux, A., Le Gouis, J., 2018. Different grain-filling rates explain grain-weight differences along the wheat ear. PLOS ONE 13, e0209597. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209597

Bancal, P., 2009. Early development and enlargement of wheat floret primordia suggest a role of partitioning within spike to grain set. Field Crops Research 110, 44–53. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2008.06.014

Bancal, P., 2008. Positive contribution of stem growth to grain number per spike in wheat. Field Crops Research 105, 27–39. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2007.06.008

Barot, S., Allard, V., Cantarel, A., Enjalbert, J., Gauffreteau, A., Goldringer, I., Lata, J.-C., Le Roux, X., Niboyet, A., Porcher, E., 2017. Designing mixtures of varieties for multifunctional agriculture with the help of ecology. A review. Agron. Sustain. Dev. 37, 13. https://doi.org/10.1007/s13593-017-0418-x

Bartels, D., Sunkar, R., 2005. Drought and Salt Tolerance in Plants. Critical Reviews in Plant Sciences 24, 23–58. https://doi.org/10.1080/07352680590910410

Bednarek, J., Boulaflous, A., Girousse, C., Ravel, C., Tassy, C., Barret, P., Bouzidi, M.F., Mouzeyar, S., 2012. Down-regulation of the TaGW2 gene by RNA interference results in decreased grain size and weight in wheat. J Exp Bot 63, 5945–5955. https://doi.org/10.1093/jxb/ers249

Benincasa, P., Reale, L., Tedeschini, E., Ferri, V., Cerri, M., Ghitarrini, S., Falcinelli, B., Frenguelli, G., Ferranti, F., Ayano, B.E., Porfiri, O., Rosati, 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, 175–182. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2017.05.019

Bertheloot, J., 2009. Nitrogen distribution within wheat plants (Triticum aestivum L.) after flowering: a dynamic model based on a functional-structural approach (PhD Thesis). AgroParisTech.

Biffen, R.H., 1905. Mendel's Laws of Inheritance and Wheat Breeding. The Journal of Agricultural Science 1, 4–48. https://doi.org/10.1017/S0021859600000137

Blum, A., 1986. The Effect of Heat Stress on Wheat Leaf and Ear Photosynthesis. J Exp Bot 37, 111–118. https://doi.org/10.1093/jxb/37.1.111
Blum, A., Ramaiah, S., Kanemasu, E.T., Paulsen, G.M., 1990. Wheat recovery from drought stress at the tillering stage of development. Field Crops Research 24, 67–85. https://doi.org/10.1016/0378-4290(90)90022-4
Bolot, S., Abrouk, M., Masood-Quraishi, U., Stein, N., Messing, J., Feuillet, C., Salse, J., 2009. The 'inner circle' of the cereal genomes. Current Opinion in Plant Biology 12, 119–125. https://doi.org/10.1016/j.pbi.2008.10.011
Borlaug, N.E., 2007. Sixty-two years of fighting hunger: personal recollections. Euphytica 157, 287–297. https://doi.org/10.1007/s10681-007-9480-9
Borrás, L., Slafer, G.A., Otegui, M.E., 2004. Seed dry weight response to source–sink manipulations in wheat, maize and soybean: a quantitative reappraisal. Field Crops Research 86, 131–146. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2003.08.002
Borrill, P., Adamski, N., Uauy, C., 2015a. Genomics as the key to unlocking the polyploid potential of wheat. New Phytologist 208, 1008–1022. https://doi.org/10.1111/nph.13533
Borrill, P., Fahy, B., Smith, A.M., Uauy, C., 2015b. Wheat Grain Filling Is Limited by Grain Filling Capacity rather than the Duration of Flag Leaf Photosynthesis: A Case Study Using NAM RNAi Plants. PLoS ONE 10, e0134947. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134947
Boshnakian, S., 1918. The Mechanical Factors Determining the Shape of the Wheat Kernel. Agron. J. 10, 205–209. https://doi.org/10.2134/agronj1918.00021962001000050003x
Bouaziz, A., Hicks, D.R., 1990. Consumption of wheat seed reserves during germination and early growth as affected by soil water potential. Plant Soil 128, 161–165. https://doi.org/10.1007/BF00011105
Boz, H., Gerçekaslan, K.E., Karaoğlu, M.M., Kotancilar, H.G., 2012. Differences in some physical and chemical properties of wheat grains from different parts within the spike 8.
Bradshaw, A.D., 2006. Unravelling phenotypic plasticity – why should we bother? New Phytologist 170, 644–648. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01761.x
Bremner, P., 1972. Accumulation of Dry Matter and Nitrogen by Grains in Different Positions of the Wheat Ear as Influenced by Shading and Defoliation. Aust. Jnl. Of Bio. Sci. 25, 657. https://doi.org/10.1071/BI9720657
Breseghello, F., Sorrells, M.E., 2007. QTL analysis of kernel size and shape in two hexaploid wheat mapping populations. Field Crops Research 101, 172–179. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2006.11.008
Brinton, J., Simmonds, J., Minter, F., Leverington-Waite, M., Snape, J., Uauy, C., 2017. Increased pericarp cell length underlies a major quantitative trait locus for grain weight in hexaploid wheat. New Phytologist 215, 1026–1038. https://doi.org/10.1111/nph.14624
Brinton, J., Simmonds, J., Uauy, C., 2018. Ubiquitin-related genes are differentially expressed in isogenic lines contrasting for pericarp cell size and grain weight in hexaploid wheat. BMC Plant Biol 18, 22. https://doi.org/10.1186/s12870-018-1241-5
Brinton, J., Uauy, C., 2019. A reductionist approach to dissecting grain weight and yield in wheat. J. Integr. Plant Biol. 61, 337–358. https://doi.org/10.1111/jipb.12741
Brisson, N., Gate, P., Gouache, D., Charmet, G., Oury, F.-X., Huard, F., 2010. Why are wheat yields stagnating in Europe? A comprehensive data analysis for France. Field Crops Research 119, 201–212. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2010.07.012
Brocklehurst P. A., 1977. « Factors Controlling Grain Weight in Wheat ». Nature 266 (5600): 348. https://doi.org/10.1038/266348a0.
Bruinsma, J., 2011. The resources outlook: by how much do land, water and crop yields need to increase by 2050? Looking ahead in world food and agriculture: perspectives to 2050 233–278.
Bulman, P., Mather, D.E., Smith, D.L., 1993. Genetic improvement of spring barley cultivars grown in eastern Canada from 1910 to 1988. Euphytica 71, 35–48. https://doi.org/10.1007/BF00023465
Bustos, D.V., Hasan, A.K., Reynolds, M.P., Calderini, D.F., 2013. Combining high grain number and weight through a DH-population to improve grain yield potential of wheat in high-yielding environments. Field Crops Research 145, 106–115. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2013.01.015
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. The Journal of Agricultural Science 132, 453–459.
Calderini, D.F., Ortiz-Monasterio, I., 2003. Grain Position Affects Grain Macronutrient and Micronutrient Concentrations in Wheat. Crop Science 43, 141–151. https://doi.org/10.2135/cropsci2003.1410
Calderini, D.F., 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 Biol. 27, 183. https://doi.org/10.1071/PP99066
Calderini, D.F., Savin, R., Abeledo, L.G., Reynolds, M.P., Slafer, G.A., 2001. The Importance of the Period Immediately Preceding Anthesis for Grain Weight Determination in Wheat, in: Bedö, Z., Láng, L. (Eds.), Wheat in a Global Environment. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 503–509. https://doi.org/10.1007/978-94-017-3674-9_66

Cantagallo, J.E., Medan, D., Hall, A.J., 2004. Grain number in sunflower as affected by shading during floret growth, anthesis and grain setting. Field Crops Research 85, 191–202. https://doi.org/10.1016/S0378-4290(03)00160-6
Charmet, G., 2011. Wheat domestication: Lessons for the future. Comptes Rendus Biologies 334, 212–220. https://doi.org/10.1016/j.crvi.2010.12.013
Charmet, G., Robert, N., Branlard, G., Linossier, L., Martre, P., Triboï, E., 2005. Genetic analysis of dry matter and nitrogen accumulation and protein composition in wheat kernels. Theor Appl Genet 111, 540–550. 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., Guillon, F., 2018. Ferulate and lignin cross-links increase in cell walls of wheat grain outer layers during late development. Plant Science 276, 199–207. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2018.08.022
Chen, Sun, Zhang, Palta, Deng, 2019. The Proportion of Superior Grains and the Sink Strength are the Main Yield Contributors in Modern Winter Wheat Varieties Grown in the Loess Plateau of China. Agronomy 9, 612. https://doi.org/10.3390/agronomy9100612
Cross, H.Z., 1975. Diallel Analysis of Duration and Rate of Grain Filling of Seven Inbred Lines of Corn 1. Crop Sci. 15, 532–535. https://doi.org/10.2135/cropsci1975.0011183X001500040023x
Davidson, D.J., Chevalier, P.M., 1990. Preanthesis Tiller Mortality in Spring Wheat. Crop Science 30, 832. https://doi.org/10.2135/cropsci1990.0011183X003000040013x
Daynard, T.B., Tanner, J.W., Duncan, W.G., 1971. Duration of the Grain Filling Period and Its Relation to Grain Yield in Corn, Zea mays L. 1. Crop Sci. 11, 45–48. https://doi.org/10.2135/cropsci1971.0011183X001100010015x
Demotes-Mainard, S., Doussinault, G., Meynard, J., 1995. Effects of low radiation and low temperature at meiosis on pollen viability and grain set in wheat. Agronomie 15, 357–365. https://doi.org/10/bdzxc2
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..
Dolferus, R., Ji, X., Richards, R.A., 2011. Abiotic stress and control of grain number in cereals. Plant Science 181, 331–341. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2011.05.015
Dominguez, F., Cejudo, F.J., 1996. Characterization of the Endoproteases Appearing during Wheat Grain Development. Plant Physiol. 112, 1211–1217. https://doi.org/10.1104/pp.112.3.1211
Dong, H., Dumenil, J., Lu, F.-H., Na, L., Vanhaeren, H., Naumann, C., Klecker, M., Prior, R., Smith, C., McKenzie, N., Saalbach, G., Chen, L., Xia, T., Gonzalez, N., Seguela, M., Inzé, D., Dissmeyer, N., Li, Y., Bevan, M.W., 2017. Ubiquitylation activates a peptidase that promotes cleavage and destabilization of its activating E3 ligases and diverse growth regulatory proteins to limit cell proliferation in Arabidopsis. Genes Dev. 31, 197–208. https://doi.org/10.1101/gad.292235.116
Dreccer, M.F., van Herwaarden, A.F., Chapman, S.C., 2009. Grain number and grain weight in wheat lines contrasting for stem water soluble carbohydrate concentration. Field Crops Research 112, 43–54. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2009.02.006
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.
Egli, D.B., Leggett, J.E., Wood, J.M., 1978. Influence of Soybean Seed Size and Position on the Rate and Duration of Filling 1. Agronomy Journal 70, 127–130.
Ehdaie, B., Alloush, G.A., 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, 34–43. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2007.10.012
Elias, A.A., Robbins, K.R., Doerge, R.W., Tuinstra, M.R., 2016. Half a Century of Studying Genotype × Environment Interactions in Plant Breeding Experiments. Crop Science 56, 2090–2105. https://doi.org/10.2135/cropsci2015.01.0061
Engledow, F.L., Wadham, S.M., 1923. Investigations on yield in the cereals. I. J. Agric. Sci. 13, 390–439. https://doi.org/10.1017/S0021859600003828
Evans, J.R., 1989. Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves of Ca plants 11.
Evans, L., Bingham, J., Roskams, M., 1972. The Pattern of Grain Set Within Ears of Wheat. Aust. Jnl. Of Bio. Sci. 25, 1. https://doi.org/10.1071/BI9720001
Evans, L.T., Fischer, R.A., 1999. Yield Potential: Its Definition, Measurement, and Significance. Crop Science 39, 1544–1551. https://doi.org/10.2135/cropsci1999.3961544x
Evenson, R.E., Gollin, D., 2003. Assessing the Impact of the Green Revolution, 1960 to 2000. Science 300, 758–762. https://doi.org/10.1126/science.1078710
Evers, J.B., Vos, J., Chelle, M., Andrieu, B., Fournier, C., Struik, P.C., 2007. Simulating the effects of localized red:far-red ratio on tillering in spring wheat (Triticum aestivum) using a three-dimensional virtual plant model. New Phytologist 176, 325–336. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02168.x

Evers, T., Millar, S., 2002. Cereal Grain Structure and Development: Some Implications for Quality. Journal of Cereal Science 36, 261–284. https://doi.org/10.1006/jcrs.2002.0435
Fabre, D., Siband, P., Dingkuhn, M., 2005. Characterizing stress effects on rice grain development and filling using grain weight and size distribution. Field Crops Research 92, 11–16. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2004.07.024
Farooq, M., Bramley, H., Palta, J.A., Siddique, K.H.M., 2011. Heat Stress in Wheat during Reproductive and Grain-Filling Phases. Critical Reviews in Plant Sciences 30, 491–507. https://doi.org/10.1080/07352689.2011.615687
Farooq, M., Hussain, M., Siddique, K.H.M., 2014. Drought Stress in Wheat during Flowering and Grain-filling Periods. Critical Reviews in Plant Sciences 33, 331–349. https://doi.org/10.1080/07352689.2014.875291
Farré, A., Sayers, L., Leverington-Waite, M., Goram, R., Orford, S., Wingen, L., Mumford, C., Griffiths, S., 2016. Application of a library of near isogenic lines to understand context dependent expression of QTL for grain yield and adaptive traits in bread wheat. BMC Plant Biol 16, 161. https://doi.org/10.1186/s12870-016-0849-6
Feng, F., Dang, P., Pu, X., Wen, X., Qin, X., Chen, Y., H. M. Siddique, K., 2019. Contribution of Proximal and Distal Grains Within Spikelets in Relation to Yield and Yield Components in the Winter Wheat Production Region of China From 1948 to 2012. Agronomy 9, 850. https://doi.org/10.3390/agronomy9120850
Ferrante, A., Cartelle, J., Savin, R., Slafer, G.A., 2017. Yield determination, interplay between major components and yield stability in a traditional and a contemporary wheat across a wide range of environments. Field Crops Research 203, 114–127. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2016.12.028
Ferrante A, Savin R, Slafer GA. 2013a. Floret development and grain setting differences between modern durum wheats under contrasting nitrogen availability. Journal of Experimental Botany 64, 169–184.
Ferrante, A., Savin, R., Slafer, G.A., 2015. Relationship between fruiting efficiency and grain weight in durum wheat. Field Crops Research 177, 109–116. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2015.03.009
Finch-Savage, W.E., Bassel, G.W., 2016. Seed vigour and crop establishment: extending performance beyond adaptation. EXBOTJ 67, 567–591. https://doi.org/10.1093/jxb/erv490
Fischer, R.A., 2008. The importance of grain or kernel number in wheat: A reply to Sinclair and Jamieson. Field Crops Research 105, 15–21. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2007.04.002
Fischer, R.A., 1985. Number of kernels in wheat crops and the influence of solar radiation and temperature. J. Agric. Sci. 105, 447–461. https://doi.org/10.1017/S0021859600056495
Foulkes, M.J., Slafer, G.A., Davies, W.J., Berry, P.M., Sylvester-Bradley, R., Martre, P., Calderini, D.F., Griffiths, S., Reynolds, M.P., 2011. Raising yield potential of wheat. III. Optimizing partitioning to grain while maintaining lodging resistance. Journal of Experimental Botany 62, 469–486. https://doi.org/10.1093/jxb/erq300
Fussell, L.K., Pearson, C.J., 1978. Course of grain development and its relationship to black region appearance in Pennisetum americanum. Field Crops Research 1, 21–31. https://doi.org/10.1016/0378-4290(78)90004-7
Gambin, B.L., Borras, L., 2010. Resource distribution and the trade-off between seed number and seed weight: a comparison across crop species. Annals of Applied Biology 156, 91–102. https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2009.00367.x
Gambín, B.L., Borrás, L., Otegui, M.E., 2007. Is maize kernel size limited by its capacity to expand? 13.
Garcia, A.L., Savin, R., Slafer, G.A., 2019. Fruiting efficiency differences between cereal species. Field Crops Research 231, 68–80. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2018.11.005
Gebeyehou, G., Knott, D.R., Baker, R.J., 1982. Rate and Duration of Grain Filling in Durum Wheat Cultivars 1. Crop Sci. 22, 337–340. https://doi.org/10.2135/cropsci1982.0011183X002200020033x
Gegas, V.C., Nazari, A., Griffiths, S., Simmonds, J., Fish, L., Orford, S., Sayers, L., Doonan, J.H., Snape, J.W., 2010. A Genetic Framework for Grain Size and Shape Variation in Wheat. The Plant Cell 22, 1046–1056. https://doi.org/10.1105/tpc.110.074153
Ghiglione, H.O., Gonzalez, F.G., Serrago, R., Maldonado, S.B., Chilcott, C., Curá, J.A., Miralles, D.J., Zhu, T., Casal, J.J., 2008. Autophagy regulated by day length determines the number of fertile florets in wheat. The Plant Journal 55, 1010–1024. https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03570.x
Golan, G., Ayalon, I., Perry, A., Zimran, G., Ade-Ajayi, T., Mosquna, A., Distelfeld, A., Peleg, Z., 2019. GNI-A1 mediates trade-off between grain number and grain weight in tetraploid wheat. Theor Appl Genet 132, 2353–2365. https://doi.org/10.1007/s00122-019-03358-5
Golan, G., Oksenberg, A., Peleg, Z., 2015. Genetic evidence for differential selection of grain and embryo weight during wheat evolution under domestication. EXBOTJ 66, 5703–5711. https://doi.org/10.1093/jxb/erv249
González, F.G., Miralles, D.J., Slafer, G.A., 2011. Wheat floret survival as related to pre-anthesis spike growth. Journal of Experimental Botany 62, 4889–4901. https://doi.org/10.1093/jxb/err182
González, F.G., Slafer, G.A., Miralles, D.J., 2005. Floret development and survival in wheat plants exposed to contrasting photoperiod and radiation environments during stem elongation. Functional Plant Biol. 32, 189. https://doi.org/10.1071/FP04104
Griffiths, S., Wingen, L., Pietragalla, J., Garcia, G., Hasan, A., Miralles, D., Calderini, D.F., Ankleshwaria, J.B., Waite, M.L., Simmonds, J., Snape, J., Reynolds, M., 2015. Genetic Dissection of Grain Size and Grain Number

Trade-Offs in CIMMYT Wheat Germplasm. PLOS ONE 10, e0118847. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118847
Gu, J., Marshall, C., 1988. The effect of tiller removal and tiller defoliation on competition between the main shoot and tillers of spring barley. Ann Applied Biology 112, 597–608. https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1988.tb02096.x
Guo, Z., Chen, D., Alqudah, A.M., Röder, M.S., Ganal, M.W., Schnurbusch, T., 2017. Genome-wide association analyses of 54 traits identified multiple loci for the determination of floret fertility in wheat. New Phytologist 214, 257–270. https://doi.org/10.1111/nph.14342
Guo, Z., Chen, D., Schnurbusch, T., 2015. Variance components, heritability and correlation analysis of anther and ovary size during the floral development of bread wheat. Journal of Experimental Botany 66, 3099–3111. https://doi.org/10.1093/jxb/erv117
Guo, Z., Schnurbusch, T., 2015. Variation of floret fertility in hexaploid wheat revealed by tiller removal. Journal of Experimental Botany 66, 5945–5958. https://doi.org/10.1093/jxb/erv303
Guo, Z., Slafer, G.A., Schnurbusch, T., 2016. Genotypic variation in spike fertility traits and ovary size as determinants of floret and grain survival rate in wheat. Journal of Experimental Botany 67, 4221–4230. https://doi.org/10.1093/jxb/erw200
Gupta, P.K., Rustgi, S., Kumar, N., 2006. Genetic and molecular basis of grain size and grain number and its relevance to grain productivity in higher plants. Genome 49, 565–571. https://doi.org/10.1139/g06-063
Hamant, O., 2020. Plant scientists can't ignore Jevons paradox anymore. Nat. Plants 6, 720–722. https://doi.org/10.1038/s41477-020-0722-3
Hanif, M., Langer, R.H.M., 1972. The vascular system of the spikelet in wheat (Triticum aestivum). Annals of Botany 36, 721–727.
Hasan, A.K., Herrera, J., Lizana, C., 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, 241–247. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2011.05.019
H. Hayase, T. Satake, I. Nishiyama, N. Ito, Male sterility caused by cooling treatment at the meiotic stage in rice plants, II. The most sensitive stage to cooling and the fertilising ability of pistils, Proc. Crop Sci. Soc. Jpn. 38 (1969) 706–711.
Herzog, H., Stamp, P., 1983. Dry matter and nitrogen accumulation in grains at different ear positions in ?gigas?, semidwarf and normal spring wheats. Euphytica 32, 511–520. https://doi.org/10.1007/BF00021463
Huang, X.Q., Cöster, H., Ganal, M.W., Röder, M.S., 2003. Advanced backcross QTL analysis for the identification of quantitative trait loci alleles from wild relatives of wheat (Triticum aestivum L.). Theor Appl Genet 106, 1379–1389. https://doi.org/10.1007/s00122-002-1179-7
Huang, Y., Kong, Z., Wu, X., Cheng, R., Yu, D., Ma, Z., 2015. Characterization of three wheat grain weight QTLs that differentially affect kernel dimensions. Theor Appl Genet 128, 2437–2445. https://doi.org/10.1007/s00122-015-2598-6
IPCC, 2019. Climate Change and Land An IPCC Special Report on climate change, desertification, land degradation, sustainable land management, food security, and greenhouse gas fluxes in terrestrial ecosystems.
Ji, X., Shiran, B., Wan, J., Lewis, D.C., Jenkins, C.L.D., Condon, A.G., Richards, R.A., Dolferus, R., 2010. Importance of pre-anthesis anther sink strength for maintenance of grain number during reproductive stage water stress in wheat: Reproductive stage drought tolerance in wheat. Plant, Cell & Environment 33, 926–942. https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2010.02130.x
Johansson, E., Oscarson, P., Heneen, W.K., Lundborg, T., 1994. Differences in accumulation of storage proteins between wheat cultivars during development. J. Sci. Food Agric. 64, 305–313. https://doi.org/10.1002/jsfa.2740640310
Jones, D.B., Peterson, M.L., Geng, S., 1979. Association Between Grain Filling Rate and Duration and Yield Components in Rice 1. Crop Sci. 19, 641–644. https://doi.org/10.2135/cropsci1979.0011183X001900050023x
Kemp, D., Whingwiri, E., 1980. Effect of Tiller Removal and Shading on Spikelet Development and Yield Components of the Main Shoot of Wheat and on the Sugar Concentration of the Ear and Flag Leaf. Functional Plant Biol. 7, 501. https://doi.org/10.1071/PP9800501
Kirby, E.J.M., 1988. Analysis of leaf, stem and ear growth in wheat from terminal spikelet stage to anthesis. Field Crops Research 18, 127–140. https://doi.org/10.1016/0378-4290(88)90004-4
Kirby, E.J.M., Appleyard, M., Fellowes, G., 1985. Leaf emergence and tillering in barley and wheat. Agronomie 5, 193–200. https://doi.org/10.1051/agro:19850301
Kirby, E.J.M., Appleyard, M., Simpson, N.A., 1994. Co-ordination of stem elongation and Zadoks growth stages with leaf emergence in wheat and barley. J. Agric. Sci. 122, 21–29. https://doi.org/10.1017/S0021859600065746
Kirby, E.J.M., Rymer, J.L., 1974. Development of the Vascular System in the Ear of Barley. Annals of Botany 38, 565–573. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a084842
Kumar, A., Mantovani, E.E., Seetan, R., Soltani, A., Echeverry-Solarte, M., Jain, S., Simsek, S., Doehlert, D., Alamri, M.S., Elias, E.M., Kianian, S.F., Mergoum, M., 2016. Dissection of Genetic Factors underlying Wheat

Kernel Shape and Size in an Elite × Nonadapted Cross using a High Density SNP Linkage Map. The Plant Genome 9, 0. https://doi.org/10.3835/plantgenome2015.09.0081
Lafond, G.P., Baker, R.J., 1986. Effects of Genotype and Seed Size on Speed of Emergence and Seedling Vigor in Nine Spring Wheat Cultivars1. Crop Science 26, 341. https://doi.org/10.2135/cropsci1986.0011183X002600020027x
Laperche, A., Devienne-Barret, F., Maury, O., Le Gouis, J., Ney, B., 2006. A simplified conceptual model of carbon/nitrogen functioning for QTL analysis of winter wheat adaptation to nitrogen deficiency. Theor Appl Genet 113, 1131–1146. https://doi.org/10.1007/s00122-006-0373-4
Laudencia-Chingcuanco, D.L., Stamova, B.S., You, F.M., Lazo, G.R., Beckles, D.M., Anderson, O.D., 2007. Transcriptional profiling of wheat caryopsis development using cDNA microarrays. Plant Mol Biol 63, 651–668. https://doi.org/10.1007/s11103-006-9114-y
Ledesma-Ramírez, L., Solís-Moya, E., Iturriaga, G., Sehgal, D., Reyes-Valdes, M.H., Montero-Tavera, V., Sansaloni, C.P., Burgueño, J., Ortiz, C., Aguirre-Mancilla, C.L., Ramírez-Pimentel, J.G., Vikram, P., Singh, S., 2019. GWAS to Identify Genetic Loci for Resistance to Yellow Rust in Wheat Pre-Breeding Lines Derived From Diverse Exotic Crosses. Front. Plant Sci. 10. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01390
Leišová-Svobodová, L., Chrpová, J., Hermuth, J., Dotlačil, L., 2020. Quo vadis wheat breeding: a case study in Central Europe. Euphytica 216, 141. https://doi.org/10.1007/s10681-020-02670-2
Li, Q., Li, L., Yang, X., Warburton, M.L., Bai, G., Dai, J., Li, J., Yan, J., 2010. Relationship, evolutionary fate and function of two maize co-orthologs of rice GW2associated with kernel size and weight. BMC Plant Biol 10, 143. https://doi.org/10.1186/1471-2229-10-143
Li, Y., Cui, Z., Ni, Y., Zheng, M., Yang, D., Jin, M., Chen, J., Wang, Z., 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, e0155351. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155351
Liu, B., Asseng, S., Liu, L., Tang, L., Cao, W., Zhu, Y., 2016. Testing the responses of four wheat crop models to heat stress at anthesis and grain filling. Global Change Biology 22, 1890–1903. https://doi.org/10.1111/gcb.13212
Liu, J., Tang, H., Qu, X., Liu, H., Li, C., Tu, Y., Li, S., Habib, A., Mu, Y., Dai, S., Deng, M., Jiang, Q., Liu, Y., Chen, Guoyue, Wang, J., Chen, Guangdeng, Li, W., Jiang, Y., Wei, Y., Lan, X., Zheng, Y., Ma, J., 2020. A novel, major, and validated QTL for the effective tiller number located on chromosome arm 1BL in bread wheat. Plant Mol Biol. https://doi.org/10.1007/s11103-020-01035-6
Liu, Y., Gu, D., Wu, W., Wen, X., Liao, Y., 2013. The Relationship between Polyamines and Hormones in the Regulation of Wheat Grain Filling. PLoS ONE 8, e78196. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0078196
Liu, Y., Hou, J., Wang, X., Li, T., Majeed, U., Hao, C., Zhang, X., 2020. The NAC transcription factor NAC019-A1 is a negative regulator of starch synthesis in wheat developing endosperm. J Exp Bot. https://doi.org/10.1093/jxb/eraa333
Lo Valvo, P.J., Miralles, D.J., Serrago, R.A., 2018. Genetic progress in Argentine bread wheat varieties released between 1918 and 2011: Changes in physiological and numerical yield components. Field Crops Research 221, 314–321. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2017.08.014
Lu, H., Hu, Y., Wang, C., Liu, W., Ma, G., Han, Q., Ma, D., 2019. Effects of High Temperature and Drought Stress on the Expression of Gene Encoding Enzymes and the Activity of Key Enzymes Involved in Starch Biosynthesis in Wheat Grains. Frontiers in Plant Science 10. https://doi.org/10/ghcd38
Makino, A., 2011. Photosynthesis, Grain Yield, and Nitrogen Utilization in Rice and Wheat. Plant Physiol. 155, 125–129. https://doi.org/10.1104/pp.110.165076
Malézieux, E., Crozat, Y., Dupraz, C., Laurans, M., Makowski, D., Ozier-Lafontaine, H., Rapidel, B., de Tourdonnet, S., Valantin-Morison, M., 2009. Mixing Plant Species in Cropping Systems: Concepts, Tools and Models: A Review, in: Lichtfouse, E., Navarrete, M., Debaeke, P., Véronique, S., Alberola, C. (Eds.), Sustainable Agriculture. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 329–353. https://doi.org/10.1007/978-90-481-2666-8_22
Masle-Meynard, J., 1982. Elaboration du nombre d'épis d'un peuplement de blé d'hiver en situation de compétition pour l'azote II. Modélisation du nombre d'épis. Agronomie 2, 17–24. https://doi.org/10.1051/agro:19820103
McCulloh, K.A., Sperry, J.S., Adler, F.R., 2003. Water transport in plants obeys Murray's law. Nature 421, 939–942. https://doi.org/10.1038/nature01444
Mecham, D.K., Fullington, J.G., Greene, F.C., 1981. Gliadin proteins in the developing wheat seed. J. Sci. Food Agric. 32, 773–780. https://doi.org/10.1002/jsfa.2740320805
Midmore, D.J., Cartwright, P.M., Fischer, R.A., 1984. Wheat in tropical environments. II. Crop growth and grain yield. Field Crops Research 8, 207–227. https://doi.org/10.1016/0378-4290(84)90064-9
Millet, E., Pinthus, M.J., 1984. The association between grain volume and grain weight in wheat. Journal of Cereal Science 2, 31–35. https://doi.org/10.1016/S0733-5210(84)80005-3
Millet, Eitan, Pinthus, M.J., 1984. Effects of Removing Floral Organs, Light Penetration and Physical Constraint on the Development of Wheat Grains*. Annals of Botany 53, 261–270. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a086687

Miralles, D.J., Katz, S.D., Colloca, A., Slafer, G.A., 1998. Floret development in near isogenic wheat lines differing in plant height. Field Crops Research 59, 21–30. https://doi.org/10.1016/S0378-4290(98)00103-8
Miralles, D.J., 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, 55–66. https://doi.org/10.1016/0378-4290(95)00041-N
Mitchell, J., Johnston, I.G., Bassel, G.W., 2016. Variability in seeds: biological, ecological, and agricultural implications. EXBOTJ erw397. https://doi.org/10.1093/jxb/erw397
Moeller, C., Evers, J.B., Rebetzke, G., 2014. Canopy architectural and physiological characterization of near-isogenic wheat lines differing in the tiller inhibition gene tin. Front. Plant Sci. 5. https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00617
Mohamed, G.B.S., Marshall, C., 1979. Physiological aspects of tiller removal in spring wheat. J. Agric. Sci. 93, 457–463. https://doi.org/10.1017/S0021859600038156
Murray, C.D., 1926. THE PHYSIOLOGICAL PRINCIPLE OF MINIMUMI WORK. I. THE VASCULAR SYSTEM AND THFE COST OF BLOOD VOLUME 12, 8.
Nadaud, I., Girousse, C., Debiton, C., Chambon, C., Bouzidi, M.F., Martre, P., Branlard, G., 2010. Proteomic and morphological analysis of early stages of wheat grain development. Proteomics 10, 2901–2910. https://doi.org/10.1002/pmic.200900792
Nicolas, M.E., Gleadow, R.M., Dalling, M.J., 1985. Effect of Post-anthesis Drought on Cell Division and Starch Accumulation in Developing Wheat Grains. Ann Bot 55, 433–444. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a086922
O'Brien, T.P., Sammut, M.E., Lee, J.W., Smart, M.G., 1985. The vascular system of the wheat spikelet. Functional Plant Biology 12, 487–511.
Oliver, S.N., Van Dongen, J.T., Alfred, S.C., Mamun, E.A., Zhao, X., Saini, H.S., Fernandes, S.F., Blanchard, C.L., Sutton, B.G., Geigenberger, P., Dennis, E.S., Dolferus, R., 2005. Cold-induced repression of the rice anther-specific cell wall invertase gene OSINV4 is correlated with sucrose accumulation and pollen sterility. Plant Cell Environ 28, 1534–1551. https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2005.01390.x
Oosterhuis, D.M., Cartwright, P.M., 1983. Spike Differentiation and Floret Survival in Semidwarf Spring Wheat as Affected by Water Stress and Photoperiod1. Crop Science 23, 711. https://doi.org/10.2135/cropsci1983.0011183X002300040026x
Parry, M.A.J., Reynolds, M., Salvucci, M.E., Raines, C., Andralojc, P.J., Zhu, X.-G., Price, G.D., Condon, A.G., Furbank, R.T., 2011. Raising yield potential of wheat. II. Increasing photosynthetic capacity and efficiency. J Exp Bot 62, 453–467. https://doi.org/10.1093/jxb/erq304
Pellny, T.K., Lovegrove, A., Freeman, J., Tosi, P., Love, C.G., Knox, J.P., Shewry, P.R., Mitchell, R.A.C., 2012. Cell Walls of Developing Wheat Starchy Endosperm: Comparison of Composition and RNA-Seq Transcriptome. Plant Physiology 158, 612–627. https://doi.org/10.1104/pp.111.189191
Pereira, M.L., Sadras, V.O., TraÂpani, N., 1999. Genetic improvement of sun¯ower in Argentina between 1930 and 1995. I. Yield and its components. Field Crops Research 10.
Pessarakli, M., Huber, J.T., 1991. Biomass production and protein synthesis by alfalfa under salt stress. Journal of Plant Nutrition 14, 283–293. https://doi.org/10.1080/01904169109364202
Philipp, N., Weichert, H., Bohra, U., Weschke, W., Schulthess, A.W., 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, e0205452. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205452
Phipps, R.H., Park, J.R., 2002. Environmental benefits of genetically modified crops: Global and European perspectives on their ability to reduce pesticide use. J. Anim. Feed Sci. 11, 1–18. https://doi.org/10.22358/jafs/67788/2002
Pradhan, G.P., Prasad, P.V.V., Fritz, A.K., Kirkham, M.B., Gill, B.S., 2012. Effects of drought and high temperature stress on synthetic hexaploid wheat. Functional Plant Biol. 39, 190. https://doi.org/10.1071/FP11245
Pradhan, S., Babar, M.A., Robbins, K., Bai, G., Mason, R.E., Khan, J., Shahi, D., Avci, M., Guo, J., Maksud Hossain, M., Bhatta, M., Mergoum, M., Asseng, S., Amand, P.St., Gezan, S., Baik, B.-K., Blount, A., Bernardo, A., 2019. Understanding the Genetic Basis of Spike Fertility to Improve Grain Number, Harvest Index, and Grain Yield in Wheat Under High Temperature Stress Environments. Front. Plant Sci. 10, 1481. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01481
Price, C.A., Knox, S.-J.C., Brodribb, T.J., 2013. The Influence of Branch Order on Optimal Leaf Vein Geometries: Murray's Law and Area Preserving Branching. PLoS ONE 8, e85420. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085420
Quintero, A., Molero, G., Reynolds, M.P., Calderini, D.F., 2018. Trade-off between grain weight and grain number in wheat depends on GxE interaction: A case study of an elite CIMMYT panel (CIMCOG). European Journal of Agronomy 92, 17–29. https://doi.org/10.1016/j.eja.2017.09.007
Rawson, H., Evans, L., 1970. The Pattern of Grain Growth within the Ear of Wheat. Aust. Jnl. Of Bio. Sci. 23, 753. https://doi.org/10.1071/BI9700753

Rawson, H., Ruwali, K., 1972. Ear branching as a means of increasing grain uniformity in wheat. Aust. J. Agric. Res. 23, 551. 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, G., Ferranti, F., Benincasa, P., 2017. Ovary Size in Wheat (L.) is Related to Cell Number. Crop Science 57, 914. https://doi.org/10.2135/cropsci2016.06.0511

Reynolds, M., Foulkes, J., Furbank, R., Griffiths, S., King, J., Murchie, E., Parry, M., Slafer, G., 2012. Achieving yield gains in wheat: Achieving yield gains in wheat. Plant, Cell & Environment 35, 1799–1823. https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2012.02588.x

Reynolds, M.P., Borlaug, N.E., 2006. Impacts of breeding on international collaborative wheat improvement. J. Agric. Sci. 144, 3–17. https://doi.org/10.1017/S0021859606005867

Reynolds, M.P., Rajaram, S., Sayre, K.D., 1999. Physiological and Genetic Changes of Irrigated Wheat in the Post–Green Revolution Period and Approaches for Meeting Projected Global Demand. Crop Science 39, 1611–1621. https://doi.org/10.2135/cropsci1999.3961611x

Rivera-Amado, C., Trujillo-Negrellos, E., Molero, G., Reynolds, M.P., Sylvester-Bradley, R., Foulkes, M.J., 2019. Optimizing dry-matter partitioning for increased spike growth, grain number and harvest index in spring wheat. Field Crops Research 240, 154–167. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2019.04.016

Röder, M.S., Huang, X.-Q., Börner, A., 2008. Fine mapping of the region on wheat chromosome 7D controlling grain weight. Funct Integr Genomics 8, 79–86. https://doi.org/10.1007/s10142-007-0053-8

Rondanini, D.P., Mantese, A.I., Savin, R., 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, 53–62. https://doi.org/10.1016/j.eja.2008.07.002

Rustgi, S., Shafqat, M.N., Kumar, N., Baenziger, P.S., Ali, M.L., Dweikat, I., Campbell, B.T., Gill, K.S., 2013. Genetic Dissection of Yield and Its Component Traits Using High-Density Composite Map of Wheat Chromosome 3A: Bridging Gaps between QTLs and Underlying Genes. PLOS ONE 8, e70526. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070526

Sabelli, P.A., Larkins, B.A., 2009. The Development of Endosperm in Grasses. Plant Physiol. 149, 14–26. https://doi.org/10.1104/pp.108.129437

Sadras, V.O., 2007. Evolutionary aspects of the trade-off between seed size and number in crops. Field Crops Research 100, 125–138. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2006.07.004

Saeki, Y., Tuda, M., Crowley, P.H., 2014. Allocation tradeoffs and life histories: a conceptual and graphical framework. Oikos 123, 786–793. https://doi.org/10.1111/oik.00956

Sakuma, S., Golan, G., Guo, Z., Ogawa, T., Tagiri, A., Sugimoto, K., Bernhardt, N., Brassac, J., Mascher, M., Hensel, G., Ohnishi, S., Jinno, H., Yamashita, Y., Ayalon, I., Peleg, Z., Schnurbusch, T., Komatsuda, T., 2019. Unleashing floret fertility in wheat through the mutation of a homeobox gene. Proceedings of the National Academy of Sciences 201815465. https://doi.org/10.1073/pnas.1815465116

Sayre, K.D., Rajaram, S., Fischer, R.A., 1997. Yield Potential Progress in Short Bread Wheats in Northwest Mexico. Crop Sci. 37, 36–42. https://doi.org/10.2135/cropsci1997.0011183X003700010006x

Scott, W.R., Appleyard, M., Fellowes, G., 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. J. Agric. Sci. 100, 383–391. https://doi.org/10.1017/S0021859600033530

Sekhar, S., Panda, B.B., Mohapatra, T., Das, K., Shaw, B.P., Kariali, E., Mohapatra, P.K., 2015. Spikelet specific variation in ethylene production and constitutive expression of ethylene receptors and signal transducers during grain filling of compact- and lax-panicle rice (Oryza sativa) cultivars. Journal of Plant Physiology 179, 21–34. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2015.03.003

Seki, M., Feugier, F.G., Song, X.-J., Ashikari, M., Nakamura, H., Ishiyama, K., Yamaya, T., Inari-Ikeda, M., Kitano, H., Satake, A., 2015. A Mathematical Model of Phloem Sucrose Transport as a New Tool for Designing Rice Panicle Structure for High Grain Yield. Plant and Cell Physiology 56, 605–619. https://doi.org/10.1093/pcp/pcu191

Semenov, M.A., 2009. Impacts of climate change on wheat in England and Wales. Journal of The Royal Society Interface 6, 343–350. https://doi.org/10.1098/rsif.2008.0285

Semenov, M.A., 2007. Development of high-resolution UKCIP02-based climate change scenarios in the UK. Agricultural and Forest Meteorology 144, 127–138. https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2007.02.003

Semenov, M.A., Shewry, P.R., 2011. Modelling predicts that heat stress, not drought, will increase vulnerability of wheat in Europe. Sci Rep 1, 66. https://doi.org/10.1038/srep00066

Serrago, R.A., Alzueta, I., Savin, R., Slafer, G.A., 2013. Understanding grain yield responses to source–sink ratios during grain filling in wheat and barley under contrasting environments. Field Crops Research 150, 42–51. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2013.05.016

Serrago, R.A., Miralles, D.J., Slafer, G.A., 2008. Floret fertility in wheat as affected by photoperiod during stem elongation and removal of spikelets at booting. European Journal of Agronomy 28, 301–308. https://doi.org/10.1016/j.eja.2007.08.004

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.
Sharma, R.C., Duveiller, E., 2003. Selection Index for Improving Helminthosporium Leaf Blight Resistance, Maturity, and Kernel Weight in Spring Wheat. Crop Science 43, 2031–2036. https://doi.org/10.2135/cropsci2003.2031
Sharma, R.C., Duveiller, E., Gyawali, S., Shrestha, S.M., Chaudhary, N.K., Bhatta, M.R., 2004. Resistance to Helminthosporium leaf blight and agronomic performance of spring wheat genotypes of diverse origins. Euphytica 139, 33–44. https://doi.org/10.1007/s10681-004-2292-2
Sharma, R.C., Tiwary, A.K., Ortiz-Ferrara, G., 2008. Reduction in kernel weight as a potential indirect selection criterion for wheat grain yield under terminal heat stress. Plant Breeding 127, 241–248. https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2007.01460.x
Shearman, V.J., Sylvester-Bradley, R., Scott, R.K., Foulkes, M.J., 2005. Physiological Processes Associated with Wheat Yield Progress in the UK. CROP SCIENCE 45, 12.
Shewry, P.R., 2009. Wheat. Journal of Experimental Botany 60, 1537–1553. 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., Mills, E.N.C., Ward, J.L., 2012. An integrated study of grain development of wheat (cv. Hereward). Journal of Cereal Science 56, 21–30. https://doi.org/10.1016/j.jcs.2011.11.007
Shewry, P.R., Underwood, C., Wan, Y., Lovegrove, A., Bhandari, D., Toole, G., Mills, E.N.C., Denyer, K., Mitchell, R.A.C., 2009. Storage product synthesis and accumulation in developing grains of wheat. Journal of Cereal Science 50, 106–112. https://doi.org/10.1016/j.jcs.2009.03.009
Sibony, M., Pinthus, M.J., 1988. Floret Initiation and Development in Spring Wheat (Triticum aestivum L.). Annals of Botany 61, 473–479. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a087578
Siddique, K., Belford, R., Perry, M., Tennant, D., 1989. Growth, development and light interception of old and modern wheat cultivars in a Mediterranean-type environment. Aust. J. Agric. Res. 40, 473. https://doi.org/10.1071/AR9890473
Siddique, K.H.M., Kirby, E.J.M., Perry, M.W., 1989. Ear: Stem ratio in old and modern wheat varieties; relationship with improvement in number of grains per ear and yield. Field Crops Research 21, 59–78. https://doi.org/10.1016/0378-4290(89)90041-5
Sidwell, R.J., Smith, E.L., McNew, R.W., 1976. Inheritance and Interrelationships of Grain Yield and Selected Yield-Related Traits in a Hard Red Winter Wheat Cross1. Crop Science 16, cropsci1976.0011183X001600050013x. https://doi.org/10.2135/cropsci1976.0011183X001600050013x
Simmonds, J., Scott, P., Brinton, J., Mestre, T.C., Bush, M., del Blanco, A., Dubcovsky, J., Uauy, C., 2016. A splice acceptor site mutation in TaGW2-A1 increases thousand grain weight in tetraploid and hexaploid wheat through wider and longer grains. Theor Appl Genet 129, 1099–1112. https://doi.org/10.1007/s00122-016-2686-2
Simmonds, J., Scott, P., Leverington-Waite, M., Turner, A.S., Brinton, J., Korzun, V., Snape, J., Uauy, C., 2014. Identification and independent validation of a stable yield and thousand grain weight QTL on chromosome 6A of hexaploid wheat (Triticum aestivum L.). BMC Plant Biol 14, 191. https://doi.org/10.1186/s12870-014-0191-9
Simmons, S.R., Crookston, R.K., 1979. Rate and Duration of Growth of Kernels Formed at Specific Florets in Spikelets of Spring Wheat1. Crop Science 19, 690. https://doi.org/10.2135/cropsci1979.0011183X001900050036x
Sinclair, T.R., Jamieson, P.D., 2008. Yield and grain number of wheat: A correlation or causal relationship?: Authors' response to "The importance of grain or kernel number in wheat: A reply to Sinclair and Jamieson" by R.A. Fischer. Field Crops Research 105, 22–26. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2007.07.003
Slafer, G.A., Andrade, F.H., 1993. Physiological attributes related to the generation of grain yield in bread wheat cultivars released at different eras. Field Crops Research 31, 351–367. https://doi.org/10.1016/0378-4290(93)90073-V
Slafer, G.A., Andrade, F.H., 1991. Changes in physiological attributes of the dry matter economy of bread wheat (Triticum aestivum) through genetic improvement of grain yield potential at different regions of the world. Euphytica 58, 37–49. https://doi.org/10.1007/BF00035338
Slafer, G.A., Elia, M., Savin, R., García, G.A., Terrile, I.I., Ferrante, A., Miralles, D.J., González, F.G., 2015. Fruiting efficiency: an alternative trait to further rise wheat yield. Food Energy Secur 4, 92–109. https://doi.org/10.1002/fes3.59
Slafer, G.A., 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. J Agron Crop Sci 168, 191–200. https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.1992.tb00998.x
Slafer, G.A., Savin, R., Sadras, V.O., 2014. Coarse and fine regulation of wheat yield components in response to genotype and environment. Field Crops Research 157, 71–83. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2013.12.004
Sofield, I., Evans, L., Cook, M., Wardlaw, I., 1977. Factors Influencing the Rate and Duration of Grain Filling in Wheat. Functional Plant Biol. 4, 785. https://doi.org/10.1071/PP9770785

Song, X.-J., Huang, W., Shi, M., Zhu, M.-Z., Lin, H.-X., 2007. A QTL for rice grain width and weight encodes a previously unknown RING-type E3 ubiquitin ligase. Nat Genet 39, 623–630. https://doi.org/10.1038/ng2014
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. jpa 2, 169. https://doi.org/10.2134/jpa1989.0169
Sreenivasulu, N., Schnurbusch, T., 2012. A genetic playground for enhancing grain number in cereals. Trends in Plant Science 17, 91–101. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2011.11.003
Sun, X.-Y., Wu, K., Zhao, Y., Kong, F.-M., Han, G.-Z., Jiang, H.-M., Huang, X.-J., Li, R.-J., Wang, H.-G., Li, S.-S., 2008. QTL analysis of kernel shape and weight using recombinant inbred lines in wheat. Euphytica 165, 615. https://doi.org/10.1007/s10681-008-9794-2
Tashiro, T, Wardlaw, I., 1990. The Response to High Temperature Shock and Humidity Changes Prior to and During the Early Stages of Grain Development in Wheat. Functional Plant Biol. 17, 551. https://doi.org/10.1071/PP9900551
Tashiro, Toro, 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, 51–61.
Teixeira, E.I., Fischer, G., van Velthuizen, H., Walter, C., Ewert, F., 2013. Global hot-spots of heat stress on agricultural crops due to climate change. Agricultural and Forest Meteorology, Agricultural prediction using climate model ensembles 170, 206–215. https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2011.09.002
Terrile, I.I., Miralles, D.J., González, F.G., 2017. Fruiting efficiency in wheat (Triticum aestivum L): Trait response to different growing conditions and its relation to spike dry weight at anthesis and grain weight at harvest. Field Crops Research 201, 86–96. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2016.09.026
The International Wheat Genome Sequencing Consortium (IWGSC), Appels, R., Eversole, K., Stein, N., Feuillet, C., Keller, B., Rogers, J., Pozniak, C.J., Choulet, F., Distelfeld, A., Poland, J., Ronen, G., Sharpe, A.G., Barad, O., Baruch, K., Keeble-Gagnère, G., Mascher, M., Ben-Zvi, G., Josselin, A.-A., Himmelbach, A., Balfourier, F., Gutierrez-Gonzalez, J., Hayden, M., Koh, C., Muehlbauer, G., Pasam, R.K., Paux, E., Rigault, P., Tibbits, J., Tiwari, V., Spannagl, M., Lang, D., Gundlach, H., Haberer, G., Mayer, K.F.X., Ormanbekova, D., Prade, V., Šimková, H., Wicker, T., Swarbreck, D., Rimbert, H., Felder, M., Guilhot, N., Kaithakottil, G., Keilwagen, J., Leroy, P., Lux, T., Twardziok, S., Venturini, L., Juhász, A., Abrouk, M., Fischer, I., Uauy, C., Borrill, P., Ramirez-Gonzalez, R.H., Arnaud, D., Chalabi, S., Chalhoub, B., Cory, A., Datla, R., Davey, M.W., Jacobs, J., Robinson, S.J., Steuernagel, B., van Ex, F., Wulff, B.B.H., Benhamed, M., Bendahmane, A., Concia, L., Latrasse, D., Bartoš, J., Bellec, A., Berges, H., Doležel, J., Frenkel, Z., Gill, B., Korol, A., Letellier, T., Olsen, O.-A., Singh, K., Valárik, M., van der Vossen, E., Vautrin, S., Weining, S., Fahima, T., Glikson, V., Raats, D., Číhalíková, J., Toegelová, H., Vrána, J., Sourdille, P., Darrier, B., Barabaschi, D., Cattivelli, L., Hernandez, P., Galvez, S., Budak, H., Jones, J.D.G., Witek, K., Yu, G., Small, I., Melonek, J., Zhou, R., Belova, T., Kanyuka, K., King, R., Nilsen, K., Walkowiak, S., Cuthbert, R., Knox, R., Wiebe, K., Xiang, D., Rohde, A., Golds, T., Čížková, J., Akpinar, B.A., Biyiklioglu, S., Gao, L., N'Daiye, A., Kubaláková, M., Šafář, J., Alfama, F., Adam-Blondon, A.-F., Flores, R., Guerche, C., Loaec, M., Quesneville, H., Condie, J., Ens, J., Maclachlan, R., Tan, Y., Alberti, A., Aury, J.-M., Barbe, V., Couloux, A., Cruaud, C., Labadie, K., Mangenot, S., Wincker, P., Kaur, G., Luo, M., Sehgal, S., Chhuneja, P., Gupta, O.P., Jindal, S., Kaur, P., Malik, P., Sharma, P., Yadav, B., Singh, N.K., Khurana, J.P., Chaudhary, C., Khurana, P., Kumar, V., Mahato, A., Mathur, S., Sevanthi, A., Sharma, N., Tomar, R.S., Holušová, K., Plíhal, O., Clark, M.D., Heavens, D., Kettleborough, G., Wright, J., Balcárková, B., Hu, Y., Salina, E., Ravin, N., Skryabin, K., Beletsky, A., Kadnikov, V., Mardanov, A., Nesterov, M., Rakitin, A., Sergeeva, E., Handa, H., Kanamori, H., Katagiri, S., Kobayashi, F., Nasuda, S., Tanaka, T., Wu, J., Cattonaro, F., Jiumeng, M., Kugler, K., Pfeifer, M., Sandve, S., Xun, X., Zhan, B., Batley, J., Bayer, P.E., Edwards, D., Hayashi, S., Tulpová, Z., Visendi, P., Cui, L., Du, X., Feng, K., Nie, X., Tong, W., Wang, L., 2018. Shifting the limits in wheat research and breeding using a fully annotated reference genome. Science 361, eaar7191. https://doi.org/10.1126/science.aar7191
Thomas, W.T.B., Forster, B.P., Gertsson, B., 2003. Doubled haploids in breeding, in: Maluszynski, M., Kasha, K.J., Forster, B.P., Szarejko, I. (Eds.), Doubled Haploid Production in Crop Plants: A Manual. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 337–349. https://doi.org/10.1007/978-94-017-1293-4_47
Triboi, E., Triboi-Blondel, A.-M., 2002. Productivity and grain or seed composition: a new approach to an old problem—invited paper. European Journal of Agronomy 16, 163–186. https://doi.org/10.1016/S1161-0301(01)00146-0
Ugarte, C., Calderini, D.F., Slafer, G.A., 2007. Grain weight and grain number responsiveness to pre-anthesis temperature in wheat, barley and triticale. Field Crops Research 100, 240–248. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2006.07.010
Venske, E., dos Santos, R.S., Busanello, C., Gustafson, P., Costa de Oliveira, A., 2019. Bread wheat: a role model for plant domestication and breeding. Hereditas 156, 16. https://doi.org/10.1186/s41065-019-0093-9
Wan, Y., Poole, R.L., Huttly, A.K., Toscano-Underwood, C., Feeney, K., Welham, S., Gooding, M.J., Mills, C., Edwards, K.J., Shewry, P.R., Mitchell, R.A., 2008. Transcriptome analysis of grain development in hexaploid wheat. BMC Genomics 9, 121. https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-121

Wang, W., Simmonds, J., Pan, Q., Davidson, D., He, F., Battal, A., Akhunova, A., Trick, H.N., Uauy, C., Akhunov, E., 2018. Gene editing and mutagenesis reveal inter-cultivar differences and additivity in the contribution of TaGW2 homoeologues to grain size and weight in wheat. Theor Appl Genet 131, 2463–2475. https://doi.org/10.1007/s00122-018-3166-7

Wardlaw, I.F., Willenbrink, J., 2000. Mobilization of fructan reserves and changes in enzyme activities in wheat stems correlate with water stress during kernel filling: RESEARCH Carbohydrate mobilization in droughted wheat. New Phytologist 148, 413–422. https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2000.00777.x

Weisheimer, A., Palmer, T.N., 2005. Changing frequency of occurrence of extreme seasonal temperatures under global warming. Geophysical Research Letters 32. https://doi.org/10.1029/2005GL023365

Wezel, A., Casagrande, M., Celette, F., Vian, J.-F., Ferrer, A., Peigné, J., 2014. Agroecological practices for sustainable agriculture. A review. Agron. Sustain. Dev. 34, 1–20. https://doi.org/10.1007/s13593-013-0180-7

Whingwiri, E.E., Kuo, J., Stern, W.R., 1981. The Vascular System in the Rachis of a Wheat Ear. Annals of Botany 48, 189–202. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a086113

Wiersma, J.J., Busch, R.H., Fulcher, G.G., Hareland, G.A., 2001. Recurrent Selection for Kernel Weight in Spring Wheat. Crop Sci. 41, 999–1005. https://doi.org/10.2135/cropsci2001.414999x

Willenborg, C.J., Luschei, E.C., Brûlé-Babel, A.L., 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, 1311. https://doi.org/10.2134/agronj2009.0137

Wolde, G.M., Mascher, M., Schnurbusch, T., 2018. Genetic modification of spikelet arrangement in wheat increases grain number without significantly affecting grain weight. Molecular Genetics and Genomics. https://doi.org/10.1007/s00438-018-1523-5

Wolde, G.M., Schnurbusch, T., 2019. Inferring vascular architecture of the wheat spikelet based on resource allocation in the branched headt (bht-A1) near isogenic lines. Functional Plant Biol. 46, 1023. https://doi.org/10.1071/FP19041

Xia, T., Li, N., Dumenil, J., Li, J., Kamenski, A., Bevan, M.W., Gao, F., Li, Y., 2013. The Ubiquitin Receptor DA1 Interacts with the E3 Ubiquitin Ligase DA2 to Regulate Seed and Organ Size in Arabidopsis. The Plant Cell 25, 3347–3359. https://doi.org/10.1105/tpc.113.115063

Xian-Yin, S., Ke, W., Yan, Z., Fan-Mei, K., Guan-Zhu, H., Hong-Ming, J., Xing-Jiao, H., Rui-Jun, L., Hong-Gang, W., Si-Shen, L., 2009. QTL analysis of kernel shape and weight using recombinant inbred lines in wheat. Euphytica 165, 615–624. https://doi.org/10.1007/s10681-008-9794-2

Xie, Q., Li, N., Yang, Y., Lv, Y., Yao, H., Wei, R., Sparkes, D.L., Ma, Z., 2018. Pleiotropic effects of the wheat domestication gene Q on yield and grain morphology. Planta 247, 1089–1098. https://doi.org/10.1007/s00425-018-2847-4

Xie, Q., Mayes, S., Sparkes, D.L., 2015. Carpel size, grain filling, and morphology determine individual grain weight in wheat. Journal of Experimental Botany 66, 6715–6730. https://doi.org/10.1093/jxb/erv378

Xu, H., Cai, T., Wang, Z., He, M., 2015. Physiological basis for the differences of productive capacity among tillers in winter wheat. Journal of Integrative Agriculture 14, 1958–1970. https://doi.org/10.1016/S2095-3119(15)61094-2

Yabe, S., Yoshida, H., Kajiya-Kanegae, H., Yamasaki, M., Iwata, H., Ebana, K., Hayashi, T., Nakagawa, H., 2018. Description of grain weight distribution leading to genomic selection for grain-filling characteristics in rice. PLOS ONE 13, e0207627. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207627

Yang, D., Cai, T., Luo, Y., Wang, Z., 2019. Optimizing plant density and nitrogen application to manipulate tiller growth and increase grain yield and nitrogen-use efficiency in winter wheat. PeerJ 7, e6484. https://doi.org/10.7717/peerj.6484

Yang, J., Zhang, J., Liu, K., Wang, Z., Liu, L., 2006. Abscisic acid and ethylene interact in wheat grains in response to soil drying during grain filling. New Phytol 171, 293–303. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01753.x

Yang, M., Gao, X., Dong, J., Gandhi, N., Cai, H., von Wettstein, D.H., Rustgi, S., Wen, S., 2017. Pattern of Protein Expression in Developing Wheat Grains Identified through Proteomic Analysis. Front. Plant Sci. 8. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00962

Yang, Z., van Oosterom, E.J., Jordan, D.R., Hammer, G.L., 2009. Pre-anthesis ovary development determines genotypic differences in potential kernel weight in sorghum. Journal of Experimental Botany 60, 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, 144–150.

Yu, Y., Zhu, D., Ma, C., Cao, H., Wang, Y., Xu, Y., Zhang, W., Yan, Y., 2016. Transcriptome analysis reveals key differentially expressed genes involved in wheat grain development. The Crop Journal 4, 92–106. https://doi.org/10.1016/j.cj.2016.01.006

Zhai, H., Feng, Z., Du, X., Song, Y., Liu, X., Qi, Z., Song, L., Li, J., Li, L., Peng, H., Hu, Z., Yao, Y., Xin, M., Xiao, S., Sun, Q., Ni, Z., 2018. A novel allele of TaGW2-A1 is located in a finely mapped QTL that increases

grain weight but decreases grain number in wheat (Triticum aestivum L.). Theor Appl Genet 131, 539–553. https://doi.org/10.1007/s00122-017-3017-y
Zhang, Y., Li, D., Zhang, D., Zhao, X., Cao, X., Dong, L., Liu, J., Chen, K., Zhang, H., Gao, C., Wang, D., 2018. Analysis of the functions of TaGW2 homoeologs in wheat grain weight and protein content traits. The Plant Journal 94, 857–866. https://doi.org/10.1111/tpj.13903
Zhu, Y., Chu, J., Dai, X., He, M., 2019. Delayed sowing increases grain number by enhancing spike competition capacity for assimilates in winter wheat. European Journal of Agronomy 104, 49–62. https://doi.org/10.1016/j.eja.2019.01.006

CHAPITRE 2: ETUDE DE LA VARIABILITE GENETIQUE DU LIEN ENTRE GRAIN MOYEN (PMG) ET DISTRIBUTION DES MASSES DE GRAINS INDIVIDUELS A L'ECHELLE DE PARCELLE

Partie 1: Présentation du chapitre

Ce premier chapitre de résultats cherche à prouver la pertinence de prendre en compte la variabilité intra-génotypique des masses de grains individuels pour améliorer le rendement via une sélection indirecte pour le PMG en conditions de stress abiotiques post-floraison. Ce premier chapitre de résultats s'applique donc à démontrer qu'il existe une variabilité génétique sur le lien entre grain moyen (PMG) - variabilité des masses de grains individuels en travaillant sur deux panels génétiques diversifiés. Le déterminisme génétique de la variabilité intra-génotypique des masses de grains individuels sera étudié au regard des différentes composantes de rendement moyennes et de leurs mises en place.

Partie 2: Wheat individual grain-size variance originates from crop development and from specific genetic determinism

Article accepté dans la revue PLOS ONE le 10/03/2020.

Beral A, Rincent R, Le Gouis J, Girousse C, Allard V (2020) Wheat individual grain-size variance originates from crop development and from specific genetic determinism. PLoS ONE 15 (3): e0230689. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230689

I. Introduction

It is estimated that over the 28-year period 1980 to 2008 atmospheric warming has lowered wheat yield by about 5.5% globally [1]. This yield decline is expected to continue, with climate change predicted to further increase mean temperatures and also the frequencies and magnitudes of extreme weather events [2]. A number of authors have stressed the need for a better understanding of wheat crop yield physiology, to enable us to achieve the required improvements in wheat yield into the future [3–5].

Grain yield in bread wheat is usually analysed through various yield components: the number of spikes per m^2, the number of grains per spike, the number of grains per m^2 and the thousand-kernel weight (TKW). Strong negative relationships between these yield components have already been found for both environmental and genetic sources of variation [6], in particular between (i) the number of spikes per m^2 and the number of grains per spike and (ii) the number of grains per m^2 and TKW. The number of grains per m^2 (the product of the number of spikes per m^2 and the number of grains per spike) is determined before anthesis and has been shown to be the main determinant of grain yield [7], particularly under optimal conditions [8].

However, under more limiting conditions during the reproductive phase, TKW may also be strongly affected, since short periods of high temperature (>35°C) often occur during grain-filling, and these periods will likely increase with climate change [9]. Indeed, abiotic stress during grain-filling has been shown to affect TKW strongly [10–12]. Depending on the nature,

duration and intensity of abiotic stress events, the grain-filling parameters are affected differently. For example, post-anthesis drought reduces the final grain mass by shortening both the duration and the rate of grain-filling [12]. For heat stress, moderate to high temperatures tend to shorten grain-filling duration and to accelerate the rate of grain-filling, but without full compensation [13,14]. Therefore, the TKW and its development from anthesis to maturity, becomes of high interest when studying post-anthesis abiotic stress, since any genetic variability associated with this trait could represent an interesting source of tolerance to extreme climatic events whose occurrence will likely increase in the future.

The TKW represents the bulk mean individual grain mass. It is usually studied at plot scale, but without consideration of possible changes in the underlying variability of individual grain mass. This intra-bulk variability results from the fact that grains of the same bulk sample (a plot of a single genotype, in a given environment) originate from a population of different spikes, of spikelets in each spike and of florets in each spikelet. This variability has long been observed in many species, both wild [15] and cultivated [16–21]. It is moreover present at every scale: inter-population, intra-population, intra-individual, and intra-organ (in our case, spike) [22,23].

Whatever its origins, micro-environmental or ontogenetic or stochastic, the variability in the mature masses of individual grains is assessed differently, depending on context. In an ecological context with wild species, the variability of individual mature grain mass is often considered an adaptative trait. Indeed, associated with variability of seed performance - e.g. seed vigour [22], seedling growth [24,25], tolerance to stress [26] - a large variability in mature seed mass allows species to adjust to unpredictable environmental conditions, so enhancing survival [23]. In contrast, in an agronomic context, and for bulk-harvested crops such as wheat, high variability of mature grain mass is often considered a disadvantage. Thus, when grains undergo processes such as milling, high variability in grain mass adversely affects the nutritional and technological quality of the end-products. Similarly, when grains are sown for a new crop, mass variability increases the heterogeneity of germination and of seedling emergence, often leading indirectly to decreased ease of crop management and decreased yield [27]. For this reason, breeders have usually sought for greater homogeneity in individual mature grain mass in seed lots [27,28].

In the agronomic context, and given the likely increase in abiotic stress events with climate change, it is worthwhile to better understand how individual mature grain mass variability comes about. In particular, because the TKW is developed gradually during crop development,

the question arises as to how much of the individual mature grain mass variance is related to the various yield components and how much to specific genetic factors.

In recent years, there has been an increase in research into genetic determinism of trait variance between environments (plasticity) [29,30]. For example, Kusmec *et al.* [29] have shown in maize that genetic control of the plasticity or the means of a set of 23 traits (including plant height, ear length, days to silk, total kernel volume etc…) are independent of one another. This suggests it should be possible to generate new plant varieties "with both high mean phenotype values and levels of plasticity that are appropriate for their target performance environments". Conversely, Li *et al.* [30] have shown for kernel weight- and size-related traits, a moderate to high common genetic control exists for both plasticity (between environments) and variability (within an environment). To date, no similar studies have been conducted either on the variance of wheat TKW within an environment nor on the components of yield.

Hence, the objectives of this study are: (i) within two large genetic panels to describe the genetic variability, of the variance of individual mature grain size (using grain projected area as a proxy for individual grain size); (ii) To characterise the links between the variance of individual mature grain size and mean yield components; and (iii) To explore for the first time the genetic determinism of the variance of individual mature grain size.

II. Materials and methods

2.1. Field experiments

The field experiments were conducted at INRA, Clermont-Ferrand (45°78' N, 3°08' E, 401 m a.s.l) in 2015/2016 and 2016/2017 using the Pheno3C high-throughput, field-phenotyping platform.

Two different genetic panels of winter wheat were used in 2015/2016 and 2016/2017. Hereafter, these will be described, respectively, as 'panel 2016' and 'panel 2017'. Panel 2016 was composed of 228 elite genotypes (Table S2-1) chosen to represent genetic variability within a pool of winter wheat adapted to western European conditions. This panel contained elite genotypes released between 1974 and 2014 [31–33]. Panel 2017 was a larger genetic panel of 312 genotypes (Table S2-2) chosen to represent the worldwide genetic diversity of winter wheat, with some filtering on plant height and heading time to eliminate the more extreme genotypes. Panel 2016 was sown on 12/11/2015 and harvested between 11/07/2016 and 21/07/2016; and panel 2017 was sown on 4/11/2016 and harvested between 28/06/2017 and 17/07/2017. In all cases the sowing density of 250 grains m^{-2} followed local agricultural practice.

The Pheno3C facility consists of eight plots of 96 micro-plots. Four plots can be covered by automatic rain-out shelters to generate the required levels of water stress without further modification of the micro-environment. The four remaining plots were control plots maintained under the local climate, but that could be irrigated to minimise water stress. Each micro-plot had a harvestable area of 2.1 m^2 and was managed following local agronomic practices. In the two experiments, two conditions were imposed: one irrigated control condition and one drought condition under rain-out shelters. For our current purposes, the water stress was not considered as such but merely as a source of environmental variability to ensure the results were not too environmentally specific and so would allow a degree of generalisation. The rainfall deficits in the water-stressed plots, compared to the control plots, were 220 and 240 mm in 2016 and 2017, respectively (Figure S2-1). In both trials, the soil water in the control plots was nearly always easily accessible, whereas in the drought plots plants were exposed to some degree of water stress from approximatively mid-April onwards (Figure S2-1). The two seasons x two water deficit conditions were considered to be independent environments and are referred to hereafter

as E1 to E4 where: E1 (well-watered, 2016), E2 (water-deficit, 2016), E3 (well-watered, 2017) and E4 (water-deficit, 2017).

Given the large number of genotypes tested in these two genetic panels, they could not all be replicated. The experimental plan for panel 2016 was based on an augmented design as follows: each plot of the facility was considered as a block composed of two sub-blocks (Northern and Southern halves). So, each treatment is composed of eight sub-blocks grouped by pairs in four blocks. Each sub-block received genotypes of similar earliness. There were three replicates per block for four control genotypes. Among the non-control genotypes, 164 had no replicates, 32 had one replicate within the same sub-block, and 32 had one replicate in the adjacent sub-block. The experimental plan for panel 2017 was slightly different. For both conditions, the trial was divided for both conditions into eight sub-blocks of earliness (as for panel 2016), four control genotypes were sown in each sub-block, and there was no replicate for the other 308 genotypes. The genetic panels were very different, with no genotype being common between them. Three out of the four controls were common to both seasons.

2.2. Phenotypic measurement and genotypic data

2.2.1. Phenotypic data

In each environment, the number of spikes per m² (SPM2) was determined after anthesis, by manual counting all spikes in two, 1-m long transects per micro-plot. At physiological maturity, all micro-plots were harvested using a combine harvester and the yield components (detailed below) were determined from the harvested grain samples, referred to hereafter as 'bulk grain'. Grain humidity was measured using a humidimeter (TM, Tripette and Renaud, France) to calculate grain mass yield at a notional 15% humidity basis.

For each grain bulk, a 200 g subsample was oven-dried (60°C for 48 h) before determining TKW, with an automatic seed-weighing and counting device (Opto Agri2, Optomachine, France). From direct measurements of yield (GY), SPM2 and TKW, the numbers of grains per spike (GPS), and numbers of grains per m² (GPM2) were computed.

The device used for TKW determination also provides single-grain-size components. Individual grain size (projected area) was extracted and used as a proxy for individual grain mass (Figure S2-2 and Figure S2-3). Depending on the bulk grain and the season (2016 or 2017), the analyses of individual grain size distributions were based on 300 to 500 individual grains (Table S2-3).

2.2.2. Genotypic data

The 228 genotypes from the 2016 trial and the 312 genotypes from the 2017 trial were genotyped with the TaBW280K SNP genotyping array [34]. Markers with missing values above 10%, minor allele frequency above 5% and monomorphic markers were removed. Imputation of missing values was carried out with Beagle V4.1 software [35]. The physical map used was the RefSeqV1.0 reference sequence of Chinese Spring [36].

2.3. Statistical analyses

2.3.1. Descriptors of the distributions of individual grain size

To compare grain-size distributions between genotypes and environments, different metrics were calculated. For each bulk grain sample, an individual grain-size distribution was described by the following metrics: mean, variance, and the 5th and 95th percentiles (respectively, P5 and P95). To increase readability, the two main metrics considered in the following analyses are abbreviated as: grain size mean (GSM) and grain size variance (GSV).

2.3.2. Spatial adjustment of phenotypic data

Adjusted means were calculated to correct each trait for spatial heterogeneity and to take the trial design into consideration. For each trait (yield components, P5, P95, GSV and GSM) in each environment, adjusted means for panels 2016 and 2017 were estimated by taking into account the spatial heterogeneity and the different earliness blocks using the following linear mixed model:

(1) $Y_{ijkl} = \mu + \underline{SB}_j + B_k + G_i + \underline{\epsilon}_{ijkl}$,

where Y_{ijkl} is the observation for a given trait for genotype i, sub-block j, block k and a possible repetition l, μ is the intercept, $\underline{SB}_j$ is the random effect of sub-block j, B_k is the fixed effect of block k, G_i is the fixed effect of genotype i and $\underline{\epsilon}_{ijkl}$ is the residual following a normal distribution $N(0, \sigma_\varepsilon^2)$.

To estimate the broad-sense heritability of each trait, in each environment, the following linear mixed models were used:

(2) For the 2016 genetic panel: $Y_{ijkl} = \mu + \underline{SB(check)}_j + B_k + \underline{G}_i + \underline{\epsilon}_{ijkl}$,

where Y_{ijkl} is the observation for a given trait for genotype i, sub-block j, block k and repetition l, μ is the intercept, $\underline{SB(check)}_j$ is the random effect of sub-block j estimated with the controls only, B_k is the fixed effect of block k, G_i is the random effect of genotype i and $\underline{\epsilon}_{ijkl}$ is the residual following a normal distribution $N(0, \sigma_\varepsilon^2)$.

(3) For the 2017 genetic panel, we proceeded in two steps because we only had the control genotypes to correct for spatial effects: in a first step, the four control genotypes were used to estimate the spatial effects with the following model $Y_{ijk} = \mu + SB_j + B_k + G_i + \underline{\epsilon}_{ijk}$, where Y_{ijk} is the observation for a given trait for check i, block k, and sub-block j. The phenotypes adjusted for the spatial effects (Ycorr) were used in a second step to estimate heritability with the following model: $Ycorr_i = \mu + \underline{G_i} + \underline{\epsilon}_i$

where μ is the intercept, $\underline{G_i}$ is the random effect of genotype i and $\underline{\epsilon}_i$ is the residual following a normal distribution $N(0, \sigma_\varepsilon^2)$.

Pearson's correlations were used to analyse the links between final yield components and GSV. Comparisons of Pearson's correlations between environments were made to assess the generalisation of the relations between final yield components and GSV.

To assess the differences between environments in terms of genetic variability associated with the descriptors of individual grain size distributions (GSM, GSV, P5 and P95), coefficients of variation of these metrics were calculated as a ratio between the standard deviation and the mean of each metric, for each environment.

2.3.3. Genome-wide association (GWA) analyses

For each environment, 269,421 SNP (2016 genetic panel) and 178,277 SNP (2017 genetic panel) were tested on seven traits using the adjusted means of, respectively, 228 genotypes (2016 genetic panel) and 312 genotypes (2017 genetic panel).

For each genetic panel the critical linkage disequilibrium (LD) was assessed according to the method described in Breseghello and Sorrels [37]. In addition, to prune the numbers of SNP by removing the most redundant, the LD of each pair of markers was estimated and one SNP of the pair was removed if the LD was greater than 0.9.

GWA mapping was carried out using the package GenABEL_1.8-0 [38] with a mixed model:

(2) $Y = \mu + X\beta + G + E$

Where Y is the vector of adjusted phenotypic values, μ the intercept, β the additive effect of the tested SNP, X the incidence matrix and G and E are the random polygenic and residual effects, respectively. For each chromosome, polygenic effects are assumed to be normally distributed $N(0,\sigma^2 K_{chr})$, where K_{chr} represents the relationship matrix based on the LOCO (Leave-One-Chromosome-Out) model [39]. We retained only the relationship matrices with no structure corrections. Cormier *et al.* [40] used 72% of the 2016 elite panel and did not find any structure. The 2017 genetic panel was optimised to be the less-structured. The results were concatenated after running the GWAS model for each trait and for each environment.

Next, we retained only the significantly associated SNP with LOD scores above three. The objective was to identify QTL of GSV associated with either both GSV and mean yield components, or with GSV only. To define QTL boundaries from the GWAS results, we used the method described in Cormier *et al.* [40]. Briefly, this is as follows. The first step is to develop a qualitative definition of the boundaries of presumed QTL, using visual assessment on Manhattan plots. The second step was to define the initial QTL boundaries. The LD was computed between every significantly associated SNP on all traits of interest (GSV and mean yield components) for each environment. A group of significantly associated SNPs belonging to the same LD cluster was defined as the LD block. Clusters of LDs were defined by an average distance with a cut-off (1-"critical LD"). The initial QTL boundaries were defined with the LD blocks found in the visual presumed QTL. The third step was to extend the initial boundaries using the LD decay [40]. QTL with overlapping LD blocks were considered to belong to the same locus. Colocalisations between QTL of the different environments were assessed when these QTL shared at least one significantly associated SNP.

Linear regression was used to compare the percentages of total variance of GSV explained by QTL of GSV, with or without yield components. To avoid redundancy, for each QTL only the significant SNPs with the strongest effects were retained. Then, for each environment, linear regressions between GSV and QTL effects were carried out and the variances explained by each category of QTL (with or without yield components) were calculated. Finally, for each environment, the QTL explaining most of the total variance of GSV were identified using a stepwise regression model (r^2_{opt}) AIC based to determine the number of QTL which explained the most of GSV.

III. Results

3.1. Individual grain size variance is subjected to both genetic and environmental variabilities

Across all genotypes and environments, individual grain size (projected area) ranged from 2.67 to 29.98 mm². This illustrates the wide range of variation of grain size. Small differences in size were observed between environments for minimum grain size, ranging from 2.67 mm² (E4) to 5.54 mm² (E3) while the maximum grain sizes were very similar (Table S2-3).

Overall, the variance of individual grain size varied more than the mean over a genetic panel, as GSV showed higher genetic variability than GSM (Table 2-1). As the variance of GSV could be higher than the variance of GSM by construction, comparison of coefficients of variation of the standard deviation (square root of GSV) and GSM were also carried out and these confirmed the previous result. Differences between environments were also observed (Table 2-1). Coefficients of variation of the GSM and the GSV were higher for E3 and E4, than for E1 and E2. This was probably caused by the higher genetic diversity of panel 2017 (E3 and E4).

Table 2-1 : Description of the distributions of individual grain size (projected area (mm²))

	GSM			GSV			P95			P5		
	Mean	SD	CV	Mean	SD	CV	Mean	SD	CV	Mean	SD	CV
E1	17.10^{c}	0.93	5.44%	7.30^{c}	1.48	20.27%	20.94^{c}	1.17	5.59%	12.23^{b}	0.90	7.36%
E2	16.95^{c}	0.98	5.78%	6.21^{b}	1.25	20.13%	20.50^{b}	1.19	5.80%	12.48^{b}	0.87	6.97%
E3	16.56^{b}	1.35	8.15%	7.06^{c}	2.08	29.46%	20.23^{b}	1.67	8.26%	11.70^{a}	1.22	10.43%
E4	15.43^{a}	1.37	8.88%	4.90^{a}	1.16	23.67%	19.11^{a}	1.50	7.85%	11.72^{a}	1.15	9.81%

For each environment, the mean, standard deviation (SD) and coefficient of variation (CV) of grain size mean (GSM), grain size variance (GSV), 95th percentile (P95) and 5th percentile (P5) were calculated and compared between environments. Individual grain projected area (mm²) was used as a proxy for individual grain size (mass).

E1 (well-watered, 2016); E2 (water-deficit, 2016); E3 (well-watered, 2017); E4 (water-deficit, 2017).

^{a,b,c} values with the same letter within a column were not significantly different (P>0.05) according to a Tukey post-hoc test following ANOVA.

3.2. Individual grain size variance is partially driven by yield components

The four environments can be characterised by their mean yield components (Table 2-2). The number of grains per m² and, consequently, the canopy structure were different for the four environments. E3 (2017) had the highest number of grains per m² while E4 (2017) had the lowest. The environments showed different combination of spikes per m² and number of grains per spike to set the canopy structure. E1 (2016) had the highest number of spikes per m² and the lowest number of grains per spike. Conversely, E2 (2016) had the lowest number of spikes per m² and the highest number of grains per spike. Thus, each of the environments was represented by a uniquely different canopy structure with potentially different effects on GSV.

Table 2-2 : Description of yield components.

	SPM2 (Number of spikes per m²)		GPS (Number of grains per spike)		GPM2 (Number of grains per m²)		TKW (g 15% hum.)		GY (t/ha 15% hum.)	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
E1	609^{d}	71	32^{a}	5	19062^{c}	2605	45.9^{c}	3.68	8.7^{c}	10.39
E2	401^{a}	52	41^{c}	6	16267^{b}	2237	47.2^{d}	3.95	7.6^{b}	9.00
E3	555^{c}	89	39^{b}	9	21638^{d}	4786	41.1^{b}	4.84	8.8^{c}	15.45
E4	445^{b}	84	33^{a}	8	14187^{a}	2304	38.9^{a}	4.65	5.4^{a}	7.61

For each environment, the mean and standard deviation (SD) of all yield components were calculated and compared between environments.

SPM2: number of spikes per m², GPS: number of grains per spike, GPM2: number of grains/m², TKW: thousand kernel weight (g at 15% moisture content), GY: Grain yield (t/ha at 15% moisture content).

E1 (well-watered, 2016); E2 (water-deficit, 2016); E3 (well-watered, 2017); E4 (water-deficit, 2017): R^2=0.89.

Values with the same lowercase letter within a column are not significantly different (P=>0.05) based on a Tukey post-hoc test following ANOVA.

To analyse whether GSV was linked to average yield components, Pearson's correlations were calculated between GSV and each yield component (SPM2, GPS, GPM2, TKW, GY) (Figure 2-1). In each environment, GSV was positively correlated with TKW (which is equivalent to GSM) (Figure S2-3). In addition, GSV was negatively correlated with SPM2. Some correlations

appeared to be environment-specific. In E1, GSV was also positively correlated with GPS. In E2, E3 and E4, GSV was negatively correlated with GPM2. Since SPM2, GPS and GPM2 are components that are set up before flowering, *i.e.* before the determinism of grain size, the correlation of GSV with those traits indicates GSV is partly driven by pre-flowering processes and not only by differences in grain-filling processes. In addition, the link between GSV and the pre-flowering traits is independent of the environment and probably has a genetic nature. Pearson's correlations between SPM2 and GSV, as well as between TKW and GSV, were not significantly different among the environments (the correlations between SPM2 and GSV, p-values were 0.32 and 0.58 for the 2016 panel and 2017 panel respectively ; the correlations between TKW and GSV, p-values were to 0.94 and 0.35 for the 2016 panel and 2017 panel respectively).

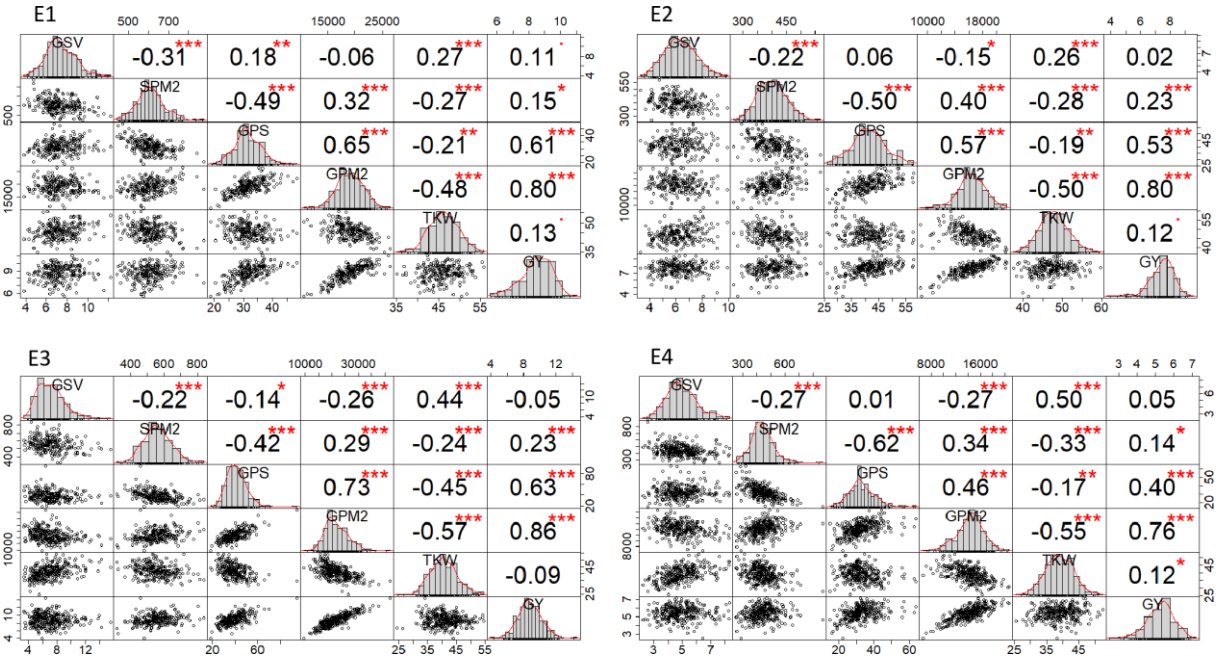


Figure 2-1: Pearson correlations among grain size variance and yield components. *The diagonal panels show histograms for each trait. The lower and upper triangular panels, respectively, show scatter plots and Pearson correlation coefficients between the two traits. GSV: Grain size variance, SPM2: number of spikes per m², GPS: number of grains per spike, GPM2: number of grains/m², TKW: thousand kernel weight (g at 15% moisture content), GY: Grain yield (t/ha at 15% moisture content). E1 (well-watered, 2016); E2 (water-deficit, 2016); E3 (well-watered, 2017); E4 (water-deficit, 2017). '.' : P-value<0.1 ; '*' : P-value<0.05 ; '**' : P-value<0.01 ; '***' : P-value<0.001*

Within each genetic panel, Pearson's correlations between the GSVs of the two environments were high: 0.68 and 0.62 for, respectively, E1 *vs* E2 and E3 *vs* E4. These results emphasise that genotype-environment interactions are low and suggest a specific genetic determinism of GSV.

3.3. Individual grain size variance also has a specific genetic determinism

Genetic determinism of GSV was studied through a genome-wide association study carried out on this particular trait and yield components. The focus was placed on the differentiation between GSV QTL that colocalised with yield components ("driven" QTL) from those which did not colocalise (specific QTL).

Globally, 4,895 SNP were significantly associated with GSV and 9,517 SNP with the other traits studied (yield components) including 1,555 SNP with SPM2, 1,614 SNP with GPS, 2,954 SNP with GPM2 and 3,394 SNP with TKW.

Sixty-four QTL were associated with GSV with a mean size of 95 Mb on the wheat reference sequence (Table 2-3). The whole results with the number of associated SNP for each chromosomal zone and the effects of the minor allele are available as supplementary data (Table S2-4). The number of QTL by wheat sub-genome, was consistent with the SNP density, as 33 QTL were found on sub-genome A, 20 QTL on sub-genome B and only 11 QTL on sub-genome D (Table 2-3).

Table 2-3 : Description of the QTL found in the four environments.

Environment	QTL	Size (Mb)		MAF(1)		Number of QTL(2)		
	Total	Mean	SD	Mean	SD	A	B	D
E1	16	161	245	0.24	0.14	10	4	2
E2	21	48	153	0.27	0.14	11	8	2
E3	13	66	144	0.28	0.10	6	4	3
E4	14	104	156	0.25	0.13	6	4	4
Total number of QTL	64					33	20	11

For each environment, QTL associated with GSV were identified and their characteristics were reported.

E1 (well-watered, 2016); E2 (water-deficit, 2016); E3 (well-watered, 2017); E4 (water-deficit, 2017).

(1) Minor allele frequency (MAF)

(2) Number of QTL for each sub-genomes

For each GSV QTL, colocalisations were checked with (i) SNP associated with yield components in the same environment and (ii) SNP associated with GSV in other environments, to find common QTL between environments (Table 2-4). Among all the 64 QTL for GSV, 34 (53.1%) QTL did not colocalise with any yield components (Table 2-4) and were considered as specific QTL. Among the 30 QTL for GSV which colocalised with yield components ("driven" QTL), GSV colocalised with either one or several yield components. Indeed 3 QTL colocalised with all yield components and 19 colocalised with only one yield component (Table S2-4). The two populations pooled, there were 12 QTL common to two environments and three QTL common to the two different populations (Table 2-4), which underlines some robustness in the study. Only one QTL was common to both genetic panels.

Table 2-4 : Colocalisations of QTL.

		Intra-population				
	QTL	QTL in one environment		QTL common to two environments		Inter-population
		2016 Panel (E1 or E2)	2017 Panel (E3 or E4)	2016 Panel (E1 and E2)	2017 Panel (E3 and E4)	
Specific QTL	34 (53.1%)	15	13	2	2	2
Driven QTL	30 (46.9%)	12	9	6	2	1
Total QTL	64 (100.0%)	49 (76.6%)(1)		12 (18.8%)(1)		3 (4.6%)(1)

For each of the 64 QTL, colocalisations with SNP associated with GSV in other environments (common QTL) were identified. Then the presence ("Driven" QTL) or the absence (Specific QTL) of colocalisations with SNP associated with yield components were determined.

(1) Percentage of the total number of QTL

Overall, for the four environments, GSV showed broad-sense heritabilities higher than SPM2 and GPS but lower than TKW (Table S2-5). However, the heritability of GSV across the four environments was quite high, ranging from 0.52 to 0.85. This revealed that genetic factors play an important role for GSV. Furthermore, for each environment, all QTL explained between

40.1% and 49.0% of the total variance of GSV (Table 2-5). For the four environments, a total of 46 QTL were retained in the stepwise regression model and explained between 39.3% and 48.7% of the total variance of GSV (Table 2-5). Among these QTL, half of them colocalised with mean yield components ("driven" QTL) (Table 2-5). For all environments, specific QTL and "driven" QTL explained, respectively, between 18.3% and 23.5% and between 21.8% and 25.4% of the total variance of GSV explained by all QTL (Table 2-5). There was no difference between the two categories of QTL so, globally, the "driven" QTL did not explain more of the total variance of GSV, than specific QTL.

Table 2-5 : Explained variance by QTL.

Environment	All QTL		Specific QTL		"Driven" QTL		Optimal number of QTL		
	Number of QTL	r^2	Number of QTL	r^2	Number of QTL	r^2	Number of QTL	With "Driven" QTL	r^2_{opt}
E1	16	40.1%	6	18.3%	10	21.8%	11	7	39.3%
E2	21	44.5%	12	21.7%	9	22.7%	11	6	42.6%
E3	13	49%	7	23.5%	6	25.4%	11	4	48.7%
E4	14	44.4%	9	20.2%	5	24.2%	13	5	44.3%
Total	64		34		30		46	22	

For each environment, the number of QTL which colocalised with yield components ("Driven" QTL) or not (Specific QTL) were calculated. The percentage of the total variance of GSV explained (r^2) by both categories of QTL and by all QTL were then estimated using linear regression. For each environment, the QTL explaining most of the total variance of GSV (Optimal number of QTL) were identified using stepwise regression and the percentage of total variance of GSV explained (r^2_{opt}) by these QTL is reported.

E1 (well-watered, 2016); E2 (water-deficit, 2016); E3 (well-watered, 2017); E4 (water-deficit, 2017).

IV. Discussion

4.1. Representativity of the environments studied

The main goal of the study was to examine the origins of the genetic determinism of individual grain size variance (GSV), using individual grain size (projected area, mm^2) as a proxy for individual grain mass. In particular, we wished to assess whether genetic variation for GSV is determined purely by canopy structure (i.e. correlated with yield components) or if it also displays a specific component (*i.e.* independent of canopy structure). For a certain degree of generalisation of our results to be attained, it is important that the environments studied allow us to highlight well-known relationships between traits, while also offering sufficient variation in the mean trait values.

As already exhaustively reviewed [6,41–44], we observed robust negative relationships between the main yield components in all four environments. The grain set trade-off was apparent in the negative relationship between the number of spikes per m^2 (SPM2) and the number of grains per spike (GPS). Similarly, the negative trade-off between the number of grains per m^2 (GPM2) and TKW was also clearly apparent in our dataset. The expected behaviour observed in our data was nevertheless accompanied by a large variability in mean trait values between environments. In particular, grain yield ranged between 5.4 and 8.8 t ha^{-1} in E4 and E3, respectively. This range adequately samples the inter-annual yield variations observed in the Clermont-Ferrand area, when managed under local agronomic practices. These yield variations were driven mainly by large variations in canopy structure as shown by the 50% difference observed for SPM2 between the environments with the lowest (E1) and highest (E4) spike densities, respectively (Table 2-2). At the same time, the four environments displayed large variations in trait values and classical relationships between traits and therefore offer the desired genericity to support the main analysis of this work.

4.2. GSV is partly driven by canopy structure

To understand to what extent GSV was driven by yield components, correlations between each trait were studied within each environment (Figure 2-1). In the beginning, our expectation was that any increase in the GPM2 (at the same plant density), through either an increase in GPS or in SPM2, would lead to an increase in GSV. Indeed, an increase in GPS created a larger proportion of small grains [45], mainly through an increase of the number of grains in the distal

positions of each spikelet [46]. These distal grains have been shown to be significantly smaller than the grains in proximal positions [47,46,48,49]. In addition, an increase in SPM2 implies a higher diversity in the spike population at the plot scale, with a larger proportion of spikes from secondary tillers [50]. These have been shown to carry a higher proportion of small grains than the main tillers [45]. Clearly, our initial hypothesis of a positive correlation between GSV and any component of grain number (SPM2, GPS and GPM2) was invalidated by the results obtained (Figure 2-1). Indeed, the observed correlations between these three variables and GSV were clearly not positive (except for the correlation between GSV and GPS in E1).

Conversely, in all environments, our results demonstrate a negative correlation between both GSV and GPM2 and between GSV and SPM2. Indeed, an increase in SPM2 leads to an expected increase in GPM2 and to a decrease in TKW. These effects are accompanied by a negative effect on GSV. An increase in GPS generates an increase in GPM2 and a decrease in TKW but has no effect on GSV. However, both SPM2 and GPS show similar correlations with TKW, both in kind and in magnitude. The question then arises as to what process can explain the differential behaviour of GPS and SPM2 on GSV.

First, we examine the nature of the relationship between SPM2 and GSV. An increase in SPM2 profoundly changes canopy structure by increasing the proportion of small spikes. This is the result of an increase in secondary tillers in the spike population. As earlier mentioned, the secondary tillers contain a higher proportion of small grains [45] and these will likely lead to an increased GSV. However, our results conflict with this, so the increase in SPM2 must be accompanied by some other modification of the grain population, leading to a diminution of GSV. It seems likely that increasing SPM2 also led to a reduction in the size of the largest grains. This interpretation finds support in the negative correlation between the 95th percentile of individual grain size and SPM2 (Figure S2-4). Conversely, an increase in GPS, while also increasing the proportion of small grains (Figure S2-4), did not bring about a similar reduction in the size of the largest grains (except for E3, Figure S2-4). This may explain the absence of correlation between GPS and GSV. This explanation would seem to find support in previous studies showing that fruiting efficiency of tiller spikes (defined as the number of grains per unit spike dry weight at anthesis [51]) is higher than in those of the main stem [52]. For a given level of source, the higher number of grains in the small spikes, should result in a decrease in the growth potential at anthesis of the bigger grains (as defined by Bremner and Rawson [53]) and thus their final size.

The above proposition shows the need to clarify the nature of the interactions caused by spike diversity within a canopy (GPS, spike morphology) and the variability of intra-spike individual grain size. However, the core of our study is to determine to what extent GSV is driven by canopy structure. Our results clearly show that a large part of GSV can be explained by SPM2. Nevertheless, the unexplained part of GSV could have to do with a specific genetic basis. This idea should be explored further.

4.3. GSV also has a specific genetic determinism

Our results identify a specific genetic determinism for GSV that is highly heritable. In general, GSV heritability ranged between 0.52 and 0.85 (Table S2-5). Heritability in GSV was higher than in SPM2 or GPS (except for E4) and lower than in TKW, in which heritability was the highest for any of the yield components (Table S2-5). This hierarchy of yield component heritabilities is in line with the literature [54]. Moreover, our genome-wide analysis reveals that about one half of the QTL associated with GSV were specific (i.e. exhibiting no colocalisation with the SNPs of the yield components) (Table 2-4). These specific QTL contributed about half of the total variance of GSV, explained by all QTL for each environment - the range being between 40.1% and 49.0% of the total GSV variance (Table 2-5). QTL explained the same proportion of the total variance for GSV (specific and "driven") as for TKW. For example, Cormier *et al.* [40] showed that, on average, QTL explained 32.3% of the total variance of TKW. This emphasises that GSV has a genetic determinism as strong as the one governing TKW. As expected, GSV is a trait submitted to strong G*E interactions (Table 2-4). Approximately 18.8% of the QTL were found in common in the two environments where the two populations were tested, which is within the range of the environmental robustness classically observed for wheat quantitative traits [55,56]. Furthermore, three QTL were found in common between the two populations. The strong specificity of the QTL depending of the genetic background is again a classical observation [55].

The sensitivity of the QTL identified to both genetic background and environmental conditions are however not different between the two types of QTL ("driven" and specific).

Therefore, even though prone to genotype x environment interactions, our results strongly suggest that the genetic determinism of GSV has a specific nature in addition to common genetic bases with other yield components.

An extensive literature has investigated the genetic control of mean grain size, shape and weight [57–61]. A few have studied the genetic determinism of the dynamic parameters of mean grain-filling in wheat [62,63]. On the other hand, genetic studies are few at the single-grain level. To our knowledge, only one has explored genetic control at single-grain level in wheat by focusing on grains at specific positions within the spikelet (basal vs. distal) in a recombinant inbred line mapping population [63]. Nevertheless, this does not fully account for the variability of individual grain size at intra-genotype level. Our study is the first to deal explicitly with the genetic determinism of grain size variance.

On a much wider scale, the genetic determinism of biological trait variance (defined as the variability observed for a trait within an environment and not across different environments) has already received some attention. For example, there are numerous studies in animal breeding [64,65] that report either many QTL with small effects on trait mean independent of trait variance [64] or a few common QTL with strong effects for trait mean and variance [65]. The genetic determinism of traits or of gene expression have been explored in plants such as *Arabidopsis thaliana* [66,67]. These show trait variance is heritable and also that some QTL influence trait variability strongly and specifically, independently of mean value. The purposes of these studies have mostly been to identify and evaluate the genetic control of biological trait variance in order to select for specific trait variance.

A similar objective for individual grain size variance in wheat may be achieved through two levers.

1) We have already shown that GSV derives partly from genotype x environment interactions affecting canopy structure before anthesis and also, partly, from a genetic effect for a given structure at anthesis. Therefore, GSV may be manipulated by either modifying the canopy structure or by selecting for specific GSV without affecting the canopy structure. In the first case, canopy structure can be manipulated through a) the selection of genotypes that display specific yield-establishment strategies, and/or b) agronomic practices (sowing density, N fertilisation etc…) that affect yield components in such a way that a desired value of GSV is driven by canopy structure. Independent of strategy, genotype selection and practices to obtain relevant canopy structures appear feasible, since yield components are often measured in agronomic trials, and these processes can be speeded up using reliable, high-throughput phenotyping methods, in particular for SPM2, the most critical component [68].

2) The second lever is through direct manipulation of the specific genetic determinism of GSV. This is hindered by the supplementary workload involved in phenotyping individual grain variance. This hinderance applies even when automated image analysis of grain size is utilised. Nevertheless, being able to select for GSV without affecting canopy structure could be useful in some situations. For example, in Australia where severe post-flowering water stress occurs, tolerant genotypes have been selected by optimising canopy structure through the introduction of a tiller inhibition (tin) gene [69]. In this case, GSV manipulation could be achieved only by utilising the existing, specific genetic determinism of the trait. By construction, specific QTL of GSV have no direct impact on yield since they are not linked with any yield components, but may nevertheless be of interest for breeders to select for traits that are independent of yield.

4.4. Breeding for GSV: putative interest for wheat?

As mentioned above for animal models, manipulation of variance is of considerable interest in breeding, in particular to increase the homogeneity of a selected trait. In the specific case of bread wheat, grain size variation has economic implications. First, grain size has been shown to be positively correlated with specific grain weight [70], a trait related to the efficiency of wheat transport and storage. And, second, a high proportion of small grains is penalised commercially by the milling industry because many small grains are lost during the cleaning process prior to milling. Also, a high proportion of small grains is indicative of a poor flour yield [71,72].

Increased grain homogeneity can also be justified on grounds of nutritional quality. For example, dry gluten content is variable between grains in bulk, mainly because of variation linked to their location in the spike - i.e. basal, median or apical [73]. Micro- and macro-nutrient content also varies between grains [74] – i.e. concentrations generally decrease from basal to apical spikelets. Thus, breeding for wheat with fixed (high) values of technological and nutritional quality, implies selection of genotypes having low proportions of small grains (high homogeneity).

When used as seed for a new crop, grain size homogeneity is also a positive trait. For wild species, some studies have emphasised the advantages of grain-size variation on germination, dormancy and dissemination success [15,23,75]. Thus, grain-size variability can represent a bet-hedging strategy which maximises the chances of generational survival in a fluctuating environment. However, for a cultivated species in an agricultural context, grain-size variability

can lead to non-uniform crop establishment. Clearly, this will have negative outcomes in conventional agriculture.

Nevertheless, in the context of climate change and increasingly unpredictable weather, our negative perception of individual grain size variability may change to a more positive one. This is due to the putative positive and more reliable agronomical outcomes for this trait under some conditions [76]. Here, the link between grain size variability and crop establishment is worth re-examination. A greater variability in individual grain size, and thus in seed performance, may favour irregular seedling emergence, which may help buffer the impacts of environmental stress events during establishment [77]. This strategy may well come to sit alongside the more classical one of breeding for intrinsic stress tolerance.

We believe our results call for a more thorough examination of the correlations between individual grain size variability and mean traits of agronomic interest. In particular, we should explore the effects of different GSV on yield under post-flowering abiotic stress, since single grains have been shown to exhibit different responses to post-anthesis temperature stress, depending on their position on the spike or within a spikelet [78]. This should widen perspectives for breeding by using individual grain-size variability as a trait for increased tolerance of abiotic stress.

Acknowledgements

The authors also acknowledge the projects BreedWheat (ANR-10-BTBR-03) and PHENOME (ANR-11-INBS-0012) for providing raw data. The authors want to thank, D. Cormier and B. Adam for managing the Pheno3C phenotyping platform, W. Ngo, L. Bonjean and members of UE PHACC for their technical assistance. The authors want also to thank R. Rincent and A. Mini for providing script and useful help regarding to adjusted means calculation and GWAS analysis. The authors thank Dr. Sandy Land (www. rescript.co.nz) for language editing and proofreading of the manuscript.

V. References

[1] Lobell DB, Schlenker W, Costa-Roberts J. Climate Trends and Global Crop Production Since 1980. Science 2011;333:616–20. https://doi.org/10.1126/science.1204531.

[2] IPCC. Climate Change and Land An IPCC Special Report on climate change, desertification, land degradation, sustainable land management, food security, and greenhouse gas fluxes in terrestrial ecosystems, 2019.

[3] Slafer GA. Genetic basis of yield as viewed from a crop physiologist's perspective. Ann Applied Biology 2003;142:117–28. https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2003.tb00237.x.

[4] Araus JL, Slafer GA, Royo C, Serret MD. Breeding for Yield Potential and Stress Adaptation in Cereals. Critical Reviews in Plant Sciences 2008;27:377–412. https://doi.org/10.1080/07352680802467736.

[5] Reynolds M, Foulkes J, Furbank R, Griffiths S, King J, Murchie E, et al. Achieving yield gains in wheat: Achieving yield gains in wheat. Plant, Cell & Environment 2012;35:1799–823. https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2012.02588.x.

[6] Slafer GA, Savin R, Sadras VO. Coarse and fine regulation of wheat yield components in response to genotype and environment. Field Crops Research 2014;157:71–83. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2013.12.004.

[7] Slafer GA, Andrade FH. Physiological attributes related to the generation of grain yield in bread wheat cultivars released at different eras. Field Crops Research 1993;31:351–67. https://doi.org/10.1016/0378-4290(93)90073-V.

[8] Fischer RA. The importance of grain or kernel number in wheat: A reply to Sinclair and Jamieson. Field Crops Research 2008;105:15–21. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2007.04.002.

[9] Semenov MA, Halford NG. Identifying target traits and molecular mechanisms for wheat breeding under a changing climate. Journal of Experimental Botany 2009;60:2791–804. https://doi.org/10.1093/jxb/erp164.

[10] Pradhan GP, Prasad PVV, Fritz AK, Kirkham MB, Gill BS. Effects of drought and high temperature stress on synthetic hexaploid wheat. Functional Plant Biol 2012;39:190. https://doi.org/10.1071/FP11245.

[11] Farooq M, Bramley H, Palta JA, Siddique KHM. Heat Stress in Wheat during Reproductive and Grain-Filling Phases. Critical Reviews in Plant Sciences 2011;30:491–507. https://doi.org/10.1080/07352689.2011.615687.

[12] Farooq M, Hussain M, Siddique KHM. Drought Stress in Wheat during Flowering and Grain-filling Periods. Critical Reviews in Plant Sciences 2014;33:331–49. https://doi.org/10.1080/07352689.2014.875291.

[13] Sofield I, Evans L, Cook M, Wardlaw I. Factors Influencing the Rate and Duration of Grain Filling in Wheat. Functional Plant Biol 1977;4:785. https://doi.org/10.1071/PP9770785.

[14] Stone P, Nicolas M. Effect of Timing of Heat Stress During Grain Filling on Two Wheat Varieties Differing in Heat Tolerance. I. Grain Growth. Functional Plant Biol 1995;22:927. https://doi.org/10.1071/PP9950927.

[15] Imbert E. Ecological consequences and ontogeny of seed heteromorphism. Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics 2002;5:13–36. https://doi.org/10.1078/1433-8319-00021.

[16] Clarke JM. INTRA-PLANT VARIATION IN NUMBER OF SEEDS PER POD AND SEED WEIGHT IN BRASSICA NAPUS 'TOWER'. Can J Plant Sci 1979;59:959–62. https://doi.org/10.4141/cjps79-152.

[17] Dornbos Jr. DL, Mullen RE. Influence of stress during soybean seed fill on seed weight, germination, and seedling growth rate. Can J Plant Sci 1991;71:373–83. https://doi.org/10.4141/cjps91-052.

[18] Dumoulin V, Ney B, Gérard E. Variability of Seed and Plant Development in Pea. Crop Science 1994;34:992. https://doi.org/10.2135/cropsci1994.0011183X003400040030x.

[19] Fabre D, Siband P, Dingkuhn M. Characterizing stress effects on rice grain development and filling using grain weight and size distribution. Field Crops Research 2005;92:11–6. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2004.07.024.

[20] Gambın BL. Sorghum Kernel Weight: Growth Patterns from Different Positions within the Panicle. CROP SCIENCE 2005;45:9.

[21] Yabe S, Yoshida H, Kajiya-Kanegae H, Yamasaki M, Iwata H, Ebana K, et al. Description of grain weight distribution leading to genomic selection for grain-filling characteristics in rice. PLOS ONE 2018;13:e0207627. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207627.

[22] Matilla A, Gallardo M, Puga-Hermida MI. Structural, physiological and molecular aspects of heterogeneity in seeds: a review. Seed Science Research 2005;15:63–76. https://doi.org/10.1079/SSR2005203.

[23] Mitchell J, Johnston IG, Bassel GW. Variability in seeds: biological, ecological, and agricultural implications. EXBOTJ 2017:erw397. https://doi.org/10.1093/jxb/erw397.

[24] Aparicio N, Villegas D, Araus JL, Blanco R, Royo C. Seedling development and biomass as affected by seed size and morphology in durum wheat. J Agric Sci 2002;139:143–50. https://doi.org/10.1017/S0021859602002411.

[25] Lafond GP, Baker RJ. Effects of Genotype and Seed Size on Speed of Emergence and Seedling Vigor in Nine Spring Wheat Cultivars1. Crop Science 1986;26:341. https://doi.org/10.2135/cropsci1986.0011183X002600020027x.
[26] Zhang J. Differences in phenotypic plasticity between plants from dimorphic seeds of Cakile edentula. Oecologia 1995;102:353–60. https://doi.org/10.1007/BF00329802.
[27] Finch-Savage WE, Bassel GW. Seed vigour and crop establishment: extending performance beyond adaptation. EXBOTJ 2016;67:567–91. https://doi.org/10.1093/jxb/erv490.
[28] Bradshaw AD. Unravelling phenotypic plasticity – why should we bother? New Phytologist 2006;170:644–8. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01761.x.
[29] Kusmec A, Srinivasan S, Nettleton D, Schnable PS. Distinct genetic architectures for phenotype means and plasticities in Zea mays. Nature Plants 2017;3:715–23. https://doi.org/10.1038/s41477-017-0007-7.
[30] Li C, Wu X, Li Y, Shi Y, Song Y, Zhang D, et al. Genetic architecture of phenotypic means and plasticities of kernel size and weight in maize. Theor Appl Genet 2019. https://doi.org/10.1007/s00122-019-03426-w.
[31] Rincent R, Charpentier J-P, Faivre-Rampant P, Paux E, Le Gouis J, Bastien C, et al. Phenomic Selection Is a Low-Cost and High-Throughput Method Based on Indirect Predictions: Proof of Concept on Wheat and Poplar. G3: Genes|Genomes|Genetics 2018:g3.200760.2018. https://doi.org/10.1534/g3.118.200760.
[32] Touzy G, Rincent R, Bogard M, Lafarge S, Dubreuil P, Mini A, et al. Using environmental clustering to identify specific drought tolerance QTLs in bread wheat (T. aestivum L.). Theor Appl Genet 2019. https://doi.org/10.1007/s00122-019-03393-2.
[33] Rincent R, Malosetti M, Ababaei B, Touzy G, Mini A, Bogard M, et al. Using crop growth model stress covariates and AMMI decomposition to better predict genotype-by-environment interactions. Theor Appl Genet 2019;132:3399–411. https://doi.org/10.1007/s00122-019-03432-y.
[34] Rimbert H, Darrier B, Navarro J, Kitt J, Choulet F, Leveugle M, et al. High throughput SNP discovery and genotyping in hexaploid wheat. PLOS ONE 2018;13:e0186329. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186329.
[35] Browning BL, Browning SR. Genotype Imputation with Millions of Reference Samples. The American Journal of Human Genetics 2016;98:116–26. https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2015.11.020.
[36] The International Wheat Genome Sequencing Consortium (IWGSC), Appels R, Eversole K, Stein N, Feuillet C, Keller B, et al. Shifting the limits in wheat research and breeding using a fully annotated reference genome. Science 2018;361:eaar7191. https://doi.org/10.1126/science.aar7191.
[37] Breseghello F, Sorrells ME. QTL analysis of kernel size and shape in two hexaploid wheat mapping populations. Field Crops Research 2007;101:172–9. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2006.11.008.
[38] Aulchenko YS, Ripke S, Isaacs A, van Duijn CM. GenABEL: an R library for genome-wide association analysis. Bioinformatics 2007;23:1294–6. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm108.
[39] Rincent R, Moreau L, Monod H, Kuhn E, Melchinger AE, Malvar RA, et al. Recovering Power in Association Mapping Panels with Variable Levels of Linkage Disequilibrium. Genetics 2014;197:375–87. https://doi.org/10.1534/genetics.113.159731.
[40] Cormier F, Le Gouis J, Dubreuil P, Lafarge S, Praud S. A genome-wide identification of chromosomal regions determining nitrogen use efficiency components in wheat (Triticum aestivum L.). Theor Appl Genet 2014;127:2679–93. https://doi.org/10.1007/s00122-014-2407-7.
[41] Ferrante A, Cartelle J, Savin R, Slafer GA. Yield determination, interplay between major components and yield stability in a traditional and a contemporary wheat across a wide range of environments. Field Crops Research 2017;203:114–27. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2016.12.028.
[42] GambÃn BL, BorrÃ¡s L. Resource distribution and the trade-off between seed number and seed weight: a comparison across crop species. Annals of Applied Biology 2010;156:91–102. https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2009.00367.x.
[43] Slafer G, Rawson H. Sensitivity of Wheat Phasic Development to Major Environmental Factors: a Re-Examination of Some Assumptions Made by Physiologists and Modellers. Functional Plant Biol 1994;21:393. https://doi.org/10.1071/PP9940393.
[44] Sadras VO, Denison RF. Do plant parts compete for resources? An evolutionary viewpoint. New Phytologist 2009;183:565–74. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02848.x.
[45] Acreche MM, Slafer GA. Grain weight response to increases in number of grains in wheat in a Mediterranean area. Field Crops Research 2006;98:52–9. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2005.12.005.
[46] Feng F, Han Y, Wang S, Yin S, Peng Z, Zhou M, et al. 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 2018;9. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00129.
[47] Baillot N, Girousse C, Allard V, Piquet-Pissaloux A, Le Gouis J. Different grain-filling rates explain grain-weight differences along the wheat ear. PLOS ONE 2018;13:e0209597. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209597.

[48] Li Y, Cui Z, Ni Y, Zheng M, Yang D, Jin M, et al. Plant Density Effect on Grain Number and Weight of Two Winter Wheat Cultivars at Different Spikelet and Grain Positions. PLOS ONE 2016;11:e0155351. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155351.
[49] Miralles DJ, Slafer GA. Individual grain weight responses to genetic reduction in culm length in wheat as affected by source-sink manipulations. Field Crops Research 1995;43:55–66. https://doi.org/10.1016/0378-4290(95)00041-N.
[50] Xu H, Cai T, Wang Z, He M. Physiological basis for the differences of productive capacity among tillers in winter wheat. Journal of Integrative Agriculture 2015;14:1958–70. https://doi.org/10.1016/S2095-3119(15)61094-2.
[51] Slafer GA, Elia M, Savin R, García GA, Terrile II, Ferrante A, et al. Fruiting efficiency: an alternative trait to further rise wheat yield. Food Energy Secur 2015;4:92–109. https://doi.org/10.1002/fes3.59.
[52] Terrile II, Miralles DJ, González FG. Fruiting efficiency in wheat (Triticum aestivum L): Trait response to different growing conditions and its relation to spike dry weight at anthesis and grain weight at harvest. Field Crops Research 2017;201:86–96. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2016.09.026.
[53] Bremner P, Rawson H. The Weights of Individual Grains of the Wheat Ear in Relation to Their Growth Potential, the Supply of Assimilate and Interaction Between Grains. Functional Plant Biol 1978;5:61. https://doi.org/10.1071/PP9780061.
[54] Sadras VO, Slafer GA. Environmental modulation of yield components in cereals: Heritabilities reveal a hierarchy of phenotypic plasticities. Field Crops Research 2012;127:215–24. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2011.11.014.
[55] Kumar N, Kulwal PL, Balyan HS, Gupta PK. QTL mapping for yield and yield contributing traits in two mapping populations of bread wheat. Mol Breeding 2007;19:163–77. https://doi.org/10.1007/s11032-006-9056-8.
[56] Ramya P, Chaubal A, Kulkarni K, Gupta L, Kadoo N, Dhaliwal HS, et al. QTL mapping of 1000-kernel weight, kernel length, and kernel width in bread wheat (Triticum aestivum L.). J Appl Genet 2010;51:421–9. https://doi.org/10.1007/BF03208872.
[57] Breseghello F. Association Mapping of Kernel Size and Milling Quality in Wheat (Triticum aestivum L.) Cultivars. Genetics 2005;172:1165–77. https://doi.org/10.1534/genetics.105.044586.
[58] Cristina D, Ciuca M, Cornea PC. GENETIC CONTROL OF GRAIN SIZE AND WEIGHT IN WHEAT–WHERE ARE WE NOW? n.d.:8.
[59] Gegas VC, Nazari A, Griffiths S, Simmonds J, Fish L, Orford S, et al. A Genetic Framework for Grain Size and Shape Variation in Wheat. The Plant Cell 2010;22:1046–56. https://doi.org/10.1105/tpc.110.074153.
[60] Wang S, Zhang X, Chen F, Cui D. A Single-Nucleotide Polymorphism of TaGS5 Gene Revealed its Association with Kernel Weight in Chinese Bread Wheat. Front Plant Sci 2015;6. https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01166.
[61] Yan X, Zhao L, Ren Y, Dong Z, Cui D, Chen F. Genome-wide association study revealed that the TaGW8 gene was associated with kernel size in Chinese bread wheat. Scientific Reports 2019;9. https://doi.org/10.1038/s41598-019-38570-2.
[62] Charmet G, Robert N, Branlard G, Linossier L, Martre P, Triboï E. Genetic analysis of dry matter and nitrogen accumulation and protein composition in wheat kernels. Theor Appl Genet 2005;111:540–50. https://doi.org/10.1007/s00122-005-2045-1.
[63] Xie Q, Mayes S, Sparkes DL. Carpel size, grain filling, and morphology determine individual grain weight in wheat. Journal of Experimental Botany 2015;66:6715–30. https://doi.org/10.1093/jxb/erv378.
[64] Mulder HA, Crump RE, Calus MPL, Veerkamp RF. Unraveling the genetic architecture of environmental variance of somatic cell score using high-density single nucleotide polymorphism and cow data from experimental farms. Journal of Dairy Science 2013;96:7306–17. https://doi.org/10.3168/jds.2013-6818.
[65] Wolc A, Arango J, Settar P, Fulton JE, O'Sullivan NP, Preisinger R, et al. Genome-wide association analysis and genetic architecture of egg weight and egg uniformity in layer chickens: Genome-wide association analysis and genetic architecture of egg. Animal Genetics 2012;43:87–96. https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2012.02381.x.
[66] Jimenez-Gomez JM, Corwin JA, Joseph B, Maloof JN, Kliebenstein DJ. Genomic Analysis of QTLs and Genes Altering Natural Variation in Stochastic Noise. PLoS Genet 2011;7:e1002295. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002295.
[67] Shen X, Pettersson M, Rönnegård L, Carlborg Ö. Inheritance Beyond Plain Heritability: Variance-Controlling Genes in Arabidopsis thaliana. PLoS Genet 2012;8:e1002839. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002839.
[68] Hasan MM, Chopin JP, Laga H, Miklavcic SJ. Detection and analysis of wheat spikes using Convolutional Neural Networks. Plant Methods 2018;14:100. https://doi.org/10.1186/s13007-018-0366-8.

[69] Mitchell JH, Chapman SC, Rebetzke GJ, Bonnett DG, Fukai S. Evaluation of a reduced-tillering (tin) gene in wheat lines grown across different production environments. Crop Pasture Sci 2012;63:128. https://doi.org/10.1071/CP11260.
[70] Clarke MP, Gooding MJ, Jones SA. The effects of irrigation, nitrogen fertilizer and grain size on Hagberg falling number, specific weight and blackpoint of winter wheat. J Sci Food Agric 2004;84:227–36. https://doi.org/10.1002/jsfa.1657.
[71] Sharma DL, Anderson WK. Small grain screenings in wheat: interactions of cultivars with season, site, and management practices. Aust J Agric Res 2004;55:797. https://doi.org/10.1071/AR03265.
[72] Nuttall JG, O'Leary GJ, Panozzo JF, Walker CK, Barlow KM, Fitzgerald GJ. Models of grain quality in wheat—A review. Field Crops Research 2017;202:136–45. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2015.12.011.
[73] Boz H, Gerçekaslan KE, Karaoğlu MM, Kotancilar HG. Differences in some physical and chemical properties of wheat grains from different parts within the spike n.d.:8.
[74] Calderini DF, Ortiz-Monasterio I. Grain Position Affects Grain Macronutrient and Micronutrient Concentrations in Wheat. Crop Science 2003;43:141–51. https://doi.org/10.2135/cropsci2003.1410.
[75] Stanton ML. Developmental and Genetic Sources of Seed Weight Variation in Raphanus Raphanistrum L. (brassicaceae). American Journal of Botany 1984;71:1090–8. https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1984.tb11961.x.
[76] Abley K, Locke JCW, Leyser HMO. Developmental mechanisms underlying variable, invariant and plastic phenotypes. Ann Bot 2016;117:733–48. https://doi.org/10.1093/aob/mcw016.
[77] Bewley JD. Seed Germination and Dormancy. Plant Cell 1997:1055–66. https://doi.org/10.1105/tpc.9.7.1055.
[78] TASHIRO T, WARDLAW IF. 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 1990;65:51–61.

VI. Supporting information

Supplementary Table S2-1: Genetic panel 2016. *Wheat varieties tested (Name), year of release (YR) and geographical origin (Country).*

Name	Country	YR
Apache	FRA	1998
Altigo	FRA	2007
Bermude	FRA	2007
Premio	FRA	2007
Einstein	GBR	2002
KWS Podium	GBR	2009
Ambition	DNK	2004
Lear	GBR	2007
Alchemy	GBR	2005
Amundsen	FRA	2007
Galvano	DNK	2008
Istabraq	GBR	2003
JB Diego	GBR	2006
Manager	FRA	2005
Oxebo	FRA	2009
Pajero	BEL	1995
SY Tolbiac	FRA	2011
Pierrot	DNK	2009
Samurai	FRA	2004
Fairplay	FRA	2011
Selekt	FRA	2006
Viscount	GBR	2007
Warrior	GBR	2009
Xi19	GBR	2001
Antonius	AUT	2006
Ronsard	FRA	2011
Ephoros	DEU	2004
Expert	FRA	2007
Flaubert	FRA	2009
Gladiator	GBR	2002
Glasgow	GBR	2004
Iridium	FRA	2006
Kalahari	DEU	2010
Kalystar	FRA	2010
Koreli	FRA	2006
Marksman	GBR	2006
Pepidor	FRA	2006
Perfector	FRA	2003
Pireneo	AUT	2005
Bergamo	FRA	2011
Racine	FRA	2010
Sankara	FRA	2003
Scor	FRA	2008
Sogood	FRA	2005
Sponsor	FRA	1994
SY Epson	GBR	2011
Trapez	FRA	2009
Allez y	FRA	2010
Aristote	FRA	2010
Attitude	FRA	2009
Attlass	DEU	2005
Barok	FRA	2008
Boisseau	FRA	2007
Boregar	FRA	2007
Camp Remy	FRA	1980
Ch Nara	CHE	2009
Chevalier	AUT	2006
Cordiale	GBR	2003
Crousty	SWE	1995
Dialog	FRA	2007
Dinosor	FRA	2005
Folklor	FRA	2010

Instinct	FRA	2005
Marcelin	FRA	2009
Papageno	AUT	2006
Phare	FRA	2007
Player	FRA	2009
Renan	FRA	1989
Sebasto	FRA	2007
Solution	FRA	2007
Tapidor	FRA	2001
Toisondor	FRA	2003
Odyssee	FRA	2011
Aldric	FRA	2006
Alixan	FRA	2005
Ambello	FRA	2010
Bagou	FRA	2007
Biancor	FRA	2010
Caphorn	FRA	2000
Catalan	FRA	2002
Compil	FRA	2010
Fluor	FRA	2010
Galactic	FRA	2007
Hekto	FRA	2009
Karillon	FRA	2010
Lord	FRA	2008
Laurier	FRA	2011
Orvantis	FRA	2000
Pakito	FRA	2010
Prevert	FRA	2009
Blini	MAR	2012
Rustic	BEL	2005
Sokal	FRA	2011
Sorrial	FRA	2008
Sweet	FRA	2010
Swinggy	FRA	2008
SY Mattis	FRA	2010
Figaro	FRA	2011
Aligator	FRA	2009
Altamira	FRA	2009
Amador	FRA	2009
Aprilio	FRA	2010
Aramis	FRA	2009
Arezzo	FRA	2007
Arkeos	FRA	2010
Arlequin	FRA	2007
Athlon	FRA	2009
Aubusson	FRA	2001
Bastide	FRA	2002
Buenno	FRA	2007
SY Moisson	FRA	2011
Celestin	FRA	2009
Epidoc	FRA	2005
Euclide	FRA	2006
Farinelli	FRA	2010
Oregrain	FRA	2011
Cellule	FRA	2011
Flamenko	FRA	2010
Galpino	ESP	2010
Goncourt	FRA	2008
Graindor	FRA	2005
Hisseo	ITA	2010
Illico	FRA	2009
Innov	FRA	2005
Isengrain	FRA	1997
MH 09-17	FRA	NA
Musik	FRA	2010
Ascott	FRA	2011
Paledor	FRA	2004
Rubisko	FRA	2011
Saint Ex	FRA	2010
Scenario	FRA	2010

Soissons	FRA	1987
Solehio	FRA	2008
SY Alteo	FRA	2010
Tremie	FRA	1992
Tulip	FRA	2010
Uski	FRA	2008
Accor	FRA	2006
Accroc	FRA	2009
Acienda	FRA	2004
Adhoc	FRA	2010
Altria	FRA	1996
Andalou	FRA	2001
Autan	FRA	2000
Azimut	FRA	2004
Bologna	ESP	2001
Cezanne	FRA	1998
Courtot	FRA	1974
Eureka	FRA	1992
Exotic	FRA	2005
Galopain	FRA	2009
Garcia	FRA	2005
Jaguar	ITA	2009
Miroir	FRA	2010
Artdeco	FRA	2011
PR22R58	ITA	2002
Primo	ITA	2009
Quality	ITA	2002
Rimbaud	FRA	2009
Royssac	FRA	2002
Sirtaki	ITA	2007
Soledad	ITA	2008
Sollario	FRA	2007
Basmati	ITA	2011
Tigre	POR	1996
Calisol	FRA	2012
Isidor	FRA	2002
Ardelor	FRA	2010
Deucendeu	FRA	1997
Eperon	FRA	2012
Behert	FRA	1995
Blason	FRA	1977
Genesis	FRA	1992
Grenier	FRA	1992
Amifort	FRA	1992
Sofolk CS	FRA	2014
Aigle	FRA	2014
Aplomb	FRA	2014
Armada	FRA	1978
Bonifacio	FRA	2011
Calabro	FRA	2011
Calumet	FRA	2013
Sothys CS	FRA	2014
RGT Mondio	FRA	2014
Picador	FRA	2006
Audace	FRA	1996
Sherlock	FRA	2014
Auckland	FRA	2014
Element	AUT	2006
Foxyl	FRA	2014
Lavoisier	FRA	2013
Lennox	FRA	2012
Nemo	FRA	2014
Plainedor	FRA	2009
Quatuor	FRA	2002
RGT Venezio	FRA	2013
Diamento	FRA	2012
Syllon	FRA	2013
Descartes	FRA	2013
Collector	FRA	2014
Belepi	FRA	2012

Chevron	FRA	2009
Contrefor	FRA	2010
Fructidor	FRA	2013
Ghayta	FRA	2012
Granamax	FRA	2013
Hendrix	FRA	2011
Kundera	FRA	2013
Lyrik	FRA	2011
Minotor	FRA	2007
RGT Tekno	FRA	2014
Skerzzo	FRA	2011
Triomph	FRA	2014
Orfield	FRA	1998
Gallixe	FRA	2014
Gotik	FRA	2014
Grapeli	FRA	2012
Noblesko	FRA	2011
Phileas	FRA	2014
Quebon	FRA	2004
RGT Texaco	FRA	2014
Terroir	FRA	2012
Baltimor	FRA	1998
Mandragor	FRA	2012
Popeye	FRA	2014
Costello	FRA	2014
Paindor	FRA	1996

Supplementary Table S2-2: Genetic panel 2017. *Wheat varieties tested (Name), year of release (YR) and geographical origin (Country).*

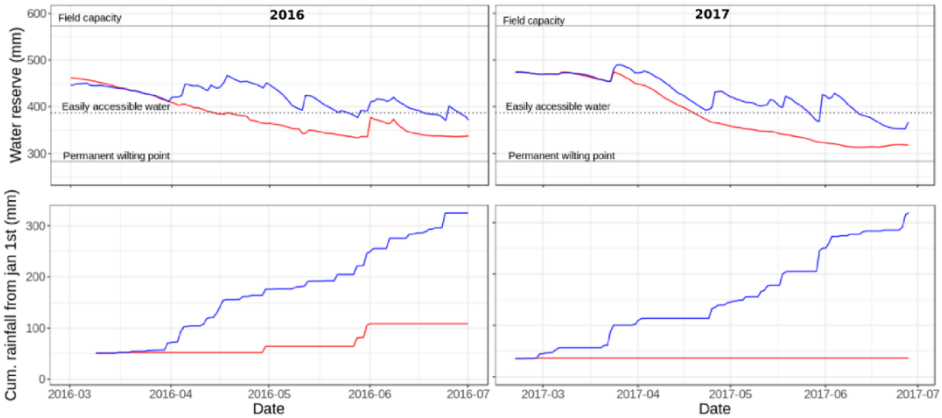
Name	Country	YR
A_15	AFG	NA
KLEIN_32	ARG	1932
KL_ESTRELLA	ARG	1995
SWM89Y074	ARM	NA
ATUT_II	AUT	1974
DANUBIUS	AUT	1974
KRISTALL	AUT	1983
NEUHOF_1	AUT	1969
OENUS	AUT	1977
P4523_80	AUT	NA
PROBSTDORF	AUT	1982
PROBSTDORF	AUT	1967
PROBSTDORF	AUT	1969
PROTEKTOR	AUT	1974
RINNER_WIN	AUT	1972
VERBESSERTE	AUT	1962
REICHERSBER	AUT	1955
FERDINAND	AUT	1982
CAPO	AUT	1990
PROBSTDORF	AUT	1963
ALBATROS	BEL	1950
ALTER_DE_G	BEL	NA
PRECOCE_DE	BEL	1930
RENVAL	BEL	1977
CAPITAINE	BEL	1982
2109_36	BGR	1976
2678_6	BGR	NA
2838_39	BGR	NA
KREMENA	BGR	1978
K14	BGR	NA
KRAPETZ	BGR	1982
SADOVO_SU	BGR	1979
SADOVO_1	BGR	1972
TRAYANA	BGR	1981
830_22	BGR	NA
HARUS	CAN	1985
CDC_CLAIR	CAN	1997

ARINA	CHE	1981
BERNINA	CHE	1983
CH73185	CHE	1980
CH73241	CHE	1979
CH73425	CHE	1979
CH73641	CHE	1982
FERMO	CHE	1978
TAMBO	CHE	1985
CAMINO	CHE	1993
IWWRN_85_	CHL	NA
CAR1608	CHL	NA
QUENOA_INI	CHL	NA
DANUBIA	CZE	1984
OSKA	CZE	1971
BRANKA	CZE	1988
SOLARIS	CZE	1976
BLAVA	CZE	1992
ALKA	CZE	1995
BRUTA	CZE	1994
MONA	CZE	1994
SIRIA	CZE	1994
SIDA	CZE	1993
SIMONA	CZE	1991
SOFIA	CZE	1985
VLADA	CZE	1990
REGINA	CZE	1981
ALMUS	DEU	1973
CAROLUS	DEU	1985
DISPONENT	DEU	1980
GRANADA	DEU	1980
HOCHLAND	DEU	1955
HOLZAPFELS_	DEU	1917
TENOR	DEU	1960
TRUBILO	DEU	1948
TRANE	DEU	1994
PETRUS	DEU	1996
BOVICTUS	DEU	1993
RONOS	DEU	1988
BONTARIS	DEU	1990
MILLER	DNK	2001
MANERO	ESP	NA
SAN_RAFAEL	ESP	1964
SANSA	ESP	1988
VAKKA	FIN	1953
DI37_12_2	FRA	NA
DI50_12	FRA	NA
ABEL	FRA	1961
ABO	FRA	1977
ALCY_CAMBI	FRA	1956
ALTERNA_TO	FRA	1957
ALTO	FRA	1975
AUBE	FRA	1960
BALI	FRA	1975
BIZEL	FRA	1966
BRACO	FRA	1977
CAPET	FRA	1989
CEREALOR	FRA	1964
CHAMBORD	FRA	1960
CORSODOR	FRA	1987
COTE_D_OR	FRA	1937
COURTAL	FRA	1943
DECLIC	FRA	1985
DI7003_1_12	FRA	NA
DI7202_103	FRA	NA
DI7210_15_1	FRA	NA
ECRIN	FRA	1985
ESPOIR	FRA	1950
FANION	FRA	1978
FOISON	FRA	1985
FROIDURE	FRA	1960

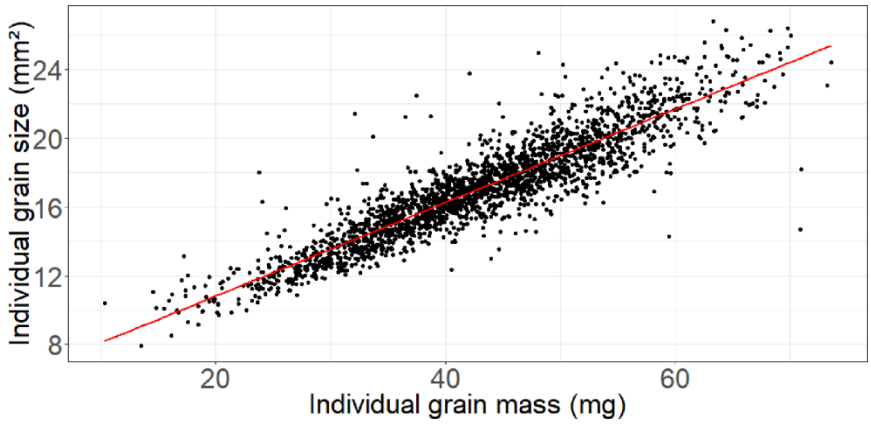
GELPA	FRA	1967
GERMINAL	FRA	1969
GH126	FRA	NA
HEURTEBISE	FRA	1954
HUGO	FRA	1988
LANGUEDOC	FRA	1962
MONTJOIE	FRA	1969
NECTAR	FRA	1985
PRESTIGE	FRA	1969
PRIMEPI	FRA	1962
PROQUAL	FRA	1959
RALLYE	FRA	1963
RIGOUDI	FRA	1966
TARASQUE	FRA	1981
TORRIL	FRA	1989
ULM	FRA	1983
MAXIMUM_C	FRA	1936
AJAX	FRA	1994
BOURGOGNE	FRA	1995
NOBLET	FRA	1995
ORMIL	FRA	1996
VIENOY	FRA	1994
BEHERT	FRA	1994
TALDOR	FRA	1997
ASVM4_BEA	FRA	1994
COMTAL	FRA	1973
CORIN	GBR	1976
CWW1857_1	GBR	1980
FLORIO	GBR	1993
HOLDFAST	GBR	1936
PAGEANT	GBR	1981
STETSON	GBR	1981
MADRIGAL	GBR	1995
MALACCA	GBR	1997
SIROKA	HRV	1984
ZG_IPK_4387	HRV	NA
ZG1004_82	HRV	1982
ZG7865_83	HRV	1983
CERERA	HRV	1993
ZITARKA_1	HRV	1985
ZG3073_84	HRV	1984
ARPADHALO	HUN	NA
HERKULES	HUN	NA
GK_CSUROS	HUN	1991
GK_KALAKA	HUN	NA
HATVANI_40	HUN	NA
KARCAGI_14	HUN	1967
MV03_86	HUN	1986
MV06_80	HUN	1980
MV17_86	HUN	1986
MV23_77	HUN	1978
MV30_86	HUN	1986
MV33_86	HUN	1986
MV119_88	HUN	1988
GK_SAGVARI	HUN	NA
MV_MAGVAS	HUN	1998
MV_MARTIN	HUN	1998
GK_ZUGOLY	HUN	1994
MV233_99	HUN	1999
MV309_99	HUN	1999
MV314_99	HUN	1999
MV_EMMA	HUN	1994
MV_VEKNI	HUN	NA
OWL_Col_No	IRN	NA
AUTONOMIA	ITA	1938
COLORBEN_4	ITA	1966
F51	ITA	1961
IDRA	ITA	1994
JACOMETTI_	ITA	1966
OVEST	ITA	1961

ROMA	ITA	1935
SALTO	ITA	1939
SAN_MAURO	ITA	1990
SALMONE	ITA	1980
LORETO	ITA	1982
DEMAR_4	ITA	1965
HOKUEI	JPN	1965
HOROSHIRI_	JPN	1974
MUTSUBENK	JPN	1950
TAISETSU_KO	JPN	1990
BONNY	KEN	1966
BERMET	KGZ	1998
ERYTHROSPE	KGZ	1979
TILEK	KGZ	2001
ALMA	LTU	NA
OBRII_DNEST	MDA	NA
SKOPJANKA	MKD	1982
APOLLO	NLD	1958
BEAUBOURG	NLD	1993
SEMPER	NLD	1998
RIDA	NOR	1977
PEGASUS	NZL	1985
KOTARE	NZL	1984
DANKOWSKA	POL	1920
JANA	POL	1975
LUNA	POL	1970
ZETA	POL	1978
DACIA	ROU	1971
FAVORIT	ROU	1970
LOVRIN_29	ROU	1975
MOLDOVA	ROU	1970
TURDA_95	ROU	1995
ANIVERSAR	ROU	1986
MAGISTRAL	ROU	1998
DRUZHBA	RUS	1981
ERSHOVSKAJ	RUS	1973
KRASNODAR	RUS	1973
BELGORODSK	RUS	1997
PAMYATI_FE	RUS	1993
ERMAK	RUS	2001
PALPICH	RUS	2004
SELYANKA	RUS	2002
MALYSA	SVK	1998
RUBIS	SWE	1962
TIMMO	SWE	1982
ES14_SITTA_	TCA	NA
308_02_2_W	TCA	NA
BILINMIYEN9	TCA	NA
TCI962395	TCA	NA
AKULA_BONI	TCA	NA
BONITO_KA	TCA	NA
GONCHA	TKM	NA
GARAGUM	TKM	2000
WWL860104	TUR	NA
CIT89073	TUR	NA
GEREK79	TUR	1979
TCI960735	TUR	NA
LUTESCENS_	UKR	1984
LUTESCENS_	UKR	1985
LUTESCENS_	UKR	1984
MIRONOVSK	UKR	1960
OBRII	UKR	1983
VESELOPODO	UKR	1938
DONCHANKA	UKR	1995
LUTESCENS_	UKR	1991
DONETSKAYA	UKR	1990
MIRONOVSK	UKR	1995
MIRONOVSK	UKR	1992
MIRLEBEN	UKR	1993
FEDOROVKA	UKR	1993

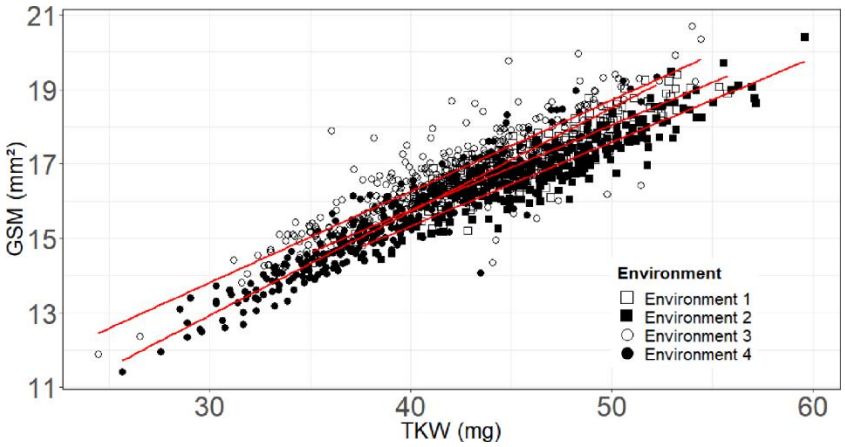
ODESKA_161	UKR	1995
ODESKA_267	UKR	1997
MIRONIVSKA	UKR	1999
KHVYLIA	UKR	1995
ARGEE	USA	1976
BENNI	USA	1980
BOLAL	USA	1970
BUCKSKIN	USA	1973
CARSON	USA	1986
CHARCOAL_B	USA	1977
CHARMANY	USA	1984
COLT	USA	1983
COMPACT	USA	1974
DOWNY	USA	1976
HIPLAINS	USA	1973
MCNAIR_158	USA	1973
MCNAIR_701	USA	1973
MONON	USA	1959
NUGAINES	USA	1965
OMAR	USA	1955
PAYNE	USA	1977
REDLAND	USA	1986
ROSE	USA	1981
SALUDA	USA	1983
SCOUT_66	USA	1967
SENTINEL	USA	1973
STACY	USA	1980
STADLER	USA	1964
STODDARD	USA	1973
TAM_108	USA	1984
TECUMSEH	USA	1974
UTE	USA	1983
WHEELER	USA	1980
YORKSTAR	USA	1968
NORWIN	USA	1984
ARTHUR	USA	1968
ROD	USA	1992
MACNAIR181	USA	1981
LONGHORN	USA	1991
PRONGHORN	USA	1996
MCGUIRE	USA	1996
RAMPART	USA	1996
GR915	USA	1991
P29	USA	1996
PROWERS_9	USA	1999
TAMEX	USA	1980
COUGAR	USA	1999
PAT	USA	2001
EDWIN	USA	1999
ADENA	USA	1984
HOSAR	USA	1930
SUSQUEHAN	USA	1988
MUSTANG	USA	1983
ALBIDUM	UZB	1974
AGROUNIA	YUG	1987
NS_RANA_1	YUG	1975
SUTJESKA	YUG	1979
ZITNICA	YUG	1982
UNA	YUG	1983
CRVENA_ZVE	YUG	1967



Supplementary Figure S2-1: Cumulative rainfall (mm) and changes in the available soil water for the control (blue line) and stressed (red line) plots, for the two seasons (2016 and 2017). *Soil field capacity, limit of easily accessible water and permanent wilting point were calculated from soil water retention characteristics determined over the soil profile.*



Supplementary Figure S2-2: Individual grain size (projected area) in relation to individual grain mass for 24 micro-plots (n=2,303). *The red diagonal represents the linear regression between individual grain projected area and individual grain mass (R^2=0.83).*



Supplementary Figure S2-3: GSM (grain size mean) in relation to TKW (thousand kernel weight) for the four environments. *The red diagonal represents the linear regressions between GSM and TKW for each of four environments. E1 (well-watered, 2016): R^2=0.81; E2 (water-deficit, 2016): R^2=0.83; E3 (well-watered, 2017): R^2=0.78; E4 (water-deficit, 2017): R^2=0.89.*

Supplementary Table S2-3: Descriptive analysis of bulk grain samples. *For each environment, descriptive statistics were calculated for all grains composing the bulk samples harvested on each micro-plot. E1 (well-watered, 2016), E2 (water-deficit, 2016), E3 (well-watered, 2017) and E4 (water-deficit, 2017).*

	Environment 1	Environment 2	Environment 3	Environment 4
Number of bulks	352	350	339	340
Minimum number of grains per bulk	400	369	179	207
Maximum number of grains per bulk	1724	696	418	447
Average number of grains per bulk	497	509	285	306
Minimum area (mm²)	2.77	3.29	5.54	2.67
Maximum area (mm²)	29.78	29.39	29.22	29.98

Supplementary Table S2-4: Description for each chromosomal zone of interest. *We identify and report the characteristics of each chromosomal zone of interest (64 QTL associated with grain size variance (GSV)). (1)Number of SNP associated with a trait in this chromosomal zone, (2)Maximum LOD score on the significant associated SNP, (3) Physical position on the chromosome (Chr) [36] (4)Minor allele frequency (MAF), (4)Expressed in terms of the absolute value for each trait. E1 (well-watered, 2016), E2 (water-deficit, 2016), E3 (well-watered, 2017) and E4 (water-deficit, 2017).*

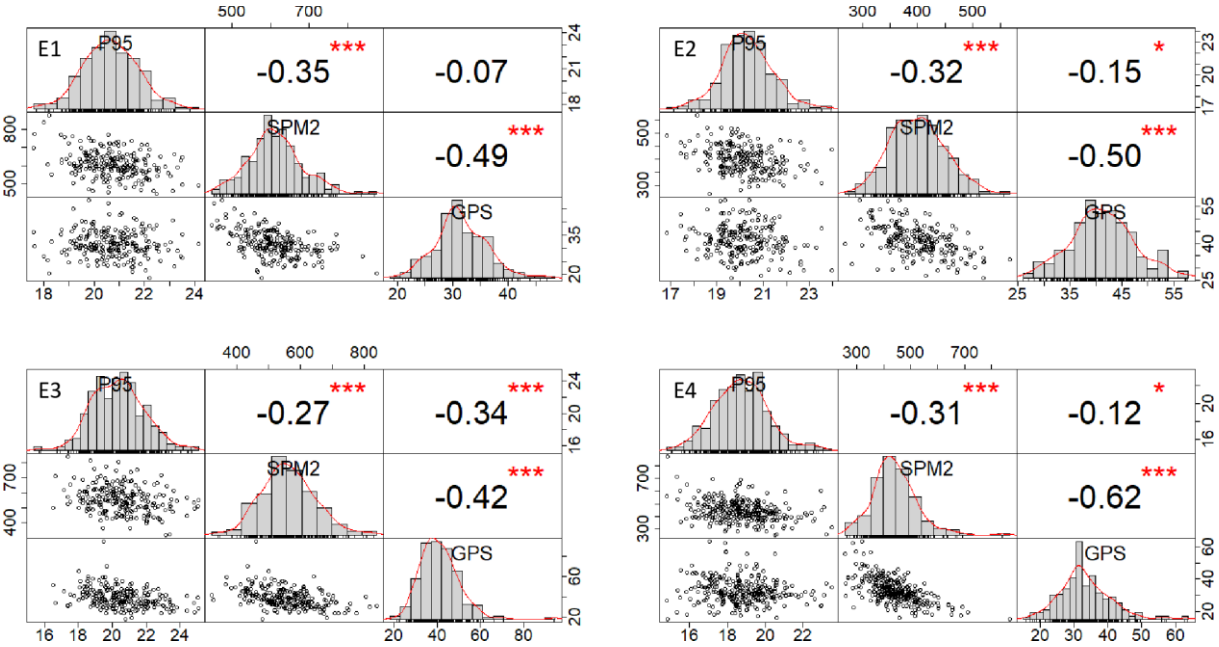
Zone	Chr	Trait	Env	Nb.SNP(1)	LOD.score. max(2)	Position(3)		MAF(4)		Effect(5)	
						Min	Max	Mean	SD	Mean	SD
1	1A	GSV	E1	70	4.05	0.00E +00	5.53E +08	0.20	0.09	-0.47	0.11
1	1A	SPM2	E1	17	4.54	0.00E +00	5.53E +08	0.27	0.08	-5.40	20.30
1	1A	GPS	E1	3	3.14	0.00E +00	5.53E +08	0.10	0.00	-1.89	0.00
1	1A	GPM2	E1	23	3.82	0.00E +00	5.53E +08	0.27	0.03	-684.46	37.92
1	1A	TKW	E1	10	3.69	0.00E +00	5.53E +08	0.26	0.00	0.98	0.04
2	2A	GSV	E1	13	3.35	8.02E +07	9.00E +07	0.10	0.01	-0.58	0.02
2	2A	GPM2	E1	50	4.12	8.02E +07	9.00E +07	0.19	0.06	-824.81	245.82
3	2A	GSV	E1	18	3.89	7.33E +08	7.35E +08	0.19	0.06	0.47	0.08

4	2B	GSV	E1	7	3.53	2.29E+07	7.88E+08	0.26	0.15	-0.08	0.46
4	2B	SPM2	E1	12	4.47	2.29E+07	7.88E+08	0.20	0.05	20.55	13.99
4	2B	GPS	E1	32	4.04	2.29E+07	7.88E+08	0.39	0.02	1.14	0.43
4	2B	GPM2	E1	3	3.09	2.29E+07	7.88E+08	0.09	0.03	-1017.11	138.37
4	2B	TKW	E1	82	4.28	2.29E+07	7.88E+08	0.31	0.08	0.67	0.76
5	2B	GSV	E1	14	4.24	7.76E+08	7.78E+08	0.25	0.05	0.42	0.03
5	2B	GPM2	E1	1	3.31	7.76E+08	7.78E+08	0.49	NA	-606.90	NA
6	3A	GSV	E1	95	4.08	3.59E+07	3.88E+07	0.48	0.01	0.36	0.07
7	3B	GSV	E1	55	3.40	5.77E+08	8.09E+08	0.17	0.06	-0.47	0.08
7	3B	SPM2	E1	211	5.59	5.77E+08	8.09E+08	0.41	0.03	-19.91	1.15
7	3B	GPM2	E1	88	4.54	5.77E+08	8.09E+08	0.30	0.06	-676.04	48.58
7	3B	GPS	E1	1	3.37	5.77E+08	8.09E+08	0.12	NA	1.79	NA
7	3B	TKW	E1	28	5.48	5.77E+08	8.09E+08	0.33	0.07	-0.97	0.17
8	4A	GSV	E1	237	4.53	6.27E+08	6.88E+08	0.10	0.02	0.63	0.07
9	5A	GSV	E1	8	3.28	6.53E+08	6.58E+08	0.18	0.03	-0.45	0.03
9	5A	TKW	E1	1	3.26	6.53E+08	6.58E+08	0.07	NA	-1.66	NA
10	5D	GSV	E1	161	4.28	4.04E+07	3.48E+08	0.43	0.10	0.10	0.35
10	5D	GPS	E1	26	3.51	4.04E+07	3.48E+08	0.45	0.09	-0.58	1.03
11	6A	GSV	E1	86	4.36	6.14E+08	6.17E+08	0.45	0.02	0.34	0.11
12	6B	GSV	E1	293	4.61	2.90E+07	5.42E+08	0.19	0.05	-0.42	0.14

12	6B	GPM2	E1	106	4.54	2.90E+07	5.42E+08	0.12	0.08	-950.71	625.41
12	6B	TKW	E1	1	3.06	2.90E+07	5.42E+08	0.05	NA	-1.90	NA
13	7A	GSV	E1	19	4.32	1.44E+07	1.70E+07	0.43	0.02	-0.38	0.02
14	7A	GSV	E1	11	3.95	2.02E+07	2.39E+07	0.08	0.01	-0.68	0.06
15	7A	GSV	E1	76	6.64	6.40E+08	6.55E+08	0.16	0.03	-0.65	0.07
15	7A	TKW	E1	8	3.97	6.40E+08	6.55E+08	0.23	0.01	-1.13	0.07
16	7D	GSV	E1	6	4.04	3.98E+08	5.00E+08	0.12	0.04	-0.56	0.09
16	7D	TKW	E1	1	3.45	3.98E+08	5.00E+08	0.18	NA	-1.18	NA
17	1A	GSV	E2	70	4.42	2.43E+07	4.02E+07	0.21	0.05	-0.35	0.04
17	1A	SPM2	E2	1	3.17	2.43E+07	4.02E+07	0.47	NA	11.93	NA
18	1A	GSV	E2	15	4.14	5.83E+08	5.86E+08	0.12	0.02	-0.46	0.04
19	2B	GSV	E2	19	3.93	2.49E+07	2.67E+07	0.19	0.01	-0.37	0.01
20	2B	GSV	E2	3	4.55	7.96E+08	7.97E+08	0.11	0.00	-0.49	0.04
21	2B	GSV	E2	4	4.72	7.94E+08	7.96E+08	0.21	0.05	-0.41	0.05
22	3A	GSV	E2	27	3.41	3.59E+07	3.87E+07	0.49	0.00	0.28	0.00
23	3A	GSV	E2	7	3.70	4.41E+08	5.66E+08	0.13	0.01	-0.42	0.02
23	3A	TKW	E2	64	4.04	4.41E+08	5.66E+08	0.18	0.04	-1.21	0.32
23	3A	GPM2	E2	9	4.07	4.41E+08	5.66E+08	0.08	0.03	-1034.82	268.01
24	3A	GSV	E2	48	3.36	7.09E+08	7.11E+08	0.33	0.04	0.30	0.02
24	3A	SPM2	E2	41	3.42	7.09E+08	7.11E+08	0.22	0.00	-14.03	0.27

Supplementary Table S2-5: Heritabilities of GSV and yield components. *For each environment, the broad sense heritabilities (see Materials and methods) of all yield components were calculated and compared between environments. GSV: Grain size variance, SPM2: number of spikes per m², GPS: number of grains per spike, GPM2: number of grains/m², TKW: thousand kernel weight (g at 15% moisture content), GY: grain yield (t/ha at 15% moisture content). E1 (well-watered, 2016), E2 (water-deficit, 2016), E3 (well-watered, 2017) and E4 (water-deficit, 2017).*

	SPM2	GPS	GPM2	TKW	GSV	GY
Environment 1	0.60	0.55	0.82	0.91	0.85	0.77
Environment 2	0.61	0.51	0.76	0.92	0.82	0.71
Environment 3	0.48	0.52	0.85	0.96	0.69	0.80
Environment 4	0.58	0.80	0.75	0.91	0.52	0.74



Supplementary Figure S2-4: Pearson correlations among grain sizes variance and yield components. *The diagonal panel shows histograms of each trait. The lower and upper triangular panels show, respectively, the scatter plot and the Pearson correlation coefficient between the two traits. P95: 95th percentile of grain sizes, SPM2: number of spikes per m², GPS: number of grains per spike. E1 (well-watered, 2016), E2 (water-deficit, 2016), E3 (well-watered, 2017) and E4 (water-deficit, 2017). '.' : P-value<0.1 ; '*' : P-value<0.05 ; '**' : P-value<0.01 ; '***' : P-value<0.001.*

Les données étant de taille conséquente, elles sont disponibles sur demande à l'auteur.

Supplementary Table S2-6: Description for each significant SNP related traits. *Characteristics (Environment (Env), Trait, Chromosome (Chr), Name of the SNP (SNP), Physical position, MAF, Effect, LOD score and Percentage of the total variance of each trait explained by the significant SNP) of each significant SNP are identified and reported. (1) Physical position on the chromosome (Chr) [36], (2)Minor allele frequency (MAF), (3)Expressed in terms of the absolute value for each trait, (4) LOD score on the significant associated SNP, (5) Percentage of the total variance of each trait explained (r²). E1 (well-watered, 2016), E2 (water-deficit, 2016), E3 (well-watered, 2017) and E4 (water-deficit, 2017).*

CHAPITRE 3 : DU GRAIN MOYEN AU GRAIN INDIVIDUEL : APPORT DU CHANGEMENT D'ECHELLE DANS L'ETUDE DES BASES PHYSIOLOGIQUES DES DIFFERENCES GENOTYPIQUES DE PMG

Partie 1: Présentation du chapitre

Historiquement, il est généralement admis que la variabilité génétique du PMG a été construite à partir du trade-off entre le nombre de grains par m² et le PMG. Or, la majorité des études portant sur le déterminisme génétique du PMG sont réalisées à l'échelle du grain moyen, sans prendre en compte la variabilité des masses de grains individuels. L'objectif principal de ce chapitre est donc de montrer en quoi un changement d'échelle, réalisé en passant d'analyses sur la base du grain moyen (PMG) à des analyses sur la base d'un ensemble de grains individuels, permet de mieux comprendre les différences de PMG existant entre des cultivars modernes. En particulier ce travail permettra de déterminer si les différences génotypiques de PMG sont uniquement le fruit de ce trade-off ou possède un déterminisme intrinsèque. Dans un second temps, il s'agira de compléter et de généraliser notre compréhension des différences génotypiques de PMG obtenues grâce au changement d'échelle en ajoutant une prise en compte explicite des positions des grains individuels au sein d'un épi.

I. Structuration du chapitre 3

Ce chapitre est structuré en trois parties. Dans la première partie, qui correspond à la présentation du chapitre, il s'agit de décrire l'expérimentation dont sont issus les résultats présentés dans les parties 2 et 3. La partie 2 de ce chapitre utilisant une partie des données correspond à un article soumis à la revue *Field Crops Research*. La partie 3 de ce chapitre utilise une autre partie des données générées par cette expérimentation et est complémentaire aux résultats de la partie 2.

II. Expérimentation : Matériels et méthodes

2.1. Choix des cultivars

Pour explorer les différences génotypiques de PMG, le matériel génétique doit être choisi dans le but de minimiser les effets sur le PMG du trade-off entre le nombre de grains par m² et le PMG et de maximiser d'éventuels effets intrinsèques. Pour cela, le matériel génétique choisi doit présenter une gamme de variation réduite du nombre de grains par m². Nous avons donc décidé d'utiliser du matériel génétique moderne et bien adaptés, qui présente une gamme de variation du nombre de grains par m² restreinte. Pour comprendre les différences de PMG entre

des cultivars modernes et bien adaptés, deux paires de cultivars à faible PMG (low-AGW cultivars) ou à fort PMG (high-AGW cultivars) ont ainsi été sélectionnés parmi une gamme de cultivars modernes de blé d'hiver testés en phase de post-inscription. Ce choix a été fait sur la base d'avis d'experts (J.-C. Deswartes et P. Du Cheyron, Arvalis-Institut du végétal, communication personnelle). Les deux paires de cultivars ont été sélectionnées en fonction de leurs différences en nombre de grains par m² et en AGW. Altigo (obtenu par Nickerson et enregistré en France en 2007) et Solehio (Momont, 2009) (cultivars à fort AGW) se caractérisent par des PMG plus élevés et des nombres de grains par m² plus faibles que Cellule (Florimond Desprez, 2012) et SY Moisson (Syngenta, 2012) (cultivars à faible AGW) (Figures 3-1 et 3-2).

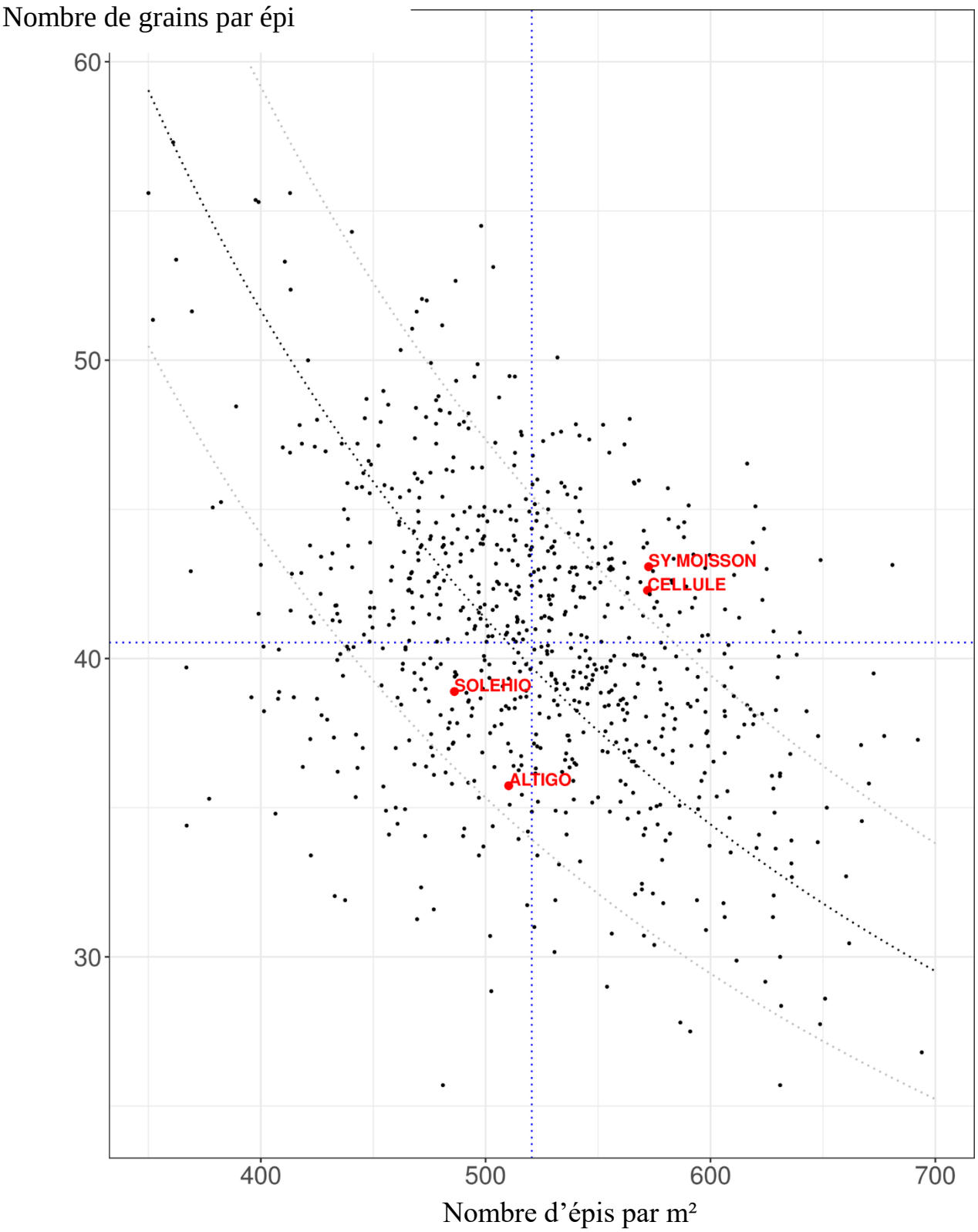


Figure 3-1 : Positionnement des cultivars Altigo, Solehio, Cellule et SY Moisson en fonction de leurs nombres d'épis par m² et leur nombre de grains par épi par rapport à un panel de cultivars dans des essais post-inscription multi-environnements (entre 2007 et 2019).

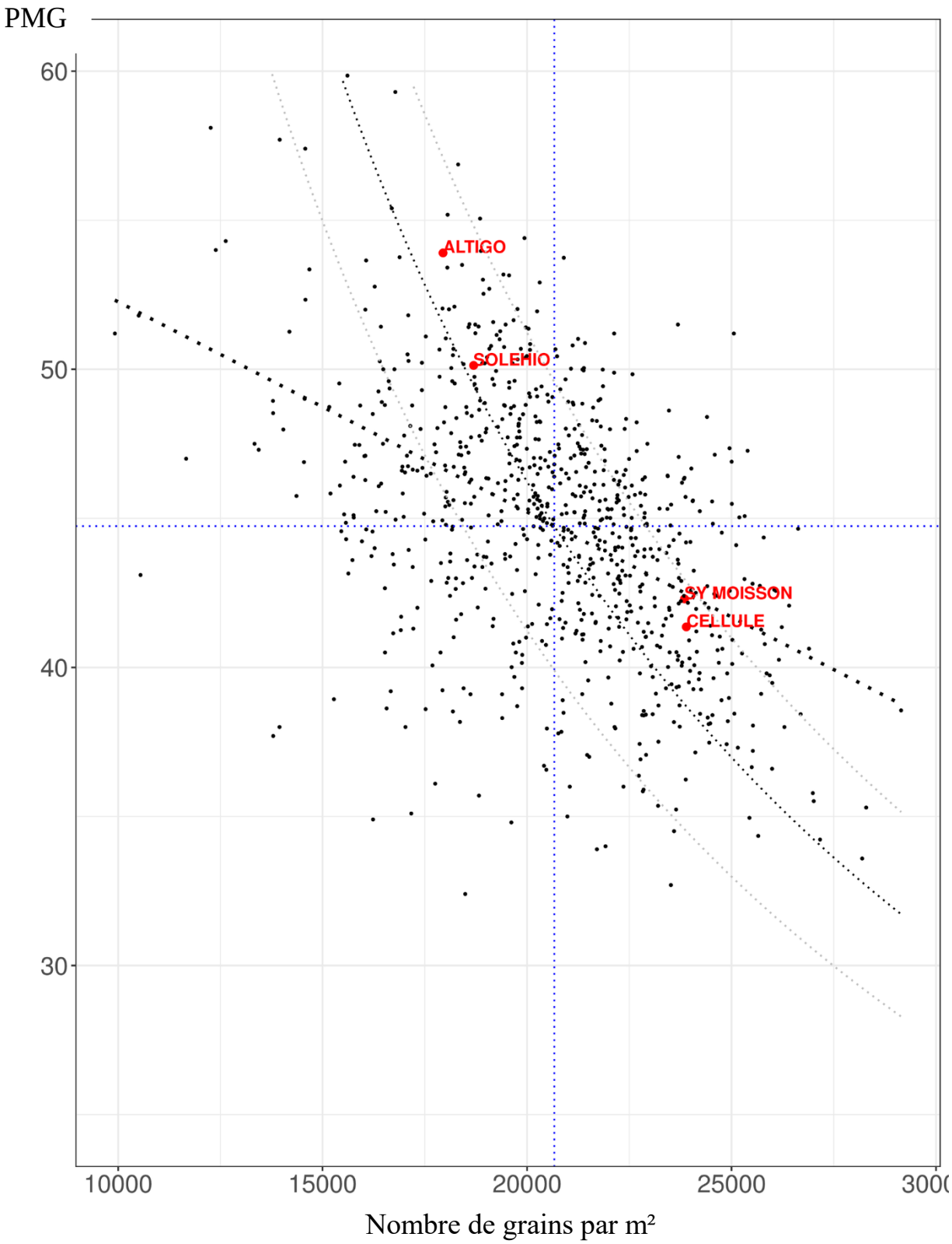


Figure 3-2 : Positionnement des cultivars Altigo, Solehio, Cellule et SY Moisson en fonction de leurs nombres de grains par m² et leur PMG (Poids de Mille Grains) par rapport à un panel de cultivars dans des essais post-inscription multi-environnements.

2.2. Design expérimental

L'expérience a été réalisée à INRAE de Clermont-Ferrand (45 ° 78 'N, 3 ° 08' E, 401 m asl) en 2017/2018 en utilisant la plateforme Pheno3C de phénotypage haut débit. Pour rappel, comme dans l'expérimentation du chapitre 3, la plateforme Pheno3C se compose de huit blocs, dont quatre sont réservés aux micro-parcelles témoins irriguées si nécessaire et quatre autres blocs où les micro-parcelles sont couvertes par des abris anti-pluie automatiques pour générer un stress hydrique contrôlé (description complète dans le Chapitre 2). Chaque cultivar a été semé en novembre 2017 dans une micro-parcelle au sein de chacun des huit blocs avec une densité de 250 grains.m^{-2}. Pour chaque cultivar, il y a donc quatre micro-parcelles en condition témoin et quatre en condition de stress hydrique. Chaque micro-parcelle (huit rangs de 100 cm de long, 17 cm d'inter-rangs, 2,1 m^2 de surface) a été gérée selon les pratiques agronomiques locales.

Du semis à la récolte (juillet 2018), les micro-parcelles en condition témoin et celles en condition de stress hydrique ont reçu respectivement 396 et 175 mm de pluie. Sur la période allant du début de la mise en place des abris anti-pluie le 1er mars 2018 jusqu'à la récolte, les micro-parcelles ont reçu respectivement 238 et 17 mm de pluie.

Insistons sur le fait que notre objectif dans les parties 2 et 3 n'était pas d'étudier les réponses au stress hydrique, mais simplement de créer deux environnements contrastés pour tester la généricité des différences génotypiques de PMG et de ses déterminants.

2.3. Échantillonnage des épis

Dans chaque micro-parcelle, le nombre d'épis par m² a été déterminé après anthèse en comptant tous les épis sur deux transects de 1 m de long dans les deux rangs centraux de chaque micro-parcelle.

Au sein de chaque micro-parcelle et à maturité physiologique, 130 épis en moyenne ont été échantillonnés manuellement, en utilisant les deux rangs centraux pour éviter les effets de bordure. Pour éviter tout biais dans la sélection des épis, des échantillons d'environ 25 épis adjacents ont été prélevés pour composer l'échantillon de 130 épis par micro-parcelle.

Tous les épis ont été passés à l'étuve (60 ° C pendant 48 heures) avant de déterminer la masse sèche des épis individuels à maturité (SDWm). La distribution des masses sèches des 130 épis individuels a été réalisée pour chaque micro-parcelle et chaque cultivar. Sur la base de cette

distribution de masses d'épis, 24 épis ont été sélectionnés pour analyser les différences génotypiques de masse de grains individuels en prenant en compte la position du grain. Les épis ont été choisis de manière à représenter la diversité des épis. Ces épis ont donc été sélectionnés de la manière suivante : les valeurs des médiane, premier quartile et troisième quartile ont été calculés pour chacune des distributions. Ensuite, pour chacune de ces classes d'épis (médiane, premier quartile, troisième quartile), huit épis de masse proche de la valeur cible ont été sous-échantillonnés (respectivement quatre au-dessus et en-dessous de chaque valeur cible) afin d'avoir des répétitions pour chaque classe d'épis. Au total, 24 épis ont été choisis par micro-parcelle et par cultivar (Figure 3-3). La centaine d'épis restants par micro-parcelle après l'extraction des 24 épis serviront à produire un premier jeu de données utilisé dans la partie 2 du chapitre. Les 24 épis sous-échantillonnés par micro-parcelle serviront à produire un deuxième jeu de données analysé dans la partie 3 du chapitre.

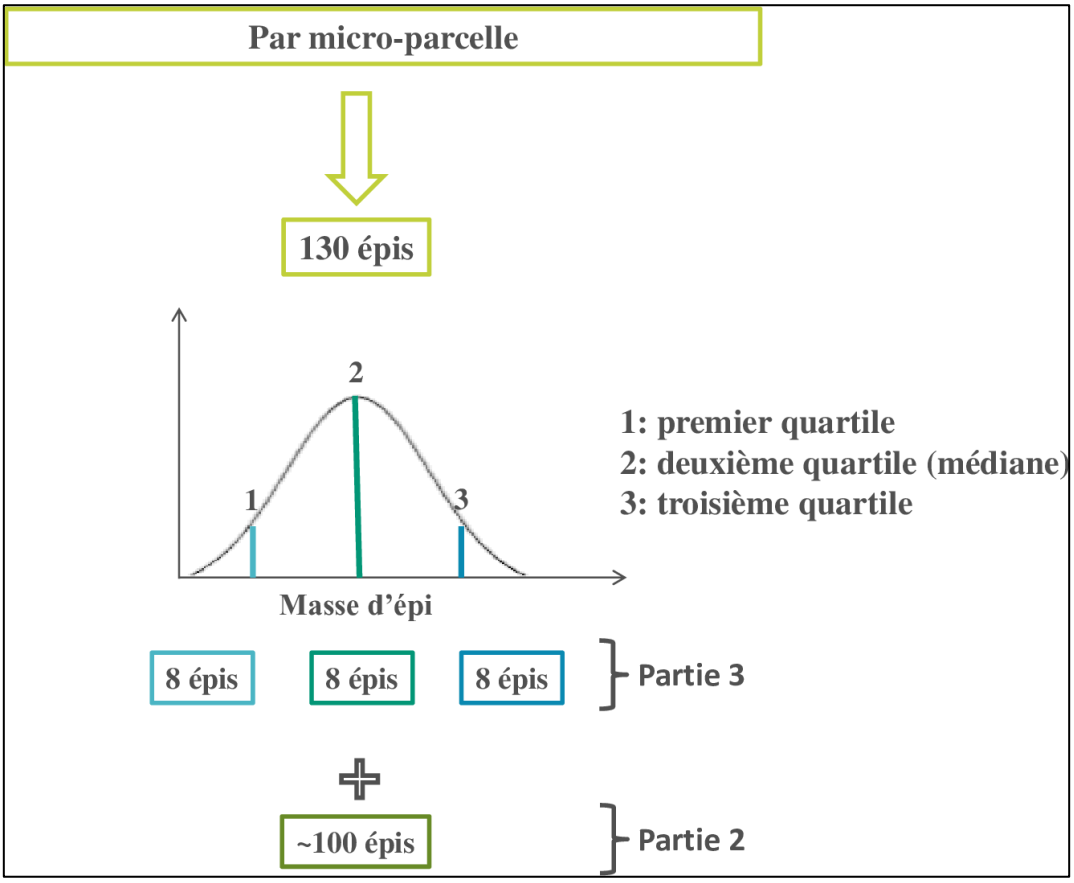


Figure 3-3 : Méthode d'échantillonnage des épis à partir d'un prélèvement de 130 épis par micro-parcelle par génotype. La centaine d'épis sera utilisée dans les analyses de la partie 2 du chapitre 4. Les 24 épis (8 épis*3 classes d'épis) seront utilisés dans les analyses de la partie 3 du chapitre 3.

Partie 2: Physiological bases of genotypic differences in average grain weight in wheat: scaling down from plot to individual grain in elite material

Article soumis à la revue *Field Crops Research* le 06/08/2020.

A. Beral[1], C. Girousse[1], J. Le Gouis[1], V. Allard[1], Gustavo A. Slafer [2,3]

[1]INRAE, UCA, UMR 1095 GDEC, 5 Chemin de Beaulieu, F-63000 Clermont-Ferrand, France.

[2]Department of Crop and Forest Sciences, University of Lleida – AGROTECNIO Center, Av. R. Roure 191, 25198 Lleida, Spain

[3]ICREA, Catalonian Institution for Research and Advanced Studies, Barcelona, Spain

Corresponding author: aurore.beral@inrae.fr

I. Introduction

Yield of bread wheat can be decomposed into two major components: grain number per m² and average grain weight (AGW), often expressed as the thousand kernel weight. It has been shown that grain number per m² is the main determinant of grain yield variations resulting from variations in environmental and/or genetic factors. In particular, the grain yield increases observed over the last fifty years have been shown to have been realised mainly through increases in grain number per m² - rather than through increases in AGW (e.g. Fischer, 2008; Mondal *et al.*, 2020; Slafer *et al.*, 2014). Nevertheless, some authors have drawn attention to the need to increase AGW if we are to continue to gain increases in wheat yield potential (Calderini and Ortiz-Monasterio, 2003). Moreover, a number of studies have identified genetic determinants for AGW (e.g. Farré *et al*., 2016; Simmonds *et al.*, 2014).

A prerequisite for raising yield through AGW is to avoid the critical trade-off that exists between grain number per m² and AGW under both environmental and genetic variations (Slafer *et al.*, 2015; Slafer and Savin, 1994). For example, it has been observed that across environments, increases in AGW are frequently related to conditions that limit the establishment of grain number per m² (Slafer *et al.*, 2014). Similarly, genotypic differences in AGW are often associated with differential strategies for grain setting (Slafer *et al.*, 2014). Therefore, selecting for higher AGW with a view to obtaining useful yield gains must be achieved without the significant reductions in grain number as implied by the above trade-off. That it is possible to create genetic variability that escapes this trade-off has already been partially demonstrated. Bustos *et al.* (2013) crossed two cultivars, both of which exhibited high yield potential but one via high grain number and the other via high AGW. Within the resulting DH-population, these authors identified recombinants carrying both traits.

To maximise the efficiency of this strategy, a key objective must be to identify parental lines with high AGW caused by specific genetic determinism, rather than through the indirect consequence of reduced grain number per m². To target the specific determinism of AGW, this must be isolated from the 'populational effects' usually considered to be the main drivers of the trade-off. Here, populational effects refers to the elevated proportion of smaller grains that usually accompanies an increase in grain number per m² (Acreche and Slafer, 2006). Indeed, an increase in grain number per m² achieved through an increase of the number of spikes per m² leads to an increase in the number of secondary tillers that tend to carry a higher proportion of

smaller grains (Xu *et al.*, 2015). Similarly, an increase in grain number per m² achieved through an increase in grain number per spike, also leads to a higher proportion of smaller grains due to the higher number of small grains located in more distal positions within the spikelet and/or in spikelets located in more basal or more apical, positions within the spike (e.g. Baillot *et al.*, 2018; Calderini and Ortiz-Monasterio, 2003; Ferrante *et al.*, 2017). In addition to these populational effects, some of the trade-off occurring with higher grain number per m² can be explained by greater competition between grains for a limited source of assimilates (e.g. Sadras and Denison, 2009 and references therein). The existence of these populational effects implies that to characterise any plot-scale effects on AGW, a study should include analyses at both spike and single-grain scales, if one is to identify elite cultivars producing grains that are constitutively heavier. This 'scale-down' approach may allow confirmation of whether AGW differences observed between cultivars is/is not constitutive in nature – see Model 3 (Box 1) - in addition to the populational effects that always occur – see Models 1 and 2 (Box 1) - and lead eventually to competition effects – see Model 1 (Box 1).

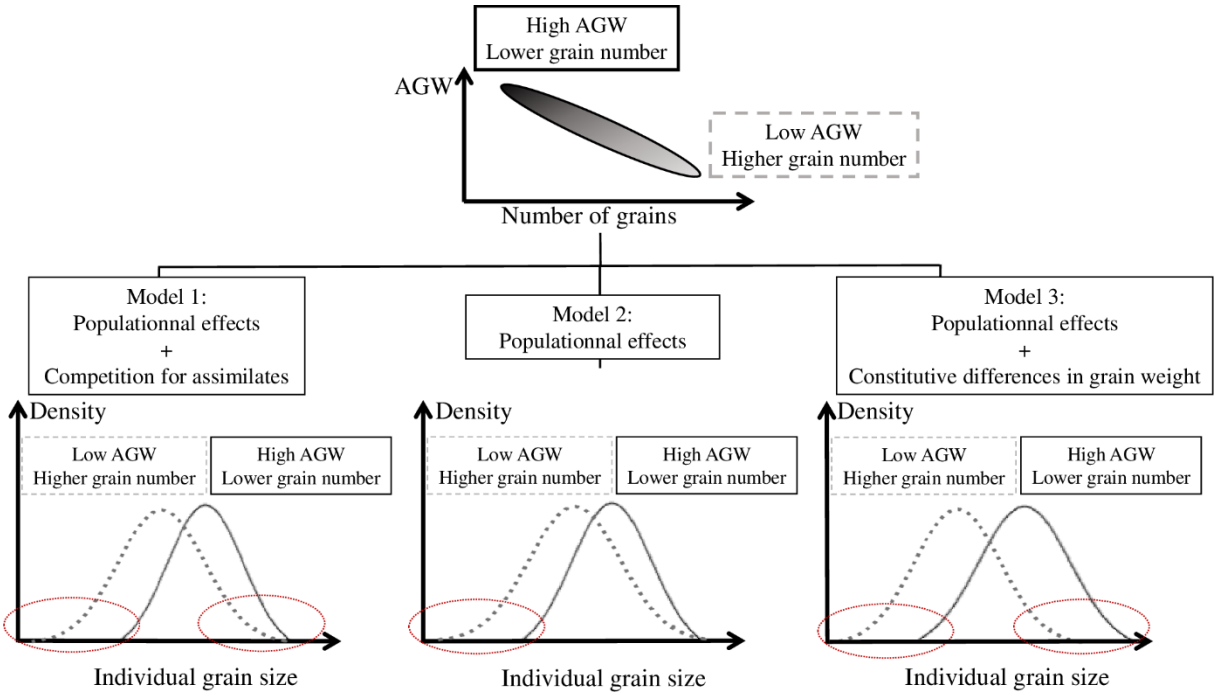
To validate Model 3 (Box 1), genetic material must be chosen carefully so as to minimise the populational effects that would tend to hinder our ability to detect any putative constitutive differences. In previous studies, genotypic differences in AGW have been analysed by comparison of cultivars that explore a wide range of yield potentials. In particular, comparisons between tall and semi-dwarf cultivars (Miralles and Slafer, 1995) or between old and more recent cultivars (Ferrante *et al.*, 2017) were assessed mainly in terms of differences in spike/grain number per m² and consequent differences in the proportions of small grains as the main driver of the AGW variation – see Models 1 and 2 (Box 1). We believe that such comparisons, by maximising the populational effects on AGW, actually reduced our ability to detect true constitutive differences.

Hence, in the present study, we intercompare four modern, well-adapted, high-yielding cultivars, that express robust differences in AGW. As stated above, the identification of true constitutive differences in AGW, demands close attention to differences in individual grain size at different scales: of plot, of spike and of single grain. To help ensure that any differences we might observe in AGW and its putative determination were not specific to any particular cultivar × environment interactions, the analyses were carried out under two contrasting environmental conditions – well-watered vs. water-deficit.

Box 1. Alternative conceptual models for the negative relationship between average grain weight (AGW) and grain number per m² due to genotypic differences. Their significance in terms of yield gains driven by increased AGW.

When trying to understand genotypic differences in AGW, a trade-off between grain number per m² and AGW is commonly observed (Slafer *et al.*, 2014).

In all three models (below) a genetic increase in grain number per m^2 inevitably increases the proportion of smaller grains (i.e. grains in secondary tillers and/or grains in more distal positions in the spikelets and/or grains in spikelets in more,basal or more, apical positions in the spike; (e.g. Slafer *et al.*, 2014)).



Model 1 presents the idea that populational effects are accompanied by altered competition between grains for assimilates. This model fits the premise that increases in the number of grains set per m², increases the competition for assimilates from a limited source. Increased competition for assimilates tends to reduce the size of all grains (red circles) but the penalty is strongest for the smallest (least competitive) grains. Under this model, a consistent gain in grain yield by selecting for high AGW is unlikely to occur due to this functional trade-off. Indeed, even under optimal conditions, a higher AGW will at best help compensate for a decreased number of grains but without generating an overall yield increase. Grain growth is usually sink-limited as shown by the observation that even in modern, high-yielding cultivars (Elias *et al.*, 2016 and references therein) assimilate availability does not limit grain filling (Borras *et al.*,

2004; Borrill *et al.*, 2015; Serrago *et al.*, 2013),. Therefore, it seems unlikely that the competition effects in Model 1 can explain the genetic differences in AGW. Nevertheless, the populational effects central to Model 2 will remain.

Model 2 is based on results developed in studies comparing old vs. recent cultivars and comparing tall vs. semi-dwarf cultivars (Chen *et al.*, 2019; Ferrante *et al.*, 2017; Miralles and Slafer, 1995). Also on studies of the effects of different managements on grain number per m² (Acreche and Slafer, 2006; Feng *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2016). This model reflects that increases in grain number are associated with increase in the proportion of grains that are small (red circle). Under this assumption, a negative relationship between AGW and grain number per m² will occur, even in the absence of competition between grains (e.g. Ferrante *et al.*, 2015). As a consequence, grain yield will not be much increased through a genetic improvement in AGW, as any increase will reflect only that there is a genotypic loss in grain number per m².

Model 3 is based on the hypothesis that cultivars offering high AGW present constitutive differences in grain size. Under this assumption, the AGW increase is reflected in larger grains (red circles) and this is independent of any change in the proportions of grains of different potential size. Consequently, grain yield could be increased by selecting for higher AGW without a reduction in grain number per m² as it would represent an increase in sink strength during grain-filling (expressed under non limiting source conditions). It is argued that Model 3 is probably the most common situation (see above).

II. Materials and methods

2.1. Experimental design

2.1.1. Choice of cultivars

To understand the differences in individual grain-size distributions across modern, well-adapted cultivars, two pairs of cultivars with low AGW (low-AGW cultivars) or high AGW (high-AGW cultivars) were chosen from among a range of registered, modern, high-yielding winter wheat cultivars. This choice was made based on expert advice (J.-C. Deswartes and P. Du Cheyron, Arvalis-Institut du végétal, personal communication). The two pairs of cultivars were selected based on their differences in grain number per m² and in AGW. Altigo (obtained by Nickerson and registered in France in 2007) and Solehio (Momont, 2009) (high-AGW cultivars) are characterised by expressing higher AGWs and lower grain numbers per m² than Cellule (Florimond Desprez, 2012) and SY Moisson (Syngenta, 2012) (low-AGW cultivars). The average yield components of these four cultivars were calculated based on the results of a large number of post-registration field trials made for the French market by Arvalis-Institut du végétal (J.-C. Deswartes, P. Du Cheyron, Arvalis-Institut du végétal, personal communication). We complied results from between 56 and 135 trials where all yield components had been measured and originating from geographical zones (climates/soils) where all cultivars were tested at the same time. The results are presented in Table 3-1.

Table 3-1: Average yield components of each cultivar in multi-environment field trials (Standard deviations in parentheses).

	Altigo	**Solehio**	**Cellule**	**SY Moisson**
Number of trials	56	135	126	57
Years of observation	2007-2013	2009-2017	2012-2019	2012-2019
Spike number per m²	494 (± 92)	487 (± 72)	555 (± 83)	560 (± 86)
Grain number per spike	37 (± 9)	39 (± 5)	43 (± 6)	43 (± 6)
Grain number per m²	17,607 (± 2,729)	18,732 (± 2,688)	23,473 (± 3,269)	23,740 (± 2,831)
Average grain weight (mg grain^{-1})	52 (± 4)	50 (± 4)	41 (± 4)	42 (± 4)
Grain yield (T.ha^{-1})	9.1 (± 1.4)	9.3 (± 1.3)	9.6 (± 1.4)	9.9 (± 1.0)

2.1.2. Experimental design

The field experiment was conducted at INRAE, Clermont-Ferrand (45°78' N, 3°08' E, 401 m asl) using the Pheno3C high-throughput, field-phenotyping platform. The Pheno3C facility consists of eight plots. Four plots are reserved for controls and maintained under the local climate and irrigated (if required) and the remaining four plots can be covered by automatic rain-out shelters to generate a controlled water stress. Each cultivar was sown in November 2017 in a micro-plot within each of the eight plots at a density of 250 grains.m^{-2}. Each micro-plot (eight rows 100 cm long, 17 cm between rows, 2.1 m^2 harvestable area) was managed following local agronomic practices. Each cultivar was grown and compared under two contrasting environmental conditions with respect to water: either well-watered (irrigated) or water-deficit (droughted) using rain-out shelters to block precipitation from March 1 2018 (except for a 17 mm rain event during the last week of April). From sowing to harvest, the well-watered and water-deficit plots received 396 and 175 mm of rainfall, respectively. Calculated from the start of the drought treatment, the un-intercepted rainfalls were 238 and 17 mm in the control and droughted plots, respectively.

We emphasise that our aim was not to study responses to water deficit but merely to create two contrasting background environments to test the consistency of any differences that might appear in AGW and its determinants, thus bringing a greater degree of confidence and robustness to our conclusions.

2.2. Plant sampling and measurements

Within each micro-plot, the number of spikes per m^2 was determined after anthesis by counting all spikes within two, 1-m-long, transects in the central row of each micro-plot.

At physiological maturity, in July 2018, one hundred spikes per micro-plot were sampled from the two central rows to avoid possible edge effects. To avoid bias in the selection of spikes, four separate samples of 25 adjacent spikes were taken per plot to create the 100-spike sample.

All spikes were oven-dried to constant weight (60°C, 48 h) before determining individual spike dry weight at maturity (SDWm). Spikes were threshed individually to separate grains from chaff. Chaff weight at maturity was recorded for each spike.

For each grain sample, AGW, number of grains per spike and single-grain-size metrics were determined with an automatic seed-weighing/-counting device (Opto Agri2, Optomachine, France). The projected area for each grain, in each of the 100 spikes sampled was thus obtained. For simplicity, grain projected area will hereafter be referred as 'grain size'. An average grain size per spike was then calculated based on these individual grain sizes.

Finally, spike dry weight at anthesis (SDWa) was estimated for each spike, using chaff weight at maturity as a proxy, as discussed in Slafer *et al.* (2015) and as used classically in many ecophysiological studies (e.g. Pretini *et al.*, 2020; Rivera-Amado *et al.*, 2019). From SDWa and the grain number per spike, we calculated fruiting efficiency (FE) for individual spikes as the number of grains produced per unit of spike dry weight at anthesis.

The number of grains per m² and the grain yield per micro-plot were estimated, along with the number of spikes per m^2 for each micro-plot and the number of grains per spike and the AGW were determined in the spikes sampled from each micro-plot.

2.3. Statistical analyses

Results were analysed at two different scales: canopy and spike. At the canopy scale, the comparison of mean yield components between cultivars was made per micro-plot. At the spike scale, the comparisons between cultivars were (i) of average grain size per spike and (ii) of the individual grain size per spike were made on the basis of individual spikes. All analyses were carried out separately for the two environmental condition.

2.3.1. Comparison of mean yield components at canopy scale

Within each environmental condition, comparison of the mean yield components (number of spikes per m²; number of grains per spike, number of grains per m², AGW per spike) between cultivars was carried out using Tukey's *post-hoc* test following an ANOVA. For each environmental condition, the ANOVA model corresponded to a randomised complete block design with cultivar and block as fixed effects (n=4).

2.3.2. Comparison of average grain size between pairs of cultivars at the spike scale

For the following analysis, the sole variable accessible was grain size. This is considered a reasonable proxy for grain weight at canopy scale (e.g. Beral *et al.*, 2020). We think it unlikely there is a special effect at spike scale, on the relationship between individual grain weight and individual grain size. We thus avoid transforming individual grain size to individual grain weight and so retain the variable grain size. To compare the differences in average grain size per spike between cultivars, all spikes were considered independently of their micro-plot origins (n=400). The genotypic effect was assessed by accounting for the effects of the different covariates (number of grains per spike, SDWa and FE). Due to the heteroscedasticity and heterogeneity of variance of the residuals, classical ANCOVA could not be used.

A robust analysis of covariance (robust ANCOVA; (Wilcox, 2019) with R package WRS2 (Mair and Wilcox, 2020) was carried out. In brief, the robust ANCOVA does not make any assumptions regarding homoscedasticity or homogeneity of the variance. Nevertheless, this type of analysis allows only for the comparison of two groups. Thus, the four cultivars were pooled into two groups: high-AGW cultivars (i.e. Altigo and Solehio) and low-AGW cultivars (i.e. Cellule and SY Moisson). For each covariate, the nonparametric curves were compared at various design points of the covariate, to cover the whole variability of the covariate, to test the differences between the two groups. Trimmed means (running interval smoothing) for each group (either low- or high-AGW cultivars) at the different design points of the covariate were computed. Then, the trimmed means were calculated for each design point. The statistical test used to compare the groups at each design point of the covariate was Yuen's test on trimmed mean differences (Wilcox, 2019; Yuen, 1974) and adjusted Confidence intervals (CIs) were estimated.

This method was used separately to test the differences between the two pairs of cultivars for three covariates: number of grains per spike, SDWa and FE and the five design points defined for each covariate are shown in Table 3-2.

Table 3-2: Design points chosen for each covariate under both conditions (well-watered and water-deficit) for the robust ANCOVA

Covariate	Well-watered	Water-deficit
Number of grains per spike	15; 25; 35; 45; 55	15; 25; 35; 45; 55
SDWa (g spike^{-1})	0.25; 0.40; 0.55; 0.70; 0.85	0.20; 0.35; 0.50; 0.65; 0.80
FE (grains g_{SDWa}^{-1})	50; 60; 70; 80; 90	50; 60; 70; 80; 90

2.3.3. Comparisons between cultivars of grain size subpopulations at spike scale

Average grain size per spike may mask differences between intra-spike grain subpopulations. To test whether the differences in grain size observed between cultivars were significant for particular grain subpopulations, each grain was classified according to the values of the deciles calculated for each spike for each cultivar. Thus the different grain size classes could be considered as a categorical variable.

The following linear model employing generalised least squares for which the errors can have unequal variances, was then used with the package nlme (Pinheiro *et al.*, 2020):

(1) $Y = \mu + X_1FE + X_2G + X_3C + X_4G\times C + \epsilon,$

where Y is the vector of individual grain size values, μ is the intercept, FE the fixed effect of FE, G the fixed effect of cultivar, C the fixed effect of the grain class, X_i the incidence matrices and ϵ is the residual following a multivariate normal distribution (0, V) where V represents the within-group heteroscedasticity structure (G×C). A type III ANOVA was computed on this linear model to estimate the effects of FE, Cultivar, Grains class and the interaction Cultivar×Grain class.

Finally, to compare the grain sizes of the different classes of grains between the cultivars independently from FE, adjusted means were calculated for each cultivar by grain class combination by considering the effect of FE.

All statistical analyses were carried out with R statistical software (R version 3.5.0, R Development Core Team (2005)).

III. Results

3.1. Yield components of the four cultivars under the two contrasting conditions

The boxplots of AGW for each cultivar revealed that the four cultivars showed significant differences in AGW under both the well-watered and the water-deficit conditions (Fig. 3-4). These differences were especially visible between the two pairs of cultivars, the high-AGW cultivars (Altigo and Solehio) and the low-AGW cultivars (Cellule and SY Moisson). The AGWs for each of the cultivars were similar under the two environmental conditions. Under the well-watered conditions, grain weights were 52 mg grain^{-1} for the high-AGW cultivars and 49 mg grain^{-1} for the low-AGW cultivars. Meanwhile, under the water-deficit conditions grain weights 42 for the high-AGW cultivars and 40 mg grain^{-1} for the low-AGW cultivars. These values are also close to the AGW averages in the multi-environment trials that led to cultivar choice (Table 3-1). As for the other yield components (Table S3-1), Cellule showed consistently higher numbers of grains per spike compared to the other cultivars (Table S3-1). Significant differences in the number of spikes per m² and the number of grains per m² were found (Table S3-1). Under both well-watered and water-deficit conditions, there was a clear trend for Cellule and SY Moisson to bear more grains per m² than either Altigo or Solehio (average gains 14% and 16%, respectively). Moreover, the number of grains per spike and consequently the number of grains per m² were affected by the water-deficit regime for all four cultivars (the average decrease were 16% and 24% for the number of grains per spike and the number of grains per m², respectively) (Table S3-1). Consequently, due to the trade-off between AGW and grains per m^2, yield was very similar across all four cultivars under the well-watered conditions and was decreased by an average 29% across the four cultivars under the water-deficit conditions. We conclude that the two environmental conditions resulted in clearly contrasting growths and yields among the four cultivars, so producing a significant source of variation in grain number for each. We infer that the cultivars chosen are likely useful to assess the causes of the genotypic differences in AGW, as these behaviours are both quite marked and also fit with the earlier trial results and are consistent with their contrasting number of grains per m² (i.e. canopy structures).

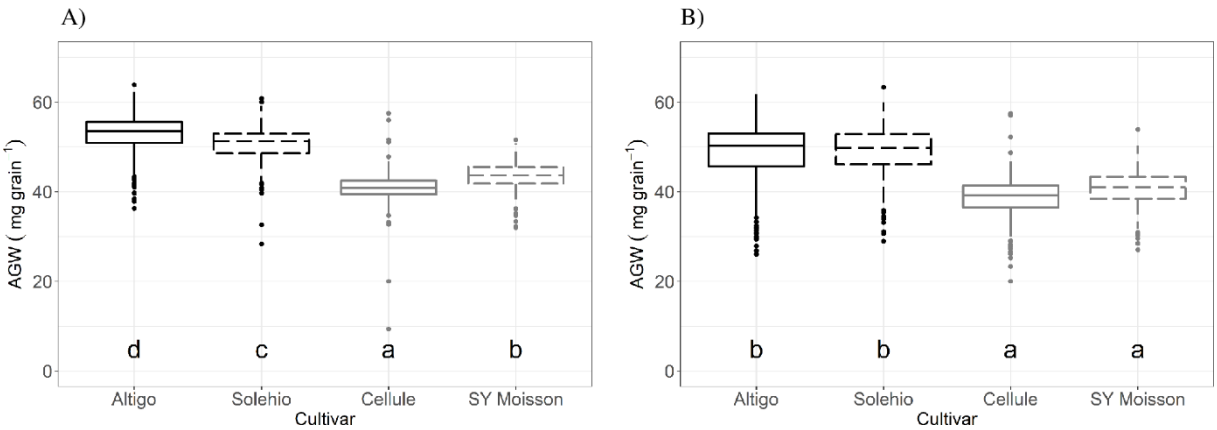


Figure 3-4: Boxplot of average grain weight (AGW) determined for each spike sampled from the four wheat cultivars Altigo, Solehio, Cellule and SY Moisson, under well-watered (A) and water-deficit conditions (B). *[a,b,c,d] boxplots with the same lowercase letter indicate that the mean AGWs were not significantly different (P>0.05) based on a Tukey post-hoc test following ANOVA.*

3.2. Differences in individual grain size between cultivars at the canopy scale

To determine if the genotypic differences in AGW existed also for individual grains, we analysed the size of each individual grain in each cultivar under each of the two environmental conditions. The individual grain size was used as a proxy to estimate individual grain weight, because grain size represents grain weight very well regardless of whether we consider the average of all grains for each treatment (Supplementary Fig. S3-1a) or the average of all grains of each individual spike (Supplementary Fig. S3-1b). In line with our results, under both environmental conditions, Altigo and Solehio (cultivars selected for having high-AGW) both showed higher average grain sizes than did either Cellule or SY Moisson (cultivars characterised for their low-AGW) (Fig. 3-5; Fig. S3-1a).

The differences in average grain sizes between cultivars were also clearly visible when the grain size distributions of individual grains were considered (Fig. 3-5). A wide range of variation of individual grain sizes was observed for each cultivar under each environmental condition, with individual grain sizes ranging from below 10 mm² to above 25 mm² (Fig. 3-5). However, clear differences were observed between cultivars of high- and low-AGW in terms of grain size distribution (Fig. 3-5). These were also consistent across the well-watered and water-deficit conditions.

Moreover, the difference in individual grain sizes between high- and low-AGW cultivars was smaller within the tail of the distribution (corresponding to the small grains <10 mm² for all

cultivars) than in the opposite tail (Fig. 3-5). For Altigo and Solehio, the sizes of the largest grains were clearly shifted to the right compared to Cellule and SY Moisson (Fig. 3-5). This effect becomes clearer if we restrict our comparison between the high- and low-AGW cultivars to the values lying in the lower and upper deciles of grain size. Certainly, the differences in size between the two contrasting pairs of cultivars were small for the bottom decile values (the 10% smallest grains) where the differences were 1.86 and 2.49 mm² under the well-watered and water-deficit conditions, respectively (Supplementary Fig. S3-2). And, they were larger for the top decile values (the 10% biggest grains) where the equivalent differences were 3.56 and 3.53 mm^2; Supplementary Fig. S3-2).

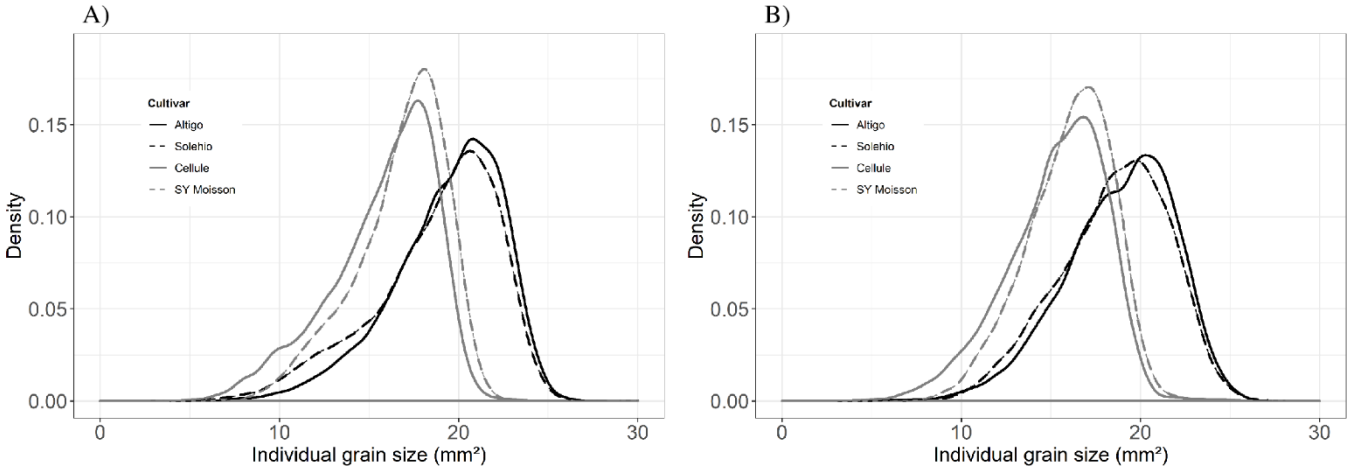


Figure 3-5: Distributions of all individual grain sizes (mm²) for all spikes sampled for all four cultivars under well-watered (A) and water-deficit conditions (B). *Smoothed density estimates were computed with the package ggplot2 (Wickham, 2016).*

3.3. Correlations between average grain size and the physiological traits at the scale of the spike

Individual grain sizes have till now been studied for combined populations of grains sampled from a micro-plot. This way, it has not been possible to consider the heterogeneity within the population of spikes in the canopy. Such heterogeneity may be expressed as differences in the grain number per spike, or in SDWa, or in FE. So, for each cultivar and contrasting condition, the relationships between average grain size and these variables were investigated, with consideration given to the grains sampled from each individual spike.

The AGW differences between cultivars at the canopy scale can first be determined by differences in grain number. At the spike scale, all cultivars under both environmental

conditions showed substantial ranges of variation in grain numbers, from 10 to 65 grains per spike. It was also clear that no negative trend between average grain size per spike and the number of grains per spike could be identified under either of the two conditions (Fig. 3-6). The absence of such a negative trend was observed within each of the four cultivars (Fig. 3-6). Instead, the relationships within cultivars between average grain size per spike and the number of grains per spike were either significantly positive (Cellule and SY Moisson under the well-watered conditions) (all cultivars under the water-deficit conditions) or not significantly affected (Altigo and Solehio under the well-watered conditions) (Fig. 3-6).

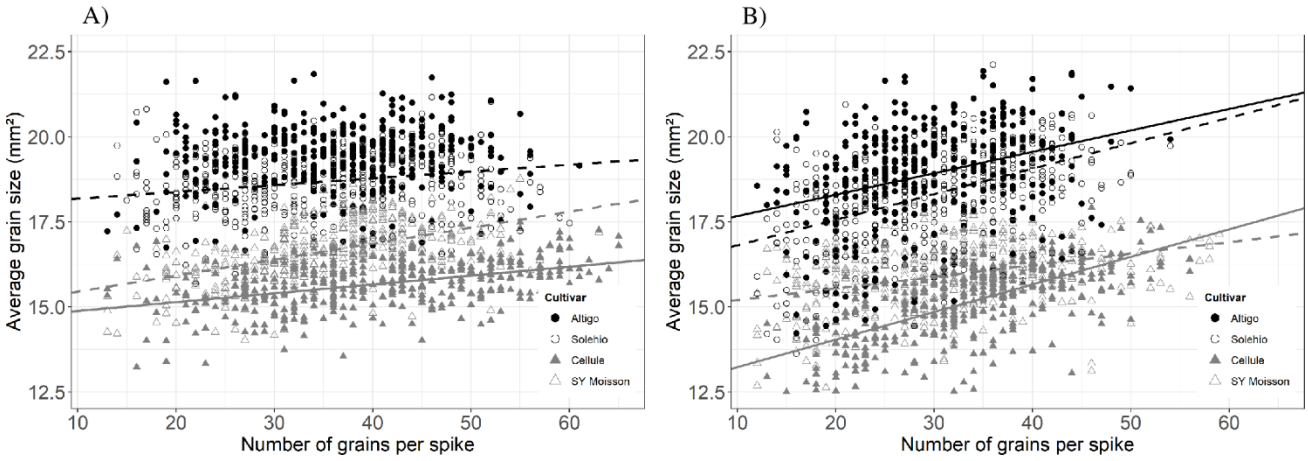


Figure 3-6: Relationship between the number of grains per spike and their average grain size (mm²) for each cultivar under well-watered (A) and water-deficit conditions (B).

The coefficients of determination (R^2) of the linear regressions were under well-watered conditions 0.001 (ns); 0.038 (***); 0.185 (***); 0.261 (***) or under water-deficit conditions 0.106 (***); 0.236 (***); 0.361 (***); 0.121 (***) for cultivar Altigo, Solehio, Cellule, SY Moisson, respectively.

To further investigate the comparison between average grain size in the high- and low-AGW cultivars at spike scale, particular classes of spikes were selected. The spikes with extreme numbers of grains per spike were considered as either low (15 grains per spike) or high (55 grains per spike). It is clear that the high-AGW cultivars had consistently larger grains than the low-AGW cultivars, regardless of the spike class or the environmental conditions (Table S3-2). Therefore, although the high-AGW cultivars had spikes with low average grain number per spike (Table S3-1), the differences in grain sizes were not due to differences in grain number per spike as they were found to persist equally when compared exclusively with particular spike classes.

To understand if the differences in grain size discussed above might be caused by different levels of resources available at anthesis, for each cultivar and environmental condition we characterised the distribution of spike dry weight at anthesis (SDWa) for all spikes individually.

Compared with the low-AGW cultivar SY Moisson, this revealed a significantly higher proportion of large spikes in the two high-AGW cultivars. Compared with the low-AGW cultivar Cellule, differences were not significant (Fig. 3-7b-d). The relationships between average grain size and SDWa within each cultivar and environmental condition were either positive or not significant (Fig. 3-7a-c). However, SDWa could hardly be the main determinant of average grain size differences between cultivars, under either of the two environmental conditions, since Cellule had similar SDWa to Altigo and Solehio but noticeably smaller grains. In contrast, Solehio had slightly higher SDWa than Altigo but slightly lower average grain sizes (Fig. 3a-c). Nevertheless, there remained consistent and significant differences in average grain size between the two pairs of cultivars for all spikes (Fig. 3-7a-c; Table S3-3).

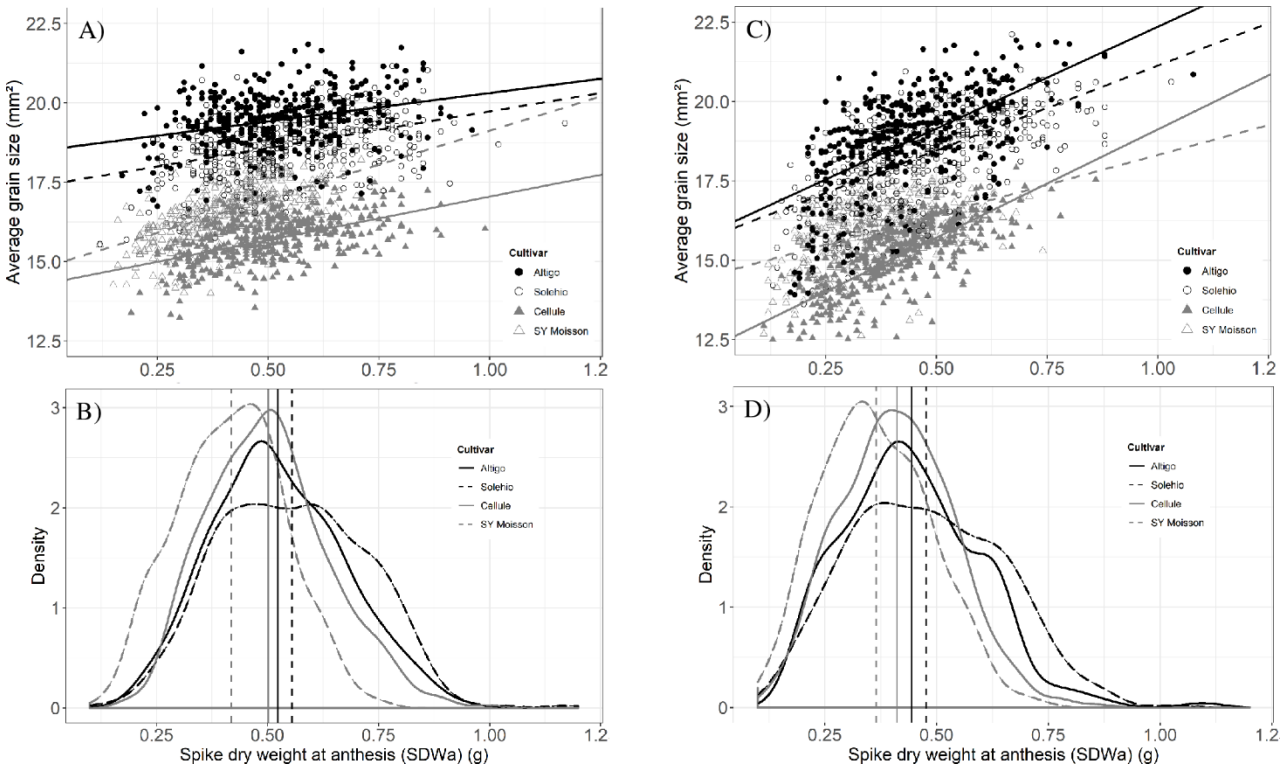


Figure 3-7: Relationships between spike dry weight at anthesis (SDWa) (g) and average grain size (mm²) per spike for each cultivar under well-watered (A) and water-deficit conditions (C). Distributions of spike dry weight at anthesis (SDWa) (g) for each cultivar under well-watered (B) and water-deficit conditions (D). *Horizontal lines represent the means of spike dry weight at anthesis (g) for each cultivar. Smoothed density estimates were computed with the package ggplot2 (Wickham, 2016).*

The coefficients of determination (R^2) of the linear regressions under well-watered conditions were 0.085 (***); 0.169 (***); 0.280 (***); 0.343 (***) and under water-deficit conditions were 0.346 (***); 0.429 (***); 0.529 (***); 0.202 (***) for the cultivars Altigo, Solehio, Cellule, SY Moisson, respectively.

There was a strong positive relationship between the number of grains per spike and SDWa for each of the four cultivars under each of the two environmental conditions (Fig. S3-3). This implies that within each cultivar x environmental condition, increased availability of the resources for floret development before anthesis led to higher spike fertility. The slopes of the relationships between the numbers of grains per spike and SDWa for the low-AGW cultivars were significantly higher than those for the high-AGW cultivars under both environmental conditions (Fig. S3-3). The clear differences in slope imply that the low-AGW cultivars exhibited consistently higher fruiting efficiency (FE) across the whole range of SDWa than the high-AGW cultivars (Fig. S3-3). At the spike scale, the relationship between average grain size and FE was negative across all four cultivars (Fig. 3-8a-c). This indicates that at least part of the difference between the high- and low-AGW cultivars was due to differences in their FE. The r^2 values for the relationship for all cultivars were 0.33 (well-watered) and 0.50 (water-deficit).

To analyse the differences between cultivars in terms of AGW, independently of the effects of FE, a selection of single spikes with similar values of FE was required. From the four cultivars we selected spikes that lay within a narrow range of FE (from 65 to 85 grains g_{SDWa}^{-1}, Fig. 3-8). Based on these spikes, significant and consistent differences in average grain sizes were still observed between the high- and low-AGW cultivars. This applied under both well-watered and water-deficit conditions (Table S3-4). This suggests that beyond the differences in FE between the low- and high-AGW cultivars, the most substantial part of the differences in individual grain sizes among cultivars remained unexplained.

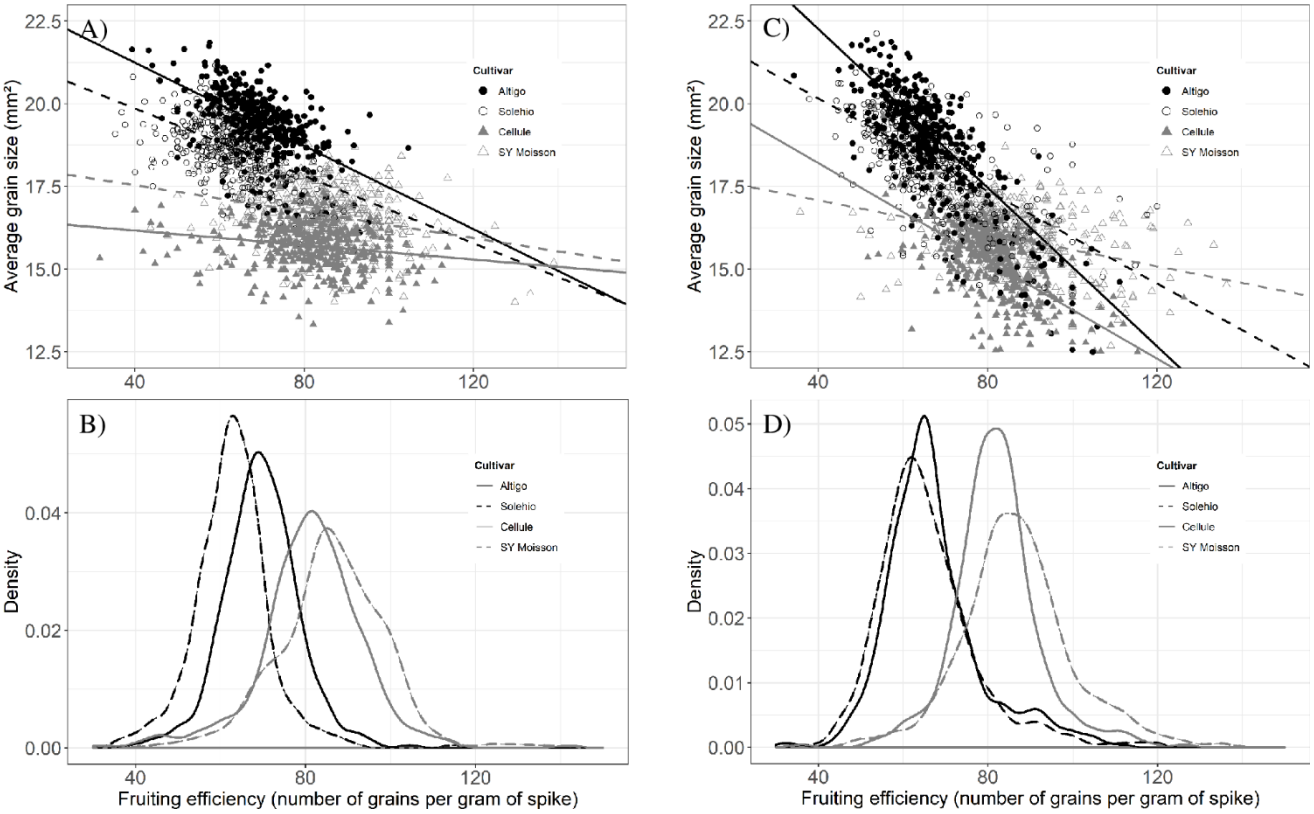


Figure 3-8: Relationship between the fruiting efficiency (FE) (number of grains per gram of spike (g^{-1})) and the average grain size (mm^2) per spike for each cultivar under well-watered (A) and water-deficit conditions (C). Distributions of the fruiting efficiency (FE) (number of grains per gram of spike (g^{-1})) per spike for each cultivar under well-watered (B) and water-deficit (D) conditions. *Smoothed density estimates were computed with the package ggplot2 (Wickham, 2016).*

The coefficients of determination (R^2) of the linear regressions under well-watered conditions were 0.312 (***); 0.223 (***); 0.033 (***); 0.077 (***) and under water-deficit conditions were 0.643 (***); 0.386 (***); 0.393 (***); 0.104 (***) for Altigo, Solehio, Cellule, SY Moisson, respectively.

3.4. Differences in individual grain sizes between cultivars independent of fruiting efficiency at spike scale

To analyse in more depth the difference in AGW between the two pairs of cultivars and test whether any differences are truly constitutive, the average grain sizes of the different classes of grains were compared in a model with FE as covariate. For this, each individual grain was first classified according to the values of the deciles calculated for each spike of the cultivars. Then an estimated average value per grain class was calculated considering FE as a covariate. This allowed comparisons to be made between high- and low-AGW cultivars from the largest to the smallest grains. The differences in grain sizes for all grain classes between high- and low-AGW cultivars were always positive and significant (Fig. 3-9). However, the differences in grain size between the pairs of cultivars were not uniform across all grain classes (Fig. 3-9, Table S3-5) as there was interaction between the cultivar and the grain classes. The differences in grain size were greater for the larger grains (above the 9th decile) than for the smaller (grains below the 1th decile). Overall, independent of FE, the high-AGW cultivars had larger grains for all individual grain classes, than the low-AGW ones under both environmental conditions.

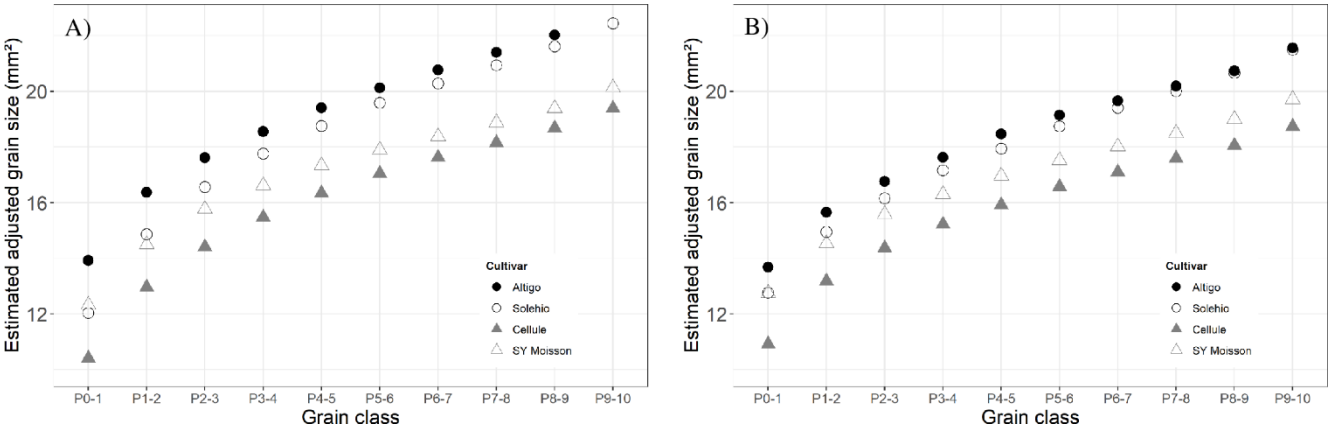


Figure 3-9: Relationship between grain classes and the estimated adjusted grain size (mm²) per grain class for each wheat cultivar under well-watered (A) and water-deficit conditions (B). *Estimated adjusted grain sizes were calculated with a linear model using FE as a covariate (see Materials and methods). PX-Y: grains of each spike that lay between the Xth and Yth deciles of all the grains of the spike to which they belong.*

IV. Discussion

In previous studies, differences in AGW between cultivars were explicable mainly in terms of a trade-off between grain number per m² and AGW. The objective of this study was to determine if there was evidence for significant constitutive differences in AGW between modern, well-adapted and high-yielding wheat cultivars, that was not linked to a trade-off between grain number per m² and AGW.

4.1. Relevance of the selected cultivars to explore the grain number/AGW relationship

Most studies comparing wheat cultivars showing differences in grain number and AGW have focused on the dichotomies between old vs. new, or between tall vs. semi-dwarf cultivars (Chen *et al.*, 2019; Ferrante *et al.*, 2017; Miralles and Slafer, 1995). Or have explored cultivars showing wide-ranging yield potentials (e.g. Peltonen-Sainio *et al.*, 2007; Quintero *et al.*, 2018). All these studies, together with an abundance of studies that focused on yield responses to different management practices (e.g. Acreche and Slafer, 2006; Feng *et al.*, 2019; Fischer, 1993; Li *et al.*, 2016) have found that yield variations were related chiefly to variations in grain number per m^2 (e.g. Slafer *et al.*, 2014 and references therein). The high plasticity of grain number per m^2, together with the frequent negative relationship that exists between this yield component and AGW (Slafer *et al.*, 2014; Slafer and Savin, 1994) have hindered attempts to study the direct effects of AGW on grain yield, or to determine whether any observed differences in AGW between cultivars are attributable to constitutive genetic differences or are driven purely by the dominant effect of grain number per m².

One way to get resolve this problem is to drastically restrict the range of variation in grain number per m^2 in order to allow a focus on AGW. In the studies cited above (Ferrante *et al.*, 2017; Peltonen-Sainio *et al.*, 2007; Quintero *et al.*, 2018), the range of values of grain number per m^2 varied more than ten-fold across cultivars and/or conditions tested. Thus, Ferrante *et al.* (2017) found grain number per m^2 varied between 2,500 and 25,000, Peltonen-Sainio *et al.* (2007) found between 2,300 and 19,000 and Quintero *et al.* (2018) found between 11,000 and 25,000. In our study, the range in grain number per m^2 was much narrower i.e. 13,000-17,000 under well-watered conditions and 10,000-13,000 under the water-deficit (Table S3-1). Nevertheless, significant differences in AGW were still evident (Table S3-1). Therefore, we

believe that the four modern, high-yielding wheat cultivars we chose, which expressed consistently high (Altigo and Solehio) and low (Cellule and SY Moisson) AGW allowed a detailed exploration of whether or not part of the determination of the AGW differences is constitutive. In addition, the two contrasting growing conditions (well-watered and water-deficit) which significantly affected the numbers of grains in each of the cultivars allows a degree of generalisation from our results. They also allow us to determine whether our conclusions are independent of growing environment.

4.2. A significant proportion of the average grain size differences between cultivars is constitutive

In spite of precautions taken in cultivar choice to restrict the variation in grain number per m^2, the residual variation (Table S3-1) could have still been the main driver of variation in AGW through trade-off between these two yield components. In Models 1 and 2 (Box 1) the main hypothesis explaining trade-off is populational in nature. Under this hypothesis, increasing grain number per m^2 is accompanied by a higher proportion of small grains, especially grains in secondary tillers and/or in distal positions within the spike (e.g. Feng *et al.*, 2019; Miralles and Slafer, 1995). To avoid a populational effect, comparisons between cultivars were made with spikes that contained similar numbers of grains. Our results clearly show that for fixed numbers of grains per spike, average grain size was still significantly higher in the high-AGW cultivars than the low-AGW ones - 16% higher under well-watered conditions and 17% higher under water-deficit conditions (Fig. 3-6, Table S3-2).

Nevertheless, a comparison based on spikes containing similar numbers of grain may still be confounded by different grain-set strategies between the cultivars. In particular, spikes may have had very different levels of resources at anthesis (SDWa). Different SDWa values between cultivars may have driven differential ovary growth and thus final grain size (e.g. Calderini *et al.*, 2001; Hasan *et al.*, 2011; Simmonds *et al.*, 2016). In this case, differences in AGW can be attributed to differences in resource level and not purely to constitutive cues. Our results clearly show that differences in resources at anthesis (SDWa) at the spike scale were not responsible for the differences in average grain size between low- and high-AGW cultivars since, when calculated for similar SDWa levels, the AGWs of the high-AGW cultivars were 15% and 16% higher than of the low-AGW cultivars under the well-watered and water-deficit conditions (Fig.

3-7a-c, Table S3-3). Hence, the availability of resources per spike at anthesis can be rejected as a main driver of the AGW differences between cultivars.

However, for any level of resources at anthesis, there could be genotypic differences in grain set per unit of resource, as captured by fruiting efficiency (defined in Slafer *et al.*, 2015). In early development, this would lead to different levels of resource per grain. For spikes of the same fruiting efficiency, differences in average grain size were still consistent and significant – being 14% and 13% higher for the high-AGW cultivars under well-watered and water-deficit conditions, respectively (Fig. 3-8a-c, Table S3-4). This result lead to the conclusion that these genotypic differences in average grain size per spike are truly constitutive in nature since no covariable describing either spike size, resource availability or grain set strategy could be identified as a driver for AGW. These results seem to contradict the studies that led to Models 1 and 2 (Box 1) but are consistent with Model 3 that proposes that AGW differences between cultivars originate not only in the trade-off between AGW and grain number per m² with an additional populational effect at spike scale.

4.3. Implications at the single grain scale

The conclusions above were drawn based on average grain size at the spike scale. Use of single grain size data, enabled greater insight into the constitutive nature of the AGW differences. Although in our experiment the exact positions of each grain within the spike and spikelet were not known, individual grain size was able to be compared between cultivars after a size-based ranking. These results revealed that these constitutive differences in grain size were not uniform for all grain size classes within spikes between the two pairs of cultivars (Fig. 3-9). The differences between the two pairs of cultivars in the grains of the largest decile in each spike were larger than the differences in the grains of the smallest decile (<10 mm² for all cultivars).

With the smallest grains the information does not allow a reliable comparison. These grains originate in part from the apical and basal spikelets in the spike but also from distal positions in the central spikelets. When only the largest grains are considered, the comparison is more reliable. It is reasonable to expect these large grains to originate from similar positions within the spike (i.e. proximal grains in the central spikelets) in all cultivars since these spike positions have already been identified as the ones carrying the largest grains in a wide range of cultivars and under a wide range of environmental conditions (e.g. Baillot *et al.*, 2018; Miralles and Slafer, 1995; Rawson and Evans, 1970). In the present study, grains from the top decile of the

high AGW cultivars were 15% and 12% larger than those in the low-AGW cultivars under well-watered and water-deficit conditions, respectively (Fig. 3-9). These differences calculated only on the largest grains are substantial compared with the differences calculated on the whole grain sample. The grain size of the high-AGW cultivars was 22.0% and 19.5% greater than for the low-AGW cultivars under well-water and water-deficit conditions, respectively (Table S3-1).

Our results lead us to conclude that while some of the observed difference in AGW between cultivars can be explained by populational effects linked to the grain-number:AGW trade-off, a significant residual explanation of these differences must be constitutive. The constitutive differences in grain size are consistent between the two environmental conditions, which led to two contrasting canopy structures, characterised by different numbers of grains per m². Our results would seem to have important implications for studies identifying specific genetic determinism in wheat grain size. For example, Griffiths *et al.* (2015) identified QTL, stably expressed across a diversity of environments, with a significant effect on grain size but without any negative effects on grain number per m².

4.4. Interest of independent genetic determinism for grain-size breeding

Our results show that a significant part of the AGW differences between cultivars is constitutive i.e. it cannot be attributed solely to a trade-off between AGW and the number of grains per m². Thus our results suggest a specific genetic determinism of grain size that is independent of the one controlling grain number. The question then arises what has limited the role of AGW in the yield increase observed during the history of modern wheat breeding. It is widely accepted that these yield increases were achieved mainly by an increase in grain numbers per m². AGW has increased only marginally over the period (e.g. Brancourt-Hulmel *et al.*, 2003; Philipp *et al.*, 2018; Shearman *et al.*, 2005) and mainly selected as a quality parameter with a positive side-effect on grain yield (Philipp *et al.*, 2018; Xie *et al.*, 2018).

However, this strategy is valid mainly under the conditions of modern agriculture, generally characterised by high levels of soil minerals. These conditions favour high grain set, so with its high plasticity, the number of grains per m² was the most efficient lever for increasing yield, even though maybe not specifically targeted. With the development of better agroecological practices (Wezel *et al.*, 2014), in particular a decrease of mineral N, there will be a limitation in establishment of sinks (Dawson *et al.*, 2008). Hence, target environments for breeding

programs may change drastically in the future, in addition to the effects of climate change on the characteristics our future climates (IPCC, 2019). These likely changes plead for us to explore the untapped yield potential possibly hidden in the genetic variability of AGW. Of course, past breeding, through its strong selection for grain number per m^2, may have negatively affected the genetic variance for AGW remaining in modern germplasm (Philipp *et al.*, 2018). This being the case we may be forced to seek for such variability in the older, less-adapted cultivars. We thus believe the existence of constitutive differences in AGW, unrelated to grain number per m^2, as shown in the present study, offers useful perspectives to breed for cultivars that may be better adapted to future climatological and agroecological conditions.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by the Agence Nationale de la Recherche of the French government through the program ''Investissements d'Avenir'' (16-IDEX-0001 CAP 20-25), WOW! CAP 20-25 and INRA DARESE (EIR-A 2019). A. Beral PhD Scholarship was funded by CAP 20-25 and INRA EA division. The authors also acknowledge the projects PHENOME (ANR-11-INBS-0012) for providing raw data. The authors also thank W. Ngo for technical assistance, D. Cormier and B. Adam for the management of the phenotyping platform and the staff from UE PHACC for the agronomical management of the trials. The authors finally thank Dr. Sandy Lang (www. rescript.co.nz) for language editing and proofreading of the manuscript.

V. References

Acreche, M.M., Slafer, G.A., 2006. Grain weight response to increases in number of grains in wheat in a Mediterranean area. Field Crops Research 98, 52–59. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2005.12.005

Baillot, N., Girousse, C., Allard, V., Piquet-Pissaloux, A., Le Gouis, J., 2018. Different grain-filling rates explain grain-weight differences along the wheat ear. PLOS ONE 13, e0209597. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209597

Beral, A., Rincent, R., Le Gouis, J., Girousse, C., Allard, V., 2020. Wheat individual grain-size variance originates from crop development and from specific genetic determinism. PLoS ONE 15, e0230689. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230689

Borras, L., Slafer, G.A., Otegui, M.E., 2004. Seed dry weight response to source-sink manipulations in wheat, maize and soybean: a quantitative reappraisal. Field Crops Research 86, 131–146. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2003.08.002

Borrill, P., Fahy, B., Smith, A.M., Uauy, C., 2015. Wheat Grain Filling Is Limited by Grain Filling Capacity rather than the Duration of Flag Leaf Photosynthesis: A Case Study Using NAM RNAi Plants. PLoS ONE 10, e0134947. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134947

Brancourt-Hulmel, M., Doussinault, G., Lecomte, C., Bérard, P., Le Buanec, B., Trottet, M., 2003. Genetic Improvement of Agronomic Traits of Winter Wheat Cultivars Released in France from 1946 to 1992. Crop Science 43, 37. https://doi.org/10.2135/cropsci2003.3700

Bustos, D.V., Hasan, A.K., Reynolds, M.P., Calderini, D.F., 2013. Combining high grain number and weight through a DH-population to improve grain yield potential of wheat in high-yielding environments. Field Crops Research 145, 106–115. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2013.01.015

Calderini, D.F., Ortiz-Monasterio, I., 2003. Grain Position Affects Grain Macronutrient and Micronutrient Concentrations in Wheat. Crop Science 43, 141–151. https://doi.org/10.2135/cropsci2003.1410

Calderini, D.F., Savin, R., Abeledo, L.G., Reynolds, M.P., Slafer, G.A., 2001. The Importance of the Period Immediately Preceding Anthesis for Grain Weight Determination in Wheat, in: Bedö, Z., Láng, L. (Eds.), Wheat in a Global Environment. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 503–509. https://doi.org/10.1007/978-94-017-3674-9_66

Chen, Sun, Zhang, Palta, Deng, 2019. The Proportion of Superior Grains and the Sink Strength are the Main Yield Contributors in Modern Winter Wheat Varieties Grown in the Loess Plateau of China. Agronomy 9, 612. https://doi.org/10.3390/agronomy9100612

Dawson, J.C., Murphy, K.M., Jones, S.S., 2008. Decentralized selection and participatory approaches in plant breeding for low-input systems. Euphytica 160, 143–154. https://doi.org/10.1007/s10681-007-9533-0

Elias, A.A., Robbins, K.R., Doerge, R.W., Tuinstra, M.R., 2016. Half a Century of Studying Genotype × Environment Interactions in Plant Breeding Experiments. Crop Science 56, 2090–2105. https://doi.org/10.2135/cropsci2015.01.0061

Farré, A., Sayers, L., Leverington-Waite, M., Goram, R., Orford, S., Wingen, L., Mumford, C., Griffiths, S., 2016. Application of a library of near isogenic lines to understand context dependent expression of QTL for grain yield and adaptive traits in bread wheat. BMC Plant Biol 16, 161. https://doi.org/10.1186/s12870-016-0849-6

Feng, F., Dang, P., Pu, X., Wen, X., Qin, X., Chen, Y., H. M. Siddique, K., 2019. Contribution of Proximal and Distal Grains Within Spikelets in Relation to Yield and Yield Components in the Winter Wheat Production Region of China From 1948 to 2012. Agronomy 9, 850. https://doi.org/10.3390/agronomy9120850

Ferrante, A., Cartelle, J., Savin, R., Slafer, G.A., 2017. Yield determination, interplay between major components and yield stability in a traditional and a contemporary wheat across a wide range of environments. Field Crops Research 203, 114–127. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2016.12.028

Ferrante, A., Savin, R., Slafer, G.A., 2015. Relationship between fruiting efficiency and grain weight in durum wheat. Field Crops Research 177, 109–116. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2015.03.009

Fischer, R.A., 2008. The importance of grain or kernel number in wheat: A reply to Sinclair and Jamieson. Field Crops Research 105, 15–21. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2007.04.002

Fischer, R.A., 1993. Irrigated spring wheat and timing and amount of nitrogen fertilizer. II. Physiology of grain yield response. Field Crops Research 33, 57–80. https://doi.org/10.1016/0378-4290(93)90094-4

Griffiths, S., Wingen, L., Pietragalla, J., Garcia, G., Hasan, A., Miralles, D., Calderini, D.F., Ankleshwaria, J.B., Waite, M.L., Simmonds, J., Snape, J., Reynolds, M., 2015. Genetic Dissection of Grain Size and Grain Number Trade-Offs in CIMMYT Wheat Germplasm. PLOS ONE 10, e0118847. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118847

Hasan, A.K., Herrera, J., Lizana, C., 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, 241–247. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2011.05.019

IPCC, 2019. Climate Change and Land An IPCC Special Report on climate change, desertification, land degradation, sustainable land management, food security, and greenhouse gas fluxes in terrestrial ecosystems.

Li, Y., Cui, Z., Ni, Y., Zheng, M., Yang, D., Jin, M., Chen, J., Wang, Z., 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, e0155351. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155351

Mair, P., Wilcox, R., 2020. Robust statistical methods in R using the WRS2 package. Behav Res 52, 464–488. https://doi.org/10.3758/s13428-019-01246-w

Miralles, D.J., 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, 55–66. https://doi.org/10.1016/0378-4290(95)00041-N

Mondal, S., Dutta, S., Crespo-Herrera, L., Huerta-Espino, J., Braun, H.J., Singh, R.P., 2020. Fifty years of semi-dwarf spring wheat breeding at CIMMYT: Grain yield progress in optimum, drought and heat stress environments. Field Crops Research 250, 107757. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2020.107757

Peltonen-Sainio, P., Kangas, A., Salo, Y., Jauhiainen, L., 2007. Grain number dominates grain weight in temperate cereal yield determination: Evidence based on 30 years of multi-location trials. Field Crops Research 100, 179–188. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2006.07.002

Philipp, N., Weichert, H., Bohra, U., Weschke, W., Schulthess, A.W., 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, e0205452. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205452

Pinheiro J, Bates D, DebRoy S, Sarkar D, R Core Team, 2020. nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. R package version 3.1-148, https://CRAN.R-project.org/package=nlme.

Pretini, N., Terrile, I.I., Gazaba, L.N., Donaire, G.M., Arisnabarreta, S., Vanzetti, L.S., González, F.G., 2020. A comprehensive study of spike fruiting efficiency in wheat. Crop Sci. 60, 1541–1555. https://doi.org/10.1002/csc2.20143

Quintero, A., Molero, G., Reynolds, M.P., Calderini, D.F., 2018. Trade-off between grain weight and grain number in wheat depends on GxE interaction: A case study of an elite CIMMYT panel (CIMCOG). European Journal of Agronomy 92, 17–29. https://doi.org/10.1016/j.eja.2017.09.007

R Core Team, 2018. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna,
Austria. URL https://www.R-project.org/.

Rawson, H., Evans, L., 1970. The Pattern of Grain Growth within the Ear of Wheat. Aust. Jnl. Of Bio. Sci. 23, 753. https://doi.org/10.1071/BI9700753

Rivera-Amado, C., Trujillo-Negrellos, E., Molero, G., Reynolds, M.P., Sylvester-Bradley, R., Foulkes, M.J., 2019. Optimizing dry-matter partitioning for increased spike growth, grain number and harvest index in spring wheat. Field Crops Research 240, 154–167. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2019.04.016

Sadras, V.O., Denison, R.F., 2009. Do plant parts compete for resources? An evolutionary viewpoint. New Phytologist 183, 565–574. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02848.x

Serrago, R.A., Alzueta, I., Savin, R., Slafer, G.A., 2013. Understanding grain yield responses to source–sink ratios during grain filling in wheat and barley under contrasting environments. Field Crops Research 150, 42–51. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2013.05.016

Shearman, V.J., Sylvester-Bradley, R., Scott, R.K., Foulkes, M.J., 2005. Physiological Processes Associated with Wheat Yield Progress in the UK. CROP SCIENCE 45, 12.

Simmonds, J., Scott, P., Brinton, J., Mestre, T.C., Bush, M., del Blanco, A., Dubcovsky, J., Uauy, C., 2016. A splice acceptor site mutation in TaGW2-A1 increases thousand grain weight in tetraploid and hexaploid wheat through wider and longer grains. Theor Appl Genet 129, 1099–1112. https://doi.org/10.1007/s00122-016-2686-2

Simmonds, J., Scott, P., Leverington-Waite, M., Turner, A.S., Brinton, J., Korzun, V., Snape, J., Uauy, C., 2014. Identification and independent validation of a stable yield and thousand grain weight QTL on chromosome 6A of hexaploid wheat (Triticum aestivum L.). BMC Plant Biol 14, 191. https://doi.org/10.1186/s12870-014-0191-9

Slafer, G.A., Elia, M., Savin, R., García, G.A., Terrile, I.I., Ferrante, A., Miralles, D.J., González, F.G., 2015. Fruiting efficiency: an alternative trait to further rise wheat yield. Food Energy Secur 4, 92–109. https://doi.org/10.1002/fes3.59

Slafer, G.A., Savin, R., 1994. Source—sink relationships and grain mass at different positions within the spike in wheat. Field Crops Research 37, 39–49. https://doi.org/10.1016/0378-4290(94)90080-9

Slafer, G.A., Savin, R., Sadras, V.O., 2014. Coarse and fine regulation of wheat yield components in response to genotype and environment. Field Crops Research 157, 71–83. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2013.12.004

Wezel, A., Casagrande, M., Celette, F., Vian, J.-F., Ferrer, A., Peigné, J., 2014. Agroecological practices for sustainable agriculture. A review. Agron. Sustain. Dev. 34, 1–20. https://doi.org/10.1007/s13593-013-0180-7

Wickham H., 2016. ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. Springer-Verlag New York.

Wilcox, R., 2019. Robust ANCOVA, Curvature, and the Curse of Dimensionality. J. Mod. Appl. Stat. Methods 17, jmasm.eP2682. https://doi.org/10.22237/jmasm/1551906370

Xie, Q., Li, N., Yang, Y., Lv, Y., Yao, H., Wei, R., Sparkes, D.L., Ma, Z., 2018. Pleiotropic effects of the wheat domestication gene Q on yield and grain morphology. Planta 247, 1089–1098. https://doi.org/10.1007/s00425-018-2847-4

Xu, H., Cai, T., Wang, Z., He, M., 2015. Physiological basis for the differences of productive capacity among tillers in winter wheat. Journal of Integrative Agriculture 14, 1958–1970. https://doi.org/10.1016/S2095-3119(15)61094-2

Yuen, K.K., 1974. The two-sample trimmed t for unequal population variances.

VI. Supplementary data

Supplementary Table S3-1: Yield components for the four cultivars under well-watered and water-deficit conditions. AGW: average grain weight.
[a,b,c,d] values with the same lowercase letter within a column were not significantly different (P>0.05) according to a Tukey post-hoc test following ANOVA.

		Number of spikes per m²		Number of grains per spike		Number of grains per m²		AGW (mg grain^{-1})		Grain yield (t.ha^{-1})
Conditions	Cultivar	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean
Well-watered	Altigo	368^{a}	24	35.9^{b}	0.6	13182^{a}	837	52.85^{d}	0.77	7.0^{a}
	Solehio	430^{ab}	84	34.5^{a}	1.3	14821^{ab}	3007	50.60^{c}	0.79	7.5^{a}
	Cellule	378^{ab}	32	40.5^{c}	0.8	15336^{ab}	1209	40.81^{a}	0.86	6.3^{a}
	SY Moisson	485^{b}	78	35.5^{ab}	1.0	17146^{b}	2478	43.52^{b}	0.82	7.5^{a}
Water-deficit	Altigo	362^{a}	18	28.7^{a}	1.2	10397^{a}	648	48.92^{b}	2.44	5.1^{a}
	Solehio	344^{a}	45	30.2^{a}	1.8	10440^{a}	1892	49.13^{b}	1.03	5.1^{a}
	Cellule	394^{a}	50	33.1^{a}	1.0	13042^{b}	1645	38.66^{a}	1.52	5.0^{a}
	SY Moisson	380^{a}	21	31.2^{a}	4.8	11793^{ab}	1141	40.65^{a}	1.34	4.8^{a}

Supplementary Table S3-2: Results of the robust ANCOVA at five designated points of the variable number of grains per spike with the differences in average grain size (± Standard deviation) between the two pairs of cultivars (low- and high-AGW (average grain weight)). '.': P-value<0.1; '*': P-value<0.05;'**': P-value<0.01; '***': P-value<0.001.

A)

Number of grains per spike	Trimmed average grain size for low-AGW cultivars (mm²) [Number of samples]	Trimmed average grain size for high-AGW cultivars (mm²) [Number of samples]	Difference in average grain size (mm²)	P-value
15	15.60 [104]	18.75 [157]	-3.15 ± 0.12	***
25	15.86 [334]	18.95 [392]	-3.08 ± 0.07	***
35	16.19 [538]	19.19 [553]	-3,00 ± 0.06	***
45	16.38 [452]	19.28 [431]	-2.90 ± 0.07	***
55	16.26 [224]	19.21 [148]	-2.95 ± 0.10	***

B)

Number of grains per spike	Trimmed average grain size for low-AGW cultivars (mm²) [Number of samples]	Trimmed average grain size for high-AGW cultivars (mm²) [Number of samples]	Difference in average grain size (mm²)	P-value
15	14.89 [224]	18.06 [294]	-3.17 ± 0.14	***
25	15.34 [504]	18.51 [563]	-3.17 ± 0.09	***
35	15.75 [557]	19.05 [549]	-3.30 ± 0.07	***
45	15.98 [324]	19.29 [255]	-3.32 ± 0.08	***
55	16.18 [88]	19.10 [24]	-2.91 ± 0.25	***

Supplementary Table S3-3: Results of the robust ANCOVA at five designated points of the variable spike dry weight at anthesis (SDWa) with the differences of average grain size (± Standard deviation) between the two pairs of cultivars (low- and high-AGW (average grain weight)). *'.': P-value<0.1; '*': P-value<0.05;'**': P-value<0.01; '***': P-value<0.001.*

A)

SDWa (g)	Trimmed average grain size for low-AGW cultivars (mm²) [Number of samples]	Trimmed average grain size for high-AGW cultivars (mm²) [Number of samples]	Difference in average grain size (mm²)	P-value
0.25	15.74 [256]	18.79 [206]	-3.05 ± 0.10	***
0.40	16.14 [550]	18.94 [476]	-2.81 ± 0.06	***
0.55	16.37 [469]	19.16 [568]	-2.80 ± 0.06	***
0.70	16.36 [164]	19.33 [403]	-2.98 ± 0.08	***
0.85	16.41 [31]	19.41 [161]	-3.00 ± 0.17	***

B)

SDWa (g)	Trimmed average grain size for low-AGW cultivars (mm²) [Number of samples]	Trimmed average grain size for high-AGW cultivars (mm²) [Number of samples]	Difference in average grain size (mm²)	P-value
0.20	14.92 [294]	17.64 [261]	-2.72 ± 0.13	***
0.35	15.51 [571]	18.31 [533]	-2.80 ± 0.08	***
0.50	15.90 [434]	18.95 [569]	-3,05 ± 0.07	***
0.65	16.18 [136]	19.37 [349]	-3.19 ± 0.08	***
0.80	16.56 [16]	19.71 [138]	-3.15 ± 0.22	***

Supplementary Table S3-4: Results of the robust ANCOVA at five designated points of the variable fruiting efficiency (FE) (number of grains per gram of spike (g^{-1})) with the differences of average grain size (± Standard deviation) between the two pairs of cultivars (low- and high-AGW (average grain weight)). *'.': P-value<0.1; '*': P-value<0.05;'**': P-value<0.01; '***': P-value<0.001.*

A)

FE (grains/ g_{SDWa}^{-1})	Trimmed average grain size for low-AGW cultivars (mm²) [Number of samples]	Trimmed average grain size for high-AGW cultivars (mm²) [Number of samples]	Difference in average grain size (mm²)	P-value
50	15.99 [32]	19.23 [128]	-3.24 ± 0.17	***
60	16.28 [87]	19.25 [449]	-2.97 ± 0.11	***
70	16.22 [282]	19.11 [485]	-2.89 ± 0.07	***
80	16.22 [531]	18.76 [183]	-2.54 ± 0.09	***
90	16.18 [519]	17.87 [38]	-1.69 ± 0.23	***

B)

FE (grains/ g_{SDWa}^{-1})	Trimmed average grain size for low-AGW cultivars (mm²) [Number of samples]	Trimmed average grain size for high-AGW cultivars (mm²) [Number of samples]	Difference in average grain size (mm²)	P-value
50	15.94 [13]	19.71 [204]	-3.77 ± 0.43	***
60	16.24 [50]	19.16 [528]	-2.92 ± 0.17	***
70	15.97 [239]	18.53 [457]	-2.57 ± 0.08	***
80	15.73 [517]	17.38 [157]	-1.65 ± 0.12	***
90	15.49 [430]	16.08 [67]	-0.60 ± 0.18	***

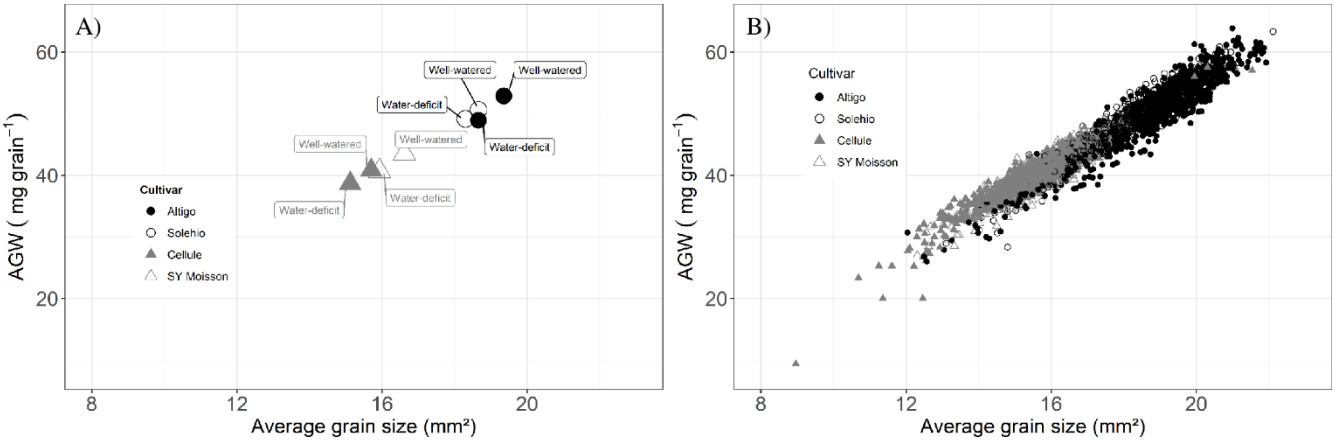
Supplementary Table S3-5: Results of the ANOVA following a linear model using generalised least squares. FE: fruiting efficiency (number of grains per gram of spike (g^{-1})). *DF: Degree of freedom; Chisq: chi-square statistic; Pr(>Chisq): P-value . '.': P-value<0.1; '*': P-value<0.05;'**': P-value<0.01; '***': P-value<0.001.*

A)

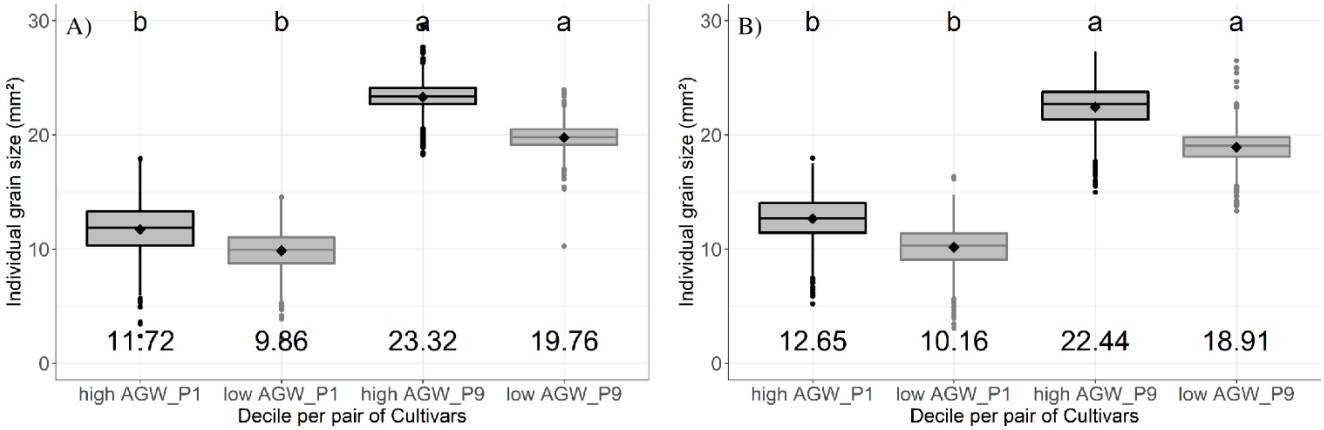
	DF	Chisq	Pr(>Chisq)
(Intercept)	1	99088.8	***
FE	1	5215.1	***
Cultivar	3	4115.4	***
Grain class	9	66282.0	***
Cultivar*Grain class	27	3447.0	***

B)

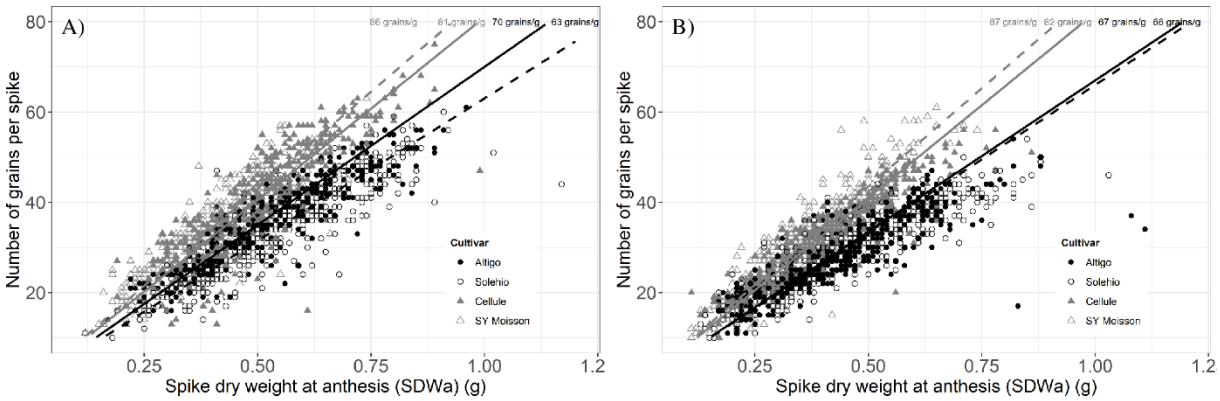
	DF	Chisq	Pr(>Chisq)
(Intercept)	1	112795.7	***
FE	1	18756.7	***
Cultivar	3	2256.3	***
Grain class	9	31343.3	***
Cultivar*Grain class	27	1315.2	***



Supplementary Figure S3-1: Relationship between average grain weight (AGW) (mg grain^{-1}) and average grain size (mm^2 grain^{-1}) at plot scale (all spikes) (R^2=0.99, A) and at spike scale (R^2=0.93, B) under both environmental conditions.



Supplementary Figure S3-2: Boxplot of individual grain size (mm^2) per percentile (P_1: grains below the 1th percentile; P_9: grains above the 9th percentile) for each pair of cultivars (high-AGW cultivars: Altigo and Solehio; low-AGW cultivars: Cellule and SY Moisson) under well-watered (A) and water-deficit conditions (B).
Values below each boxplot represent the average value of individual grains sizes.
^{a,b,c,d} boxplots with the same lowercase letter were not significantly different (P>0.05) according to a Tukey post-hoc test following ANOVAs respectively for P_1 and P_9.



Supplementary Figure S3-3: Relationship between spike dry weight at anthesis (SDWa) (g) and the number of grains per spike under well-watered (A) and water-deficit conditions (B).

The lines and value above the lines represent the linear regressions (abscissa) with slopes per cultivar: under well-watered conditions 70^b; 63^a; 81^c; 86^d and under water-deficit conditions 67^a; 66^a; 82^b; 87^c for Altigo, Solehio, Cellule and SY Moisson respectively. ^{a,b,c,d} values with the same lowercase letter indicate the slopes were not significantly different (P>0.05) according to a Tukey post-hoc test following ANOVA.

The coefficients of determination (R^2) of the linear regressions under well-watered conditions 0.82; 0.80; 0.76; 0.75 and under water-deficit conditions 0.73; 0.81; 0.84; 0.83 for cultivars Altigo, Solehio, Cellule and SY Moisson, respectively.

Partie 3: Les différences génotypiques des masses de grains individuels sont-elles constitutives à toutes les positions au sein de l'épi ?

I. Introduction

Dans la partie précédente de ce chapitre 3 (Beral *et al.*; soumis), nous avons montré qu'une part des différences de PMG existant entre les cultivars à fort (high-AGW) et faible (low-AGW) PMG est de nature constitutive et que ces différences vont donc au-delà du simple effet du trade-off existant entre le PMG et le nombre de grains par m².

A l'échelle du grain individuel, ce résultat n'a pu être validé que pour les plus gros grains par épi qui étaient significativement et constitutivement plus gros pour les cultivars à fort AGW que pour les cultivars à faible PMG. Lorsqu'on ne sélectionne que les plus gros grains d'épis comparables, la comparaison entre groupes de cultivars (high vs low AGW) s'effectue de fait sur des grains placés à des positions similaires au sein des épis ; en effet les épillets en position centrale sur l'épi et grains proches du rachis au sein des épillets sont généralement les plus gros sur l'épi (e.g. Baillot *et al.*, 2018; Miralles and Slafer, 1995; Rawson and Evans, 1970). Nous avons donc mis évidence des différences constitutives de masse individuelle pour des grains en position centrale et proche du rachis (Beral *et al.*; soumis). En revanche, cette conclusion n'a pu être établie pour les plus petits grains des épis pour lesquels aucune certitude ne peut être obtenue quant à leur position dans la mesure où au sein d'un lot de grains, ils peuvent provenir indifféremment de positions distales au sein d'épillets centraux, ou de grains proximaux d'épillets basaux ou apicaux au sein des épis. Plus brièvement, pour ces grains de petite taille, leur masse ne porte aucune information sur leur position et toute comparaison entre génotypes faite sur cette base seule serait polluée par d'éventuels effets de l'architecture de l'épi sur la masse des grains. Compte tenu du grand nombre d'épis et donc de grains échantillonnés, l'étude de Beral *et al.* (soumis) ne permettait pas de lever cette limite en prenant en compte de manière explicite la position des grains sur les épis et au sein des épillets afin de comparer entre cultivars les tailles de grains individuels à des positions identiques au sein des épis. Par ailleurs, là encore pour des raisons méthodologiques, seule la surface projetée des grains individuels comme proxy

de leur masse était estimée car l'acquisition de ce proxy est déclinable à haut débit et donc utilisable sur des grands nombres. L'objectif de cette partie est de mettre à profit le nombre restreint d'épis pour acquérir la masse individuelle (et non plus la surface projetée) de chaque grain en prenant en compte leur position exacte sur l'épi et dans les épillets. Cette étude détaillée devrait nous permettre de tester l'hypothèse de la nature constitutive des masses individuelles des grains indépendamment de leur position.

II. Matériels et méthodes

Le matériel végétal, le design expérimental et le prélèvement des épis ayant été décrits dans la première partie de ce chapitre, nous ne décrirons ici que les mesures et les analyses statistiques faites spécifiquement pour cette étude complémentaire.

2.1. Acquisition des données

Par micro-parcelle et par cultivar, cent trente épis ont été échantillonnés (Figure 3-3). Ils ont été séchés à 60°C pendant 48 heures avant de déterminer individuellement leur masse sèche à maturité (SDWm). Sur la base de la distribution de masse sèche d'épi et afin de représenter la diversité des épis, trois classes d'épis ont été déterminées (petits, médian et gros épis, Figure 3-3) et 8 épis ont été sélectionnés dans chacune de ces classes.

Ces épis ont été battus individuellement en prenant soin de conserver la position de chaque grain au sein de l'épi, numérotée selon le schéma proposé sur la figure 3-10. Le nombre de grains par épi, le nombre d'épillets par épi ont ainsi été obtenus. La masse sèche des balles a été mesurée par épi et a permis d'estimer la masse sèche des épis à anthèse (SDWa) pour chaque épi individuel puis l'efficience de fructification (Fruiting efficiency ou FE) par épi (comme proposé dans Slafer *et al.*, 2015) en calculant le rapport nombre de grains par épi par SDWa.

La masse sèche de chaque grain a été ensuite mesurée à l'aide d'une balance de précision (Mettler Toledo, précision 1 µg). Enfin, la moyenne des masses des grains individuels de chaque épi a pu être calculée.

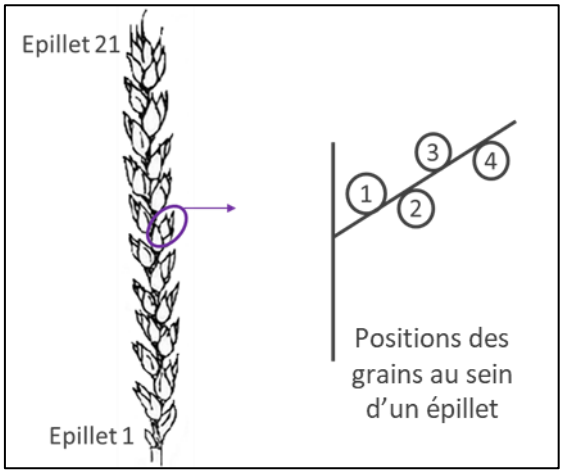


Figure 3-10 : Numérotation des grains selon leur positionnement de chaque grain selon la position de l'épillet sur l'épi et sa position au sein d'un épillet. *Les épillets sont numérotés de la base vers le sommet de l'épi et au sein de chaque épillet, les grains sont numérotés de la partie proximale (proche du rachis) vers la partie distale.*

2.2. Analyses statistiques

Pour chaque cultivar et condition environnementale, le nombre d'épis prélevés était de 4 micro-parcelles* 24 épis = 96 épis. Le nombre final d'épis pris en compte, après retrait des épis malformés ou malades, est rapporté dans le tableau 3-3. Cela a conduit à supprimer entre 7% et 42% des épis prélevés.

Tableau 3-3: Nombre d'épis pris en compte dans les analyses statistiques par classe (petits, médians et gros épis) pour les quatre cultivars pour les deux conditions environnementales (Well-watered et water-deficit conditions).

Well-watered condition	**Classe d'épis**			**Total**
	Petits	**Médians**	**Gros**	
ALTIGO	23	29	25	77
SOLEHIO	27	27	21	75
CELLULE	29	23	23	75
SY MOISSON	14	20	22	56

Water-deficit condition	**Classe d'épis**			**Total**
	Petits	**Médians**	**Gros**	
ALTIGO	27	27	25	79
SOLEHIO	18	21	22	61
CELLULE	28	31	30	89
SY MOISSON	20	21	25	66

2.2.1. Comparaison des composantes moyennes du rendement par épi entre cultivars

La comparaison des composantes de rendement moyennes entre les cultivars (nombre de grains par épi; nombre d'épillets par épi, SDWm, SDWa, FE, masse moyenne des grains par épi) dans chaque condition environnementale a été réalisée avec un test post-hoc de Tukey suite à une ANOVA. Pour chaque condition environnementale, le modèle utilisé correspond à un plan en blocs complets randomisés avec le cultivar et le bloc en effets fixes.

2.2.2. Comparaison entre cultivars des masses des grains individuels selon leur position au sein de l'épi

Pour comparer les différences de masse des grains individuels selon leur position au sein de l'épi entre les cultivars, une analyse robuste de covariance (robust ANCOVA, Wilcox, 2019) identique à celle décrite dans l'article (Beral *et al.*, soumis) a été appliquée en utilisant le package WRS2 (Mair et Wilcox, 2020) et en regroupant d'une part les cultivars Cellulle et SY Moisson (faibles PMG) et d'autre part les cultivars Altigo et Solehio (forts PMG).

Pour chaque condition environnementale, la méthode de l'ANCOVA robuste a été appliquée séparément pour chaque position de grain au sein des épillets. Le grain 1 correspond au grain le plus proche du rachis (grain proximal) et le grain 4 correspond au grain le plus éloigné du rachis (grain distal) (Figure 3-10). Pour les grains 1 à 3, cette méthode a donc permis de comparer les masses de grains individuels entre les cultivars à fort et faible PMG pour chaque épillet le long de l'épi. En raison du faible effectif observé pour les grains 4, la comparaison des masses de grains individuels entre les cultivars à fort et faible PMG n'a pas pu être effectuée.

Ainsi, des moyennes de masses de grains individuels par groupe de cultivars (faible ou fort PMG) ont été calculées à chaque position d'épillet sur l'épi et ont été comparées grâce au test de Yuen (Wilcox, 2019; Yuen, 1974).

III. Résultats

3.1. Composantes de rendement des quatre cultivars dans les deux conditions environnementales

Dans les deux conditions environnementales, les deux cultivars à fort PMG (Altigo et Solehio) présentent des masses moyennes des grains par épi significativement plus élevées que les deux cultivars à faible PMG (Cellule et SY Moisson). Les masses d'épis à anthèse et à maturité sont également significativement plus élevées pour les cultivars à fort PMG dans la condition optimale (Well-watered) mais pas dans la condition stressée (Water-deficit) (Tableau 3-4). Les FE sont significativement plus faibles pour les cultivars à fort PMG. Cependant, les différences de nombres de grains par épi sont significatives entre Solehio et Cellule; et non significatives entre Altigo et SY Moisson en condition optimale (Well-watered). En condition stressée (Water-deficit), les différences de nombres de grains par épi sont significatives entre Altigo et Cellule; et non significatives entre Solehio et SY Moisson. (Tableau 3-4). Des différences de nombre d'épillets par épi entre les cultivars sont observées. Ainsi, Altigo a un plus grand nombre d'épillets que les autres cultivars (en moyenne 21 épillets par épi contre 17 à 18 épillets par épi pour les autres cultivars en condition optimale (Well-watered), Tableau 3-4 et Figure 3-11).

Les épis de différentes classes (petits épis, épis médians, gros épis) diffèrent principalement par leur masse sèche à anthèse et à maturité, ainsi que par leur nombre de grains. Le nombre d'épillets par épi varie peu dans les deux conditions environnementales (un maximum de 12% de différence entre les classes d'épis par cultivar x condition environnementale). La FE par épi, entre classes d'épis, est plus variable pour les cultivars à faible PMG dans les deux conditions environnementales. Enfin, la masse moyenne des grains par épi est également stable entre les différentes classes d'épis par cultivar (un maximum de 12% de différence entre les classes d'épis par cultivar x condition environnementale).

Le stress hydrique a impacté de manière plus importante le nombre de grains par épi (- 14%) que la masse moyenne des grains par épi (-6%), quels que soient le cultivar et la classe d'épi. Le nombre d'épillets par épi a également été très peu impacté par le stress hydrique (- 5%).

Tableau 3-4: Composantes de rendement moyennes par épi pour les quatre cultivars pour les deux conditions environnementales (Well-watered et Water-deficit conditions).

[a,b,c] les valeurs présentant une même lettre par ligne ne sont pas significativement différentes (P>0.05) selon un test post-hoc de Tukey suivant une ANOVA. (N=4)

Well-watered condition			**ALTIGO**	**SOLEHIO**	**CELLULE**	**SY MOISSON**
Nombre d'épillets par épi	**Classe d'épis**	**Petits**	20	17	18	16
		Médians	20	18	18	18
		Gros	21	19	18	18
		TOTAL	**21[b]**	**18[a]**	**18[a]**	**17[a]**
Nombre de grains par épi	**Classe d'épis**	**Petits**	29.7	26.2	31.4	30.4
		Médians	36.9	34.7	41.0	36.1
		Gros	40.7	41.8	48.3	41.6
		TOTAL	**36.0[ab]**	**33.5[a]**	**39.5[b]**	**37.0[ab]**
SDWm (g)	**Classe d'épis**	**Petits**	2.00	1.74	1.71	1.64
		Médians	2.40	2.30	2.14	2.00
		Gros	2.81	2.78	2.52	2.33
		TOTAL	**2.42[b]**	**2.22[ab]**	**2.09[a]**	**2.05[a]**
SDWa (g)	**Classe d'épis**	**Petits**	0.46	0.47	0.41	0.31
		Médians	0.58	0.52	0.45	0.39
		Gros	0.64	0.65	0.53	0.49
		TOTAL	**0.56[b]**	**0.54[b]**	**0.46[a]**	**0.41[a]**
FE (nombre de grains par g_{SDWa-1})	**Classe d'épis**	**Petits**	66	59	80	99
		Médians	67	67	92	93
		Gros	65	65	93	85
		TOTAL	**67[a]**	**63[a]**	**87[b]**	**91[b]**
Masse moyenne des grains par épi (mg)	**Classe d'épis**	**Petits**	54.46	51.32	42.15	43.98
		Médians	52.36	52.73	41.92	45.06
		Gros	55.35	53.88	41.99	44.96
		TOTAL	**53.96[c]**	**52.54[c]**	**42.01[a]**	**44.65[b]**

Water-deficit condition			**ALTIGO**	**SOLEHIO**	**CELLULE**	**SY MOISSON**
Nombre d'épillets par épi	**Classe d'épis**	**Petits**	19	14	17	15
		Médians	20	16	17	16
		Gros	21	17	17	17
		TOTAL	**20[b]**	**16[a]**	**17[a]**	**16[a]**
Nombre de grains par épi	**Classe d'épis**	**Petits**	23.2	23.3	28.6	26.8
		Médians	27.8	31.2	34.0	32.3
		Gros	34.1	36.6	38.1	38.6
		TOTAL	**28.3[a]**	**30.5[ab]**	**34.0[b]**	**32.3[ab]**
SDWm (g)	**Classe d'épis**	**Petits**	1.44	1.43	1.35	1.36
		Médians	1.80	1.99	1.70	1.66
		Gros	2.22	2.40	2.02	2.06
		TOTAL	**1.82[a]**	**2.01[a]**	**1.70[a]**	**1.67[a]**
SDWa (g)	**Classe d'épis**	**Petits**	0.35	0.37	0.31	0.29
		Médians	0.43	0.48	0.40	0.35
		Gros	0.53	0.55	0.45	0.45
		TOTAL	**0.44[a]**	**0.49[a]**	**0.39[a]**	**0.36[a]**
FE (nombre de grains par g_{SDWa-1})	**Classe d'épis**	**Petits**	69	68	92	94
		Médians	69	69	87	93
		Gros	66	67	88	88
		TOTAL	**68[a]**	**66[a]**	**88[b]**	**92[b]**
Masse moyenne des grains par épi (mg)	**Classe d'épis**	**Petits**	49.32	48.15	36.98	40.62
		Médians	51.62	50.22	38.80	40.89
		Gros	51.83	51.51	41.74	42.86
		TOTAL	**50.85[b]**	**50.96[b]**	**39.29[a]**	**41.17[a]**

3.2. Comparaison entre cultivars de la masse des grains proximaux des épillets

Pour déterminer s'il existe des différences génotypiques de masse de grains individuels selon leur position au sein de l'épi, une comparaison a été effectuée entre les cultivars à fort et faible PMG pour chaque classe d'épi dans les deux conditions environnementales.

La figure 3-11 représente les distributions de masses de grains individuels le long de l'épi séparément pour les grains 1, 2, 3 et 4. Pour les quatre cultivars, les distributions ont des caractéristiques communes. Ainsi, les grains 1 et 2 centraux (entre les épillets 5 et 15 environ pour les quatre cultivars) sont systématiquement les plus gros. En position apicale (numéro d'épillet >15) et basale (numéro d'épillet <5), les grains 1 et 2 sont plus petits qu'en position centrale. Les masses des grains 3 sont également variables selon la position de l'épillet, en suivant une distribution le long de l'axe de l'épi similaire à celles des grains 1 et 2. Les grains 4, qui sont les grains les plus distaux et uniquement présents dans les épillets centraux, sont systématiquement les plus petits (< 40 mg) et en effectif largement réduit.

Pour chaque cultivar, une variation des masses des grains individuels entre les classes d'épis est observée quelle que soit la position du grain (en moyenne 20% de variation). Bien qu'il existe des différences intra-génotypiques de masses de grains individuels entre classes d'épis, les différences de masses de grains individuels entre cultivars sont visibles quelle que soit la classe d'épi considérée. En d'autres termes, il n'y a pas d'effet Cultivar x Classe d'épi sur les différences de masses de grains individuels entre cultivars à fort et faible PMG.

La comparaison entre cultivars à fort et faible PMG sur chaque position des grains montre qu'il existe une différence significative importante (respectivement +22% et +24% pour les cultivars à fort PMG dans les conditions « well-watered » et « water-deficit ») pour les grains 1 et 2 de l'ensemble des épillets et dans toutes les classes d'épis (Figure 3-11 ; Tableau S4-6). En revanche, il n'y a aucune différence significative entre les deux paires de cultivars pour les grains 3 dans l'ensemble des épillets et quelle que soit la classe d'épis (Figure 3-11; Tableau S4-6).

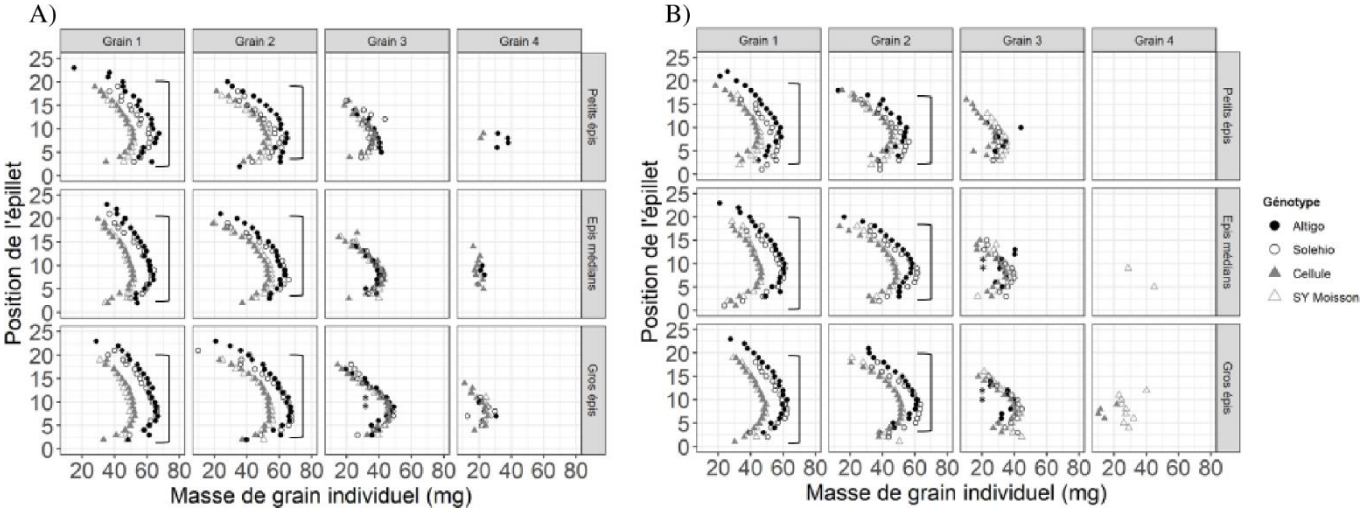


Figure 3-11 : Distributions de masses de grains individuels selon la position de l'épillet pour les deux conditions environnementales (A) Well-watered condition, B) Water-deficit condition). *Les graphes sont subdivisés horizontalement selon la position du grain au sein de l'épillet (Grain 1 à 4) et verticalement selon la classe d'épis (petits à gros épis). La comparaison entre les deux paires de cultivars (Altigo et Solehio vs Cellule et SY Moisson) à chaque position d'épillet a été réalisée avec un test d'ANCOVA robuste. L'accolade correspond aux différences significatives avec une P-value <0.05. '*': 0.01<P-value<0.05.*

IV. Discussion

Selon Beral *et al.* (soumis), des différences de PMG constitutives entre les cultivars à fort (high-AGW) et faible (low-AGW) pour les grains les plus gros ont été mis en évidence. Les données disponibles dans Beral *et al.* (soumis) à l'échelle du grain individuel (surfaces de grains individuels sans information de position au sein de l'épi) ne permettaient pas de tester l'hypothèse de la nature constitutive des masses individuelles des grains quelle que soit leur position. Le travail présenté ici a permis de tester, sur un échantillon réduit d'épis, les différences génotypiques de masse de grain individuel à position équivalente au sein de l'épi.

Dans cette partie, il a été montré qu'il existe des différences significatives entre les deux paires de cultivars pour les grains 1 et 2 (proximaux) au sein de tous les épillets mais pas pour les grains 3 et 4 (distaux) au sein des épillets, et ce quelle que soit la masse de l'épi. L'hypothèse émise concernant une nature constitutive des masses individuelles des grains quelle que soit leur position n'est donc que partiellement validée.

Afin de pouvoir discuter de l'apport de ces résultats vis à vis de ceux obtenus dans Beral *et al.* (soumis), il est nécessaire de s'assurer de la validité de la comparaison. Ce sont en effet des masses de grains individuels, et non des surfaces projetées (Beral *et al.*, soumis), qui ont été acquises pour cette analyse complémentaire. Toutefois il a été montré (Beral *et al.*, soumis) qu'il y avait une très forte corrélation entre la masse et la surface projetée des grains individuels. Il est donc possible de ré-évaluer l'hypothèse émise dans la discussion dans (Beral *et al.*; soumis) à la lumière des résultats complémentaires acquis ici. Il avait en effet été émis l'idée que les différences constitutives observées pour les plus gros grains correspondaient à des différences constitutives sur des grains en position proximale (grains 1 et 2) et proche du rachis (Beral *et al.*; soumis). Toutefois, ces résultats ne permettaient pas de conclure sur les différences entre les cultivars pour les petits grains. En effet, pour les plus petits grains, il y avait très probablement un mélange variable selon les cultivars de grains en position distale au sein des épillets, ou en positions basale ou apicale au sein des épis. Or, les résultats acquis dans ce travail complémentaire ont montré qu'il n'existait pas de différence constitutive entre les cultivars sur les grains en position distale (grains 3 et 4). En conclusion, les résultats de cette étude complémentaire permettent de montrer que ces différences génotypiques de masses de grains individuels existent pour certaines positions des grains au sein de l'épi (grains proximaux de tous les épillets) et pas seulement pour les grains les plus gros (grains proximaux dans les

épillets centraux) comme discuté dans la partie 2 (Beral *et al.*; soumis). Sur cette base se pose alors la question des mécanismes physiologiques pouvant expliquer la présence/absence de différences génotypiques constitutives selon la position des grains au sein des épillets

La plupart des études qui explorent les mécanismes écophysiologiques à la base des différences de masses de grains individuels traitent exclusivement de différences de masses de grains individuels au sein d'un même épi (pour un même cultivar), et non de différences entre cultivars pour des grains en position similaires. Différentes hypothèses, non exclusives, ont été émises pour essayer d'expliquer les causes de ces différences intra-épi de masses de grains selon la position du grain au sein d'un épi. La première hypothèse est liée au développement de l'épi et concerne les décalages de floraison selon la position de la fleur au sein de l'épi et les différences de masse/taille d'ovaire selon la position du grain au sein d'un épi (Baillot *et al.*, 2018 ; Calderini *et al.*, 1999; Hasan *et al.*, 2011; Xie *et al.*, 2015). Il a été ainsi montré que ces différences développementales le long de l'épi avaient un impact partiel et variable sur les paramètres (durée et vitesse) de remplissage des grains individuels et par conséquent sur leurs masses individuelles finales (e.g. Xie *et al.*, 2015). La deuxième hypothèse est liée à l'architecture même de l'épi. En effet, il existe au sein d'un épi des différences d'organisation du système vasculaire permettant l'alimentation des grains en assimilats. En effet, le nombre et le diamètre de ces faisceaux criblo-vasculaires diminuent entre la base et le sommet de l'épi (Whingwiri *et al.*, 1981) et au sein des épillets du grain proximal vers le grain distal (Hanif et Langer, 1972). Or, parmi les faisceaux criblo-vasculaires, il y a les tubes criblés, responsables de l'acheminement du phloème. Cette architecture vasculaire est donc susceptible de réguler les flux d'assimilats et donc en partie l'accumulation de matière sèche responsable de la masse finale du grain individuel (Wolde et Schnurbusch, 2019).

Ces arguments seraient facilement transmissibles si c'était les différences génotypiques moyennes qu'il fallait expliquer. Or, nous avons vu que les différences génotypiques sur les grains individuels existaient uniquement pour les grains 1 et 2 (grains proximaux) et pas pour les grains 3 (grains distaux). Par conséquent, s'il est possible d'appliquer les hypothèses émises en intra-épi pour expliquer les différences génotypiques de masse de grains individuels sur les grains 1 et 2 ; il est en revanche impossible d'étendre ces hypothèses pour le grain 3. Il est donc nécessaire de prendre en compte cette interaction cultivar*position du grain dans nos hypothèses. Nous allons donc tester les deux hypothèses émises en intra-épi séparément en

prenant en compte l'interaction cultivar*position du grain et déterminer si une autre hypothèse doit être émise.

Tout d'abord, il a été montré qu'il existe une variabilité génétique des masses d'ovaires chez de nombreuses espèces comme le blé (Benincasa *et al.*, 2017) ou le sorgho (Yang *et al.*, 2009). Or il est avéré que la masse d'ovaire et la masse finale du grain sont bien corrélées aussi bien au sein d'un épi que entre génotypes chez de nombreuses espèces (e.g. Calderini, 1999 ; Scott *et al.*, 1983; Calderini and Reynolds, 2000). Ainsi, il est possible de reprendre l'hypothèse émise en intra-épi qui propose une relation causale entre la masse d'ovaire et la masse finale du grain. Par exemple, Yang *et al.* (2009) montrent que les cultivars de sorgho à larges grains présentent des masses d'ovaires plus importantes que les cultivars à petits grains. Cependant, Benincasa *et al.* (2017) ont montré chez le blé que les ovaires étaient très sensibles à l'environnement. Malgré cela, un cultivar à large grains, qui présente des ovaires plus petits résultant de conditions environnementales défavorables qu'un cultivar à petits grains, aura toujours des grains plus gros que ce cultivar à petits grains en conditions optimales (Benincasa *et al.*, 2017). Les différences de masse d'ovaire ne peuvent donc expliquer que partiellement les différences de masse finale de grains observées entre génotypes quelle que soit la position des grains. De plus, même sous l'hypothèse que les différences génotypiques de taille d'ovaires puisent totalement expliquer les différences génotypiques de masses finales de grains individuels, cette hypothèse n'apporte aucune explication à l'interaction cultivar*position. En effet, il est fortement improbable qu'il y ait des différences génotypiques de tailles d'ovaires uniquement sur les grains en position 1 et 2 et pas en position 3. Cette hypothèse basée sur des différences génotypiques de tailles d'ovaires, et par conséquent de forces de puit, ne peut donc expliquer que partiellement les différences génotypiques observées sur les masses de grains individuels.

Dans un deuxième temps, l'hypothèse émise sur les faisceaux criblo-vasculaires peut être développée pour essayer d'expliquer les différences génotypiques des masses de grains individuels, en prenant en compte l'interaction cultivar*position du grain. Les forces de puit sont considérées comme étant différentes entre grains proximaux et distaux. Si on considère qu'il puisse y avoir des différences génotypiques de forces de puits, alors cette augmentation de force de puit serait homogène pour tous les grains (1 à 4) pour les cultivars à fort PMG. Or, si des différences génotypiques sont observées sur les grains 1 et 2 mais pas sur les grains 3, ceci impliquerait une limitation pour les grains 3 via les faisceaux au sein des épillets. En

d'autres termes, sous cette hypothèse, chez les cultivars à faible PMG, la taille des faisceaux qui irriguent les grains 3 seraient limitants mais pas ceux qui irriguent les grains 1 et 2. De la même manière, chez les cultivars à fort PMG, une augmentation putative de la force de puits permettrait donc une augmentation uniquement des grains 1 et 2. Or il a été montré en intra-épi (Acreche et Slafer 2009 ; Xie *et al.*, 2015) qu'en supprimant les grains proximaux, les grains distaux sur les mêmes épillets pouvaient atteindre des masses finales aussi importantes que les grains proximaux. Cette expérience d'ablation nous montre clairement que le grain 3 est limité par les règles d'allocations des assimilats allouée à l'épillet et non par sa force de puit ou la taille des faisceaux qui les alimentent.

En conclusion, il semble donc qu'il existe une interaction entre la force de puit du grain, la taille des faisceaux vasculaires dans le rachillet et potentiellement la taille des faisceaux vasculaires dans le rachis qui limitent la quantité d'assimilats entrants dans l'épillet. Une manière de représenter cette interaction est d'intégrer ces différentes sources dans un modèle qui sera développé et testé en discussion générale.

Dans ce chapitre, le changement d'échelle, du grain moyen au grain individuel, a permis de mettre en évidence des résultats originaux. Ainsi, dans Beral *et al.* (soumis), il a été montré qu'il existe des différences génotypiques de masses de grains qui ne sont pas liées au trade-off entre le nombre de grains par m² et le PMG. La dernière partie du chapitre a également permis d'affiner ce résultat en montrant que ces différences génotypiques de masses de grains individuels existaient uniquement pour les grains proximaux, c'est-à-dire à des positions de grain spécifique au sein de l'épi. Ce chapitre a donc mis en lumière une interaction Cultivar*Position du grain pour les masses des grains grâce à une analyse à l'échelle du grain individuel. Dans le chapitre suivant, cette échelle d'analyse sera appliquée pour comprendre des effets de stress thermiques post-floraison sur les masses des grains individuels. Les résultats combinés de ces deux chapitres permettront d'apporter de nouveaux éléments pour comprendre les règles d'allocations des assimilats selon le génotype/environnement.

V. Bibliographie

Acreche, M.M., Slafer, G.A., 2006. Grain weight response to increases in number of grains in wheat in a Mediterranean area. Field Crops Research 98, 52–59. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2005.12.005

Baillot, N., Girousse, C., Allard, V., Piquet-Pissaloux, A., Le Gouis, J., 2018. Different grain-filling rates explain grain-weight differences along the wheat ear. PLOS ONE 13, e0209597. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209597

Benincasa, P., Reale, L., Tedeschini, E., Ferri, V., Cerri, M., Ghitarrini, S., Falcinelli, B., Frenguelli, G., Ferranti, F., Ayano, B.E., Porfiri, O., Rosati, 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, 175–182. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2017.05.019

Beral, A., Rincent, R., Le Gouis, J., Girousse, C., Allard, V., 2020. Wheat individual grain-size variance originates from crop development and from specific genetic determinism. PLoS ONE 15, e0230689. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230689

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. The Journal of Agricultural Science 132, 453–459.

Calderini, D.F., 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 Biol. 27, 183. https://doi.org/10.1071/PP99066

Hanif, M., Langer, R.H.M., 1972. The vascular system of the spikelet in wheat (Triticum aestivum). Annals of Botany 36, 721–727.

Hasan, A.K., Herrera, J., Lizana, C., 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, 241–247. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2011.05.019

Mair, P., Wilcox, R., 2020. Robust statistical methods in R using the WRS2 package. Behav Res 52, 464–488. https://doi.org/10.3758/s13428-019-01246-w

Miralles, D.J., 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, 55–66. https://doi.org/10.1016/0378-4290(95)00041-N

Rawson, H., Evans, L., 1970. The Pattern of Grain Growth within the Ear of Wheat. Aust. Jnl. Of Bio. Sci. 23, 753. https://doi.org/10.1071/BI9700753

Slafer, G.A., Elia, M., Savin, R., García, G.A., Terrile, I.I., Ferrante, A., Miralles, D.J., González, F.G., 2015. Fruiting efficiency: an alternative trait to further rise wheat yield. Food Energy Secur 4, 92–109. https://doi.org/10.1002/fes3.59

Scott, W.R., Appleyard, M., Fellowes, G., 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. J. Agric. Sci. 100, 383–391. https://doi.org/10.1017/S0021859600033530

Whingwiri, E.E., Kuo, J., Stern, W.R., 1981. The Vascular System in the Rachis of a Wheat Ear. Annals of Botany 48, 189–202. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a086113

Wilcox, R., 2019. Robust ANCOVA, Curvature, and the Curse of Dimensionality. J. Mod. Appl. Stat. Methods 17, jmasm.eP2682. https://doi.org/10.22237/jmasm/1551906370

Wolde, G.M., Schnurbusch, T., 2019. Inferring vascular architecture of the wheat spikelet based on resource allocation in the branched headt (bht-A1) near isogenic lines. Functional Plant Biol. 46, 1023. https://doi.org/10.1071/FP19041

Xie, Q., Mayes, S., Sparkes, D.L., 2015. Carpel size, grain filling, and morphology determine individual grain weight in wheat. Journal of Experimental Botany 66, 6715–6730. https://doi.org/10.1093/jxb/erv378

Yang, Z., van Oosterom, E.J., Jordan, D.R., Hammer, G.L., 2009. Pre-anthesis ovary development determines genotypic differences in potential kernel weight in sorghum. Journal of Experimental Botany 60, 1399–1408. https://doi.org/10.1093/jxb/erp019

Yuen, K.K., 1974 The two-sample trimmed t for unequal population variances.

VI. Données supplémentaires

Tableau S3-6: Résultats de l'ANCOVA robuste par position de grain. Les différences de masse moyenne de grain entre les cultivars à fort et faible PMG sont calculées à chaque position d'épillet pour chaque classe d'épi dans chaque environnement : A) Well-watered condition et B) Water-deficit condition. *Pour le grain 4, l'ensemble des épis a été pris en compte au vu des faibles effectifs (cf. II. Matériels et méthodes). '.': P-value<0.1; '*': P-value<0.05;'**': P-value<0.01; '***': P-value<0.001.*

A)

Position du grain au sein de l'épillet	Classe de l'épi	Numéro d'épillet	Masse moyenne de grain pour les cultivars à fort PMG (mg)	Nombre de grains pour les cultivars à fort PMG	Masse moyenne de grain pour les cultivars à faible PMG (mg)	Nombre de grains pour les cultivars à faible PMG	Différence de masse moyenne de grains (mg)	P-value
1	GE	3	52.42	21	41.56	29	10.86	***
1	GE	4	59.04	31	46.94	42	12.1	***
1	GE	5	61.84	44	49.86	42	11.98	***
1	GE	6	64.74	43	50.7	42	14.04	***
1	GE	7	66.76	45	52.39	41	14.38	***
1	GE	8	66.66	46	51.22	43	15.44	***
1	GE	9	66.43	43	51.23	39	15.2	***
1	GE	10	63.86	45	50.8	37	13.05	***
1	GE	11	62.71	42	49.86	42	12.85	***
1	GE	12	61.05	44	48.66	42	12.39	***
1	GE	13	61.66	45	47.21	41	14.45	***
1	GE	14	58.62	48	46.28	40	12.34	***
1	GE	15	58.07	43	44.23	40	13.83	***
1	GE	16	55.05	42	41.74	40	13.31	***
1	GE	17	53.84	40	39.67	34	14.17	***
1	GE	18	51.15	37	35.17	27	15.98	***
1	GE	19	48.34	27	33.48	9	14.86	***
1	ME	3	52.2	10	40.57	16	11.63	*
1	ME	4	55.62	31	44.63	38	10.99	***
1	ME	5	60.18	45	49.3	44	10.88	***
1	ME	6	61.71	48	49.92	47	11.78	***
1	ME	7	64.12	49	51.66	46	12.46	***
1	ME	8	64.6	48	51.19	45	13.41	***
1	ME	9	63.65	49	51.19	45	12.46	***
1	ME	10	62.34	42	50.07	46	12.27	***
1	ME	11	61.08	46	49.13	47	11.95	***
1	ME	12	59.58	48	47.83	45	11.74	***

1	ME	13	59.25	45	47	40	12.25	***
1	ME	14	57.3	49	44.78	45	12.52	***
1	ME	15	55.44	45	43.67	43	11.77	***
1	ME	16	53.13	45	39.88	42	13.26	***
1	ME	17	50.97	45	37.67	43	13.3	***
1	ME	18	48.66	35	34.65	30	14	***
1	ME	19	45.45	28	34.01	10	11.44	***
1	GE	3	53.21	8	36.88	9	16.33	***
1	GE	4	57.22	25	46.29	20	10.93	***
1	GE	5	58.72	30	47.84	34	10.87	***
1	GE	6	61.5	42	49.26	39	12.24	***
1	GE	7	64	44	51.39	36	12.61	***
1	GE	8	64.21	43	51.29	40	12.92	***
1	GE	9	63.66	45	50.66	38	13	***
1	GE	10	63.24	45	50.66	39	12.58	***
1	GE	11	60.38	42	47.88	39	12.5	***
1	GE	12	59.54	39	47.62	37	11.92	***
1	GE	13	57.14	42	45.22	38	11.92	***
1	GE	14	54.51	40	43.61	39	10.91	***
1	GE	15	52.21	41	40.47	37	11.74	***
1	GE	16	50.8	39	37.44	34	13.36	***
1	GE	17	48.67	29	34.15	26	14.52	***
1	GE	18	45.96	24	31.8	14	14.15	***
2	GE	3	52.82	16	47.05	26	5.77	*
2	GE	4	60.67	31	50.39	38	10.28	***
2	GE	5	64.99	40	52.79	41	12.2	***
2	GE	6	67.52	46	55.23	43	12.29	***
2	GE	7	67.09	46	54.88	37	12.21	***
2	GE	8	67.79	44	54.84	42	12.95	***
2	GE	9	67.43	45	54.23	39	13.2	***
2	GE	10	65.46	42	54.21	38	11.25	***
2	GE	11	64.13	43	53.01	41	11.13	***
2	GE	12	62.42	43	51.29	39	11.13	***
2	GE	13	60.03	40	50.05	41	9.98	***
2	GE	14	57.51	45	48.05	40	9.46	***
2	GE	15	55.47	41	44.75	39	10.72	***
2	GE	16	52.98	44	40.38	41	12.6	***
2	GE	17	48.27	44	35.61	34	12.66	***

2	GE	18	45.35	37	30.1	26	15.25	***
2	GE	19	41.63	27	23.11	8	18.52	***
2	ME	3	54.76	6	43.51	14	11.25	*
2	ME	4	55.96	29	47.26	33	8.7	***
2	ME	5	61.09	40	51.6	42	9.48	***
2	ME	6	61.92	49	53.41	46	8.52	***
2	ME	7	64.51	44	54.45	42	10.05	***
2	ME	8	63.68	49	54.14	47	9.54	***
2	ME	9	63.68	45	53.94	44	9.75	***
2	ME	10	62.36	46	53.38	45	8.97	***
2	ME	11	61.5	49	51.98	44	9.52	***
2	ME	12	59.25	44	49.81	46	9.44	***
2	ME	13	57.56	43	48.01	42	9.54	***
2	ME	14	54.75	48	45.02	46	9.73	***
2	ME	15	51.96	49	42.12	43	9.83	***
2	ME	16	46.63	49	37.91	45	8.72	***
2	ME	17	43.9	37	32.52	37	11.38	***
2	ME	18	42.15	27	27.23	20	14.92	***
2	ME	19	38.67	20	17.81	9	20.86	***
2	GE	3	45.05	5	39.62	6	5.44	ns
2	GE	4	56.57	19	45.39	17	11.18	***
2	GE	5	58.16	28	48.53	33	9.62	***
2	GE	6	60.42	44	52.84	32	7.58	***
2	GE	7	62.54	43	52.2	33	10.34	***
2	GE	8	63.84	43	52.64	38	11.2	***
2	GE	9	61.77	43	52.32	37	9.45	***
2	GE	10	59.17	44	51.29	32	7.88	***
2	GE	11	57.29	45	49.83	34	7.46	***
2	GE	12	55.99	49	47.61	37	8.38	***
2	GE	13	53.21	48	43.87	36	9.34	***
2	GE	14	49.81	46	42.19	38	7.62	***
2	GE	15	47.93	35	38	36	9.94	***
2	GE	16	44.83	31	31.53	31	13.3	***
2	GE	17	43.72	24	27.23	18	16.49	***
2	GE	18	38.41	16	20.46	6	17.95	**
3	GE	3	29.62	6	35.32	12	-5.7	ns
3	GE	4	37.96	17	39.24	27	-1.28	ns
3	GE	5	41.84	28	42.38	40	-0.53	ns

3	GE	6	43.47	34	45.09	41	-1.62	ns
3	GE	7	46.17	42	46.94	37	-0.77	ns
3	GE	8	47.17	43	45.76	42	1.41	ns
3	GE	9	49.7	44	46.16	38	3.53	***
3	GE	10	45.94	44	44.72	41	1.22	ns
3	GE	11	43.94	42	41.1	38	2.84	*
3	GE	12	39.57	43	39.24	39	0.33	ns
3	GE	13	36.2	40	34.47	43	1.73	ns
3	GE	14	30.93	32	29.74	39	1.19	ns
3	GE	15	28.81	16	24.44	31	4.36	*
3	GE	16	25.12	8	21.27	16	3.85	ns
3	ME	4	35.32	13	33.39	13	1.93	ns
3	ME	5	35.44	22	39.27	33	-3.83	.
3	ME	6	38.53	35	40.97	44	-2.45	.
3	ME	7	40.77	37	42.89	40	-2.12	ns
3	ME	8	41.8	48	42.75	43	-0.95	ns
3	ME	9	40.21	45	42.26	42	-2.05	ns
3	ME	10	38.57	40	38.97	44	-0.4	ns
3	ME	11	36.74	41	37.27	39	-0.53	ns
3	ME	12	32.62	36	33.18	42	-0.56	ns
3	ME	13	31.06	19	29.12	33	1.94	ns
3	ME	14	25.82	10	24.04	30	1.78	ns
3	GE	5	34.23	17	30.55	18	3.67	*
3	GE	6	34.98	25	35.13	30	-0.15	ns
3	GE	7	37.4	29	38.15	33	-0.75	ns
3	GE	8	34.99	29	37.45	31	-2.46	ns
3	GE	9	36.69	23	36.32	29	0.37	ns
3	GE	10	34.74	20	33.58	33	1.16	ns
3	GE	11	31.33	15	32.1	32	-0.78	ns
3	GE	12	38.1	5	28.4	25	9.7	ns

B)

Position du grain au sein de l'épillet	Classe de l'épi	Numéro d'épillet	Masse moyenne de grain pour les cultivars à fort PMG (mg)	Nombre de grains pour les cultivars à fort PMG	Masse moyenne de grain pour les cultivars à faible PMG (mg)	Nombre de grains pour les cultivars à faible PMG	Différence de masse moyenne de grains (mg)	P-value
1	GE	3	41.86	17	39.58	31	2.28	ns
1	GE	4	53.79	29	43.12	52	10.68	***
1	GE	5	55.28	38	45.29	53	9.99	***

1	GE	6	59.72	43	47.17	52	12.55	***
1	GE	7	61.02	45	49.12	54	11.9	***
1	GE	8	61.72	44	48.6	52	13.12	***
1	GE	9	60.64	43	49.26	54	11.38	***
1	GE	10	60.77	43	47.43	54	13.34	***
1	GE	11	59.63	46	46.42	52	13.21	***
1	GE	12	58.11	44	44.82	54	13.28	***
1	GE	13	56.57	46	43.23	51	13.35	***
1	GE	14	55.19	46	42	54	13.19	***
1	GE	15	52.13	44	40.25	51	11.88	***
1	GE	16	50.3	44	37.78	51	12.52	***
1	GE	17	48.05	41	35.31	35	12.73	***
1	GE	18	46.56	28	33.44	17	13.12	***
1	ME	3	48.17	8	33.59	23	14.57	***
1	ME	4	51.4	17	39.96	43	11.44	***
1	ME	5	55.99	33	43.79	47	12.2	***
1	ME	6	58.42	41	45.27	49	13.14	***
1	ME	7	59.68	43	46.86	50	12.83	***
1	ME	8	60.19	46	46.92	49	13.27	***
1	ME	9	61.05	46	46.44	49	14.6	***
1	ME	10	59.44	43	45.5	51	13.94	***
1	ME	11	58.71	44	44.29	51	14.42	***
1	ME	12	57.21	45	42.33	52	14.88	***
1	ME	13	54.91	44	41.96	49	12.96	***
1	ME	14	53.21	45	39.83	49	13.38	***
1	ME	15	51.12	41	37.78	44	13.34	***
1	ME	16	49.59	37	34.94	42	14.65	***
1	ME	17	45.31	29	31.27	27	14.04	***
1	ME	18	44.97	25	29.8	7	15.17	***
1	PE	3	53.22	10	40.14	9	13.08	***
1	PE	4	54.45	16	35.8	27	18.65	***
1	PE	5	54.3	24	41.97	44	12.33	***
1	PE	6	54.58	31	44.68	45	9.91	***
1	PE	7	56.66	34	45.32	45	11.34	***
1	PE	8	57.95	38	45.9	44	12.05	***
1	PE	9	56.04	39	44.98	44	11.06	***
1	PE	10	56.6	42	44.1	45	12.5	***
1	PE	11	53.32	45	42.58	46	10.74	***

1	PE	12	51.58	37	41.56	46	10.02	***
1	PE	13	49.28	40	38.57	47	10.71	***
1	PE	14	48.46	37	36.79	45	11.67	***
1	PE	15	46.65	30	33.92	38	12.73	***
1	PE	16	44.9	27	30.59	26	14.31	***
1	PE	17	42.8	21	28.28	17	14.52	***
1	PE	18	40.1	21	23.16	5	16.94	***
2	GE	3	43.36	9	39.49	26	3.87	ns
2	GE	4	52.89	28	45.48	48	7.41	***
2	GE	5	56.96	36	49.71	55	7.25	***
2	GE	6	59.61	40	51.27	51	8.34	***
2	GE	7	59.49	46	51.94	52	7.55	***
2	GE	8	61.9	45	51.53	53	10.37	***
2	GE	9	62.31	44	51.83	53	10.48	***
2	GE	10	61.18	40	50.3	53	10.88	***
2	GE	11	58.69	45	49.26	54	9.44	***
2	GE	12	57.98	43	47.5	54	10.49	***
2	GE	13	54.86	46	44.48	54	10.38	***
2	GE	14	51.9	45	42.92	52	8.98	***
2	GE	15	48.95	45	38.31	51	10.64	***
2	GE	16	43.47	42	33.92	44	9.55	***
2	GE	17	39.15	31	28.36	29	10.79	***
2	GE	18	40.1	18	24.92	9	15.19	***
2	ME	3	44.36	7	33.26	19	11.1	**
2	ME	4	51.79	16	41.29	37	10.51	***
2	ME	5	54.7	26	45.63	50	9.07	***
2	ME	6	57.82	36	47.41	50	10.41	***
2	ME	7	58.3	46	49.03	48	9.27	***
2	ME	8	59.62	46	49.06	50	10.56	***
2	ME	9	59.62	47	48.54	50	11.07	***
2	ME	10	58.65	46	47.23	48	11.42	***
2	ME	11	57.74	42	46.07	49	11.67	***
2	ME	12	54.56	47	43.6	49	10.96	***
2	ME	13	50.51	46	41.63	46	8.88	***
2	ME	14	47.01	45	38.23	47	8.78	***
2	ME	15	44.93	40	33.74	43	11.2	***
2	ME	16	40.75	31	28.47	33	12.28	***
2	ME	17	38.3	22	22.55	13	15.75	***

2	PE	3	48.72	9	39.57	8	9.15	*
2	PE	4	52.35	16	39.44	22	12.91	***
2	PE	5	51.76	22	42.98	41	8.78	***
2	PE	6	52.77	29	45.83	45	6.94	***
2	PE	7	55.22	37	47.37	47	7.86	***
2	PE	8	53.84	40	46.98	45	6.85	***
2	PE	9	53.33	40	46.8	43	6.53	***
2	PE	10	52.23	41	45.54	46	6.68	***
2	PE	11	48.91	42	42.86	45	6.05	***
2	PE	12	47.38	38	40.26	48	7.13	***
2	PE	13	42.93	32	36.66	45	6.27	***
2	PE	14	41.39	32	32.3	42	9.09	***
2	PE	15	37.91	25	30.29	26	7.62	***
2	PE	16	35.71	11	22.92	16	12.79	**
3	GE	4	34.22	5	31.36	28	2.86	ns
3	GE	5	37.28	23	34.17	47	3.12	ns
3	GE	6	39.47	28	39.97	49	-0.5	ns
3	GE	7	39.3	34	41.63	54	-2.34	ns
3	GE	8	41.53	37	41.97	51	-0.44	ns
3	GE	9	41.07	39	40.68	52	0.4	ns
3	GE	10	41.06	33	38.63	51	2.43	**
3	GE	11	36.55	37	35.32	54	1.24	ns
3	GE	12	35.8	25	31.51	49	4.28	**
3	GE	13	28.3	14	28.47	34	-0.17	ns
3	GE	14	23.9	5	24.13	23	-0.23	ns
3	ME	5	36.63	13	30.28	34	6.35	*
3	ME	6	36.61	19	32.66	42	3.95	*
3	ME	7	38.47	21	35.2	50	3.27	*
3	ME	8	37.82	25	35.72	47	2.11	ns
3	ME	9	36.93	27	35.04	48	1.89	ns
3	ME	10	33.56	23	32.63	44	0.93	ns
3	ME	11	29.56	15	29.56	42	0	ns
3	ME	12	29.33	8	25.38	33	3.95	ns
3	PE	5	29.74	7	28.85	13	0.9	ns
3	PE	6	30.92	11	29.54	31	1.38	ns
3	PE	7	33.62	10	30.41	36	3.22	ns
3	PE	8	29.98	8	30.54	37	-0.57	ns

CHAPITRE 4 : REPONSES DES GRAINS INDIVIDUELS A UN STRESS THERMIQUE POST-FLORAISON

Partie 1: Présentation du chapitre

Ce dernier chapitre de résultats s'inscrit dans la même démarche méthodologique que le chapitre précédent. Il s'agit d'étudier à l'échelle du grain individuel certains processus en lien avec le remplissage du grain afin de mieux comprendre la résultante sur le PMG. Dans le cas présent il s'agit d'étudier les effets d'un stress thermique sur le remplissage des grains en fixant l'échelle d'étude au niveau du grain individuel. La problématique générale de la thèse étant de proposer des pistes d'amélioration du rendement à travers la sélection du PMG dans des conditions de stress abiotiques post-floraison, il s'agit dans ce dernier chapitre de résultats, de déterminer si les réponses à un stress thermique post-floraison des grains individuels sont différentes et d'explorer, le cas échéant, les causes possibles de ces réponses différentielles.

Partie 2 : Réponses des grains individuels à un stress thermique post-floraison

I. Introduction

Les stress thermiques font indéniablement partie, comme discuté dans le chapitre 1, des stress abiotiques dont la fréquence et la sévérité vont s'amplifier avec le changement climatique dans les années futures, comme l'ont démontré de nombreuses simulations effectuées avec la plupart des modèles climatiques globaux (Semenov and Shewry, 2011; Weisheimer and Palmer, 2005). Les pertes de rendement conséquentes chez le blé tendre liées à la recrudescence de ces stress thermiques ont été évaluées également avec de nombreux modèles de culture (Asseng *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2016) avec une estimation de 6% de perte globale de production chez le blé pour chaque degré supplémentaire.

L'importance des impacts des stress thermiques chez le blé a été largement explorée. Outre les effets sur le rendement, largement étudiés, les impacts sur les différentes composantes de rendement sont également très étudiés (Farooq *et al.*, 2011; Pradhan *et al.*, 2012). Les stress thermiques peuvent être caractérisés par leur durée et leur intensité. Selon le moment du cycle de développement auquel ce stress thermique survient, certaines composantes du rendement seront plus exposées que d'autres. La plupart des études se concentrent sur les stress thermiques durant la période reproductive, en ciblant les effets du stress thermique autour de l'anthèse, qui affecte fortement le nombre de grains par épi (Farooq *et al.*, 2011 et références citées; Pradhan *et al.*, 2012). Cependant, un certain nombre d'études ont également montré des effets forts sur le PMG, comme nous l'avons décrit dans le chapitre 1 (Farooq *et al.*, 2011; Sharma *et al.*, 2019). Ainsi, il a été montré que le PMG pouvait diminuer de 85% lorsque la température passe de 20/16 °C (jour/nuit) à 36/31 °C (jour/nuit) de 7 jours après anthèse jusqu'à maturité (Tashiro and Wardlaw, 1989). Le stress thermique peut d'une part affecter négativement les sources d'assimilats en diminuant la capacité photosynthétique globale de la plante (Pradhan *et al.*, 2012; Triboi and Triboi-Blondel, 2002). D'autre part, le stress thermique a également un effet négatif fort sur les puits (les grains en formation) et leur remplissage. Les impacts du stress thermique sur les paramètres de remplissage (durée et vitesse) ont été largement décrits, identifiant en particulier une diminution systématique de la durée de remplissage et une augmentation limitée voire une stagnation de la vitesse de remplissage (Sofield *et al.*, 1977;

Stone *et al.*, 1995). A une échelle plus fine, plusieurs études ont été menées pour estimer les effets d'un stress thermique post-floraison sur les structures tissulaires particulières qui constituent le grain, telles que l'albumen (Nicolas *et al.*, 1985; Tashiro and Wardlaw, 1990). Tashiro and Wardlaw (1990) ont ainsi décrit les dégâts morphologiques et cellulaires au sein de l'albumen dus à un stress thermique fort à différents stades de développement du grain. Les stress thermiques fort (36/31°C) appliqués de 6 à 10 jours après anthèse, soit pendant la phase de division cellulaire des grains, sont ainsi responsables de la formation de grains « dentelés », fendus et noirs correspondant à une dégradation de la forme et du diamètre des granules d'amidon au sein de l'albumen. Enfin, de fortes températures sont susceptibles de diminuer la biosynthèse de l'amidon via des effets sur les enzymes impliquées dans ce processus, chacune présentant des optimaux thermiques différents (Lu *et al.*, 2019).

Dans le cadre de l'hypothèse majeure de la thèse, nous avons postulé que le PMG pouvait être un trait d'intérêt pour l'amélioration du rendement, en particulier dans des conditions de stress abiotiques post-floraison. Dans le chapitre précédent, l'intérêt de passer du grain moyen (PMG) au grain individuel pour affiner notre compréhension des processus en lien avec le remplissage, a été démontré. Si la réponse moyenne aux stress abiotiques post-floraison, et en particulier aux stress thermiques, est bien connue, sa décomposition en réponses individuelles de chaque grain l'est beaucoup moins. En effet, à notre connaissance, les pertes de masses des grains en réponse à un stress thermique post-floraison prenant en compte les positions exactes au sein de l'épi n'ont été étudiées qu'une seule fois chez le blé sur une seule variété (Tashiro and Wardlaw, 1990). Dans cette étude, Tashiro and Wardlaw (1990) ont cherché à déterminer les stades de développement les plus sensibles à un stress thermique pour chaque position de grain. Cependant, aucune covariable (différentiel de masse d'ovaire, décalage de développement entre grain) n'avait été prise en compte pour comprendre les effets du stress selon la position du grain, laissant donc en suspend l'identification des processus causaux des effets positionnels. De plus, dans cette étude, seul un nombre limité d'épis (10 épis) avaient été utilisé pour évaluer les pertes de masses par grain individuel, laissant supposer que la forte variabilité entre épi pouvait masquer certains effets de faible amplitude. Chez d'autres espèces, quelques études ont été réalisées en prenant en compte les positions des grains individuels dans les inflorescences. Chez le riz par exemple, Zakaria *et al.* (2002) ont montré que les nombres de grains « remplis », « partiellement remplis » ou « vides », selon le niveau de remplissage des grains individuels, étaient variables selon les positions des grains au sein de la panicule (partie inférieure ou supérieure). L'expérience présentée dans ce chapitre vise à vérifier et renforcer les résultats de

l'étude de Tashiro and Wardlaw (1990) sur les réponses différentielles des grains de blé à un stress thermique post-floraison.

De plus, les causes des réponses différentielles des grains à un stress thermique post-floraison n'ayant pas, à notre connaissance, été explorées, le deuxième objectif de ce chapitre est d'identifier les causes putatives des effets positionnels observés. Nous avons vu qu'il existe des décalages développementaux au sein de l'épi, caractérisés par des différences de date de floraison de chaque fleur (Baillot *et al.*, 2018; Rawson and Evans, 1970) ou/et des différences de masses des ovaires individuels au sein de l'épi (Calderini *et al.*, 1999; Hasan *et al.*, 2011; Xie *et al.*, 2015). Or, le stress thermique étant appliqué sur tous les grains d'un épi au même moment, il est possible de supposer que la sensibilité des grains individuels au stress à un instant donné sera variable selon leur stade exact de développement auquel le stress s'applique effectivement (Tashiro and Wardlaw, 1990). Une seconde hypothèse qui peut être formulée est que la réponse d'un grain individuel à un stress thermique dépend de sa force de puits intrinsèque. Nous avons vu (*Cf* Chapitre 1) que les grains présentant des masses d'ovaires plus importantes à floraison présentent des forces de puits initiales plus importantes. Nous testerons donc l'hypothèse selon laquelle la réponse au stress dépend de la masse potentielle du grain et nous verrons si à un putatif effet masse, s'ajoutent des effets purement positionnels.

L'objectif de ce dernier chapitre est donc de décrire l'effet d'un stress thermique post-floraison sur la distribution des masses sèches finales des grains le long de l'épi et apporter des premières réponses sur les causes de ces réponses différentielles. Pour être certain que le stress impacte uniquement les masses des grains individuels, et non le nombre de grains par épi, le stress thermique sera appliqué strictement sur la phase de remplissage après la floraison complète de l'épi et donc à un stade où le nombre de grains par épi peut être considéré comme fixé.

II. Matériel et méthodes

2.1. Expérience et choix des épis

L'étude a été réalisée en chambre de culture avec un seul génotype de blé d'hiver (*T. aestivum L.*) : Récital. Ce génotype a été choisi pour le corpus de connaissances déjà disponibles dans l'équipe ainsi que parce qu'il produit habituellement des populations de plantes relativement homogènes. Les graines semées sont issues d'un lot de semences produites par multiplication en serre en 2018. Le taux de germination de ce lot de semences a préalablement été testé sur 4 boîtes de 25 graines disposées sur du papier absorbant humidifié et laissées à température ambiante : 100% de germination a été obtenu au bout de 72h.

A la sortie de la vernalisation (d'une durée de 6 semaines à 6°C), des plantes homogènes au stade 3 feuilles ont été sélectionnées et repiquées en tubes PVC (diamètre=7cm, hauteur=60 cm) à raison de 2 plantes par tube. Les tubes ont été remplis au préalable d'un fond de gravier et d'un terreau de culture enrichi avec 2.5 kg m^{-3} d'engrais (9-12-16 (N-P-K)). Ces tubes ont été disposés dans cinq bacs de 0,49 m^2 à raison de 64 tubes par bacs, soit 128 plantes par bac (Figure 4-1). Cette configuration permet d'obtenir une densité de couvert d'environ 260 plantes m^{-2}, densité comparable à celle généralement obtenue au champ avec les pratiques agronomiques locales. A partir du repiquage, les plantes ont été cultivées en chambre de culture (chambre 1) sous température régulée à 23/20°C (16h jour/ 8h nuit). Les conditions de culture sont non limitantes en termes d'irrigation et de nutrition minérale. Des ombrières ont été installées autour des bacs pour limiter les effets de bordure. Le rayonnement incident sur le haut du couvert était d'environ 600 µmol PAR m^{-2} s^{-1} en début de cycle (couvert bas) et d'environ 800 µmol PAR m^{-2} s^{-1} après la floraison (plantes hautes) mais homogène spatialement au sein de la chambre.

A épiaison complète, les maîtres-brins ont été repérés et le nombre d'épillets par épi compté dans le but de sélectionner 50 épis homogènes possédant 21 épillets et appartenant à des plantes différentes. Ces 50 épis ont été séparés aléatoirement en deux groupes de 25 épis. Les plantes des deux groupes ont été soumises à deux traitements thermiques post-anthèse distincts :

- Un traitement témoin (T) dans lequel la température de la chambre a été maintenue à 25°C jour-nuit, soit une température moyenne journalière de 25°C (Figure S4-1). Les plantes de ce traitement ont été maintenues dans la chambre initiale (chambre 1).
- Un traitement de températures élevées (HT) soit 32°/27°C en alternance jour/nuit (photopériode de 16h de jour et 8h de nuit) soit une température moyenne journalière de 28.3°C

(Figure S4-2). Les plantes de ce traitement ont été déplacées dans la chambre adjacente (chambre 2).

Dans chaque traitement et pour chaque épi repéré, la date d'apparition des premières anthères (date de floraison) a été noté. Soit J (0°CJ) le jour de la date de floraison d'un épi donné devant être soumis au traitement HT. La plante portant cet épi a été transférée en chambre de culture 2 (HT) au jour J+6 (150°CJ) ; à ce stade, l'ensemble des fleurs d'un épi ont fleuri et les premiers grains sont en fin de phase de division cellulaire et vont entrer en phase de remplissage. La plante est restée soumise aux températures élevées pendant 14 jours (environ 400°CJ) puis remise dans la chambre 1 (condition témoin) à sa position initiale, jusqu'à maturité physiologique du grain.

Figure 4-1 : Chambre 1 (Témoin, Température moyenne journalière = 25°C) pendant la phase de remplissage des épis. Les épis repérés présentent une étiquette rouge avec un numéro unique.

2.2. Prélèvement des échantillons et acquisition des données

A maturité, tous les épis repérés ont été prélevés et battus en identifiant la position de chaque grain sur l'épi et dans les épillets (Figure 4-2). Les grains ont été placés à l'étuve pendant 48h à 60°C puis pesés individuellement à l'aide d'une balance de précision (Mettler Toledo, précision 1 µg).

Les biomasses du reste de la plante (pailles (tige et feuilles) provenant des épis repérés, épis et pailles des talles restants) ont également été placés à l'étuve 48h à 60°C puis pesés pour les 50 épis sélectionnés. Pour l'ensemble des grains des épis restants, leurs nombres et leurs masses moyennes ont été mesurés avec un dispositif automatique de pesage et de comptage des

semences (Opto Agri2, Optomachine, France). A partir du nombre d'épis restants et du nombre de grains, le nombre de grains par épi moyen a été calculé.

A floraison, onze épis supplémentaires portant également 21 épillets ont été sélectionnés afin d'évaluer le décalage de floraison le long de l'épi. Pour évaluer les décalages de floraison au sein de l'épi, une notation du moment de floraison de chaque fleur au sein de chaque épillet a été effectuée. Les notations de floraisons ont été réalisées deux fois par jour afin d'avoir une notation au plus proche du moment de la fécondation. Enfin, neuf épis supplémentaires portant également 21 épillets ont été prélevés à floraison complète pour obtenir les masses sèches des ovaires à chaque position à floraison. En prélevant un épi quand toutes les fleurs ont fleuri, on fait l'hypothèse que pour les premiers grains fleuris, la masse de l'ovaire à cette date n'est pas très différente de la masse au moment de la fécondation (Chateigner-Boutin *et al.*, 2018).

Notre variable d'étude est donc la masse sèche des grains identifiés par leur position au sein de l'épi sous deux traitements. Les biomasses sèches du reste de la plante, tout comme les données acquises sur les onze épis à floraison et sur les neuf épis à floraison complète, pourront servir de covariables permettant de prendre en compte d'éventuels effets d'une répartition différentielle des assimilats et du décalage développemental sur la masse finale des grains.

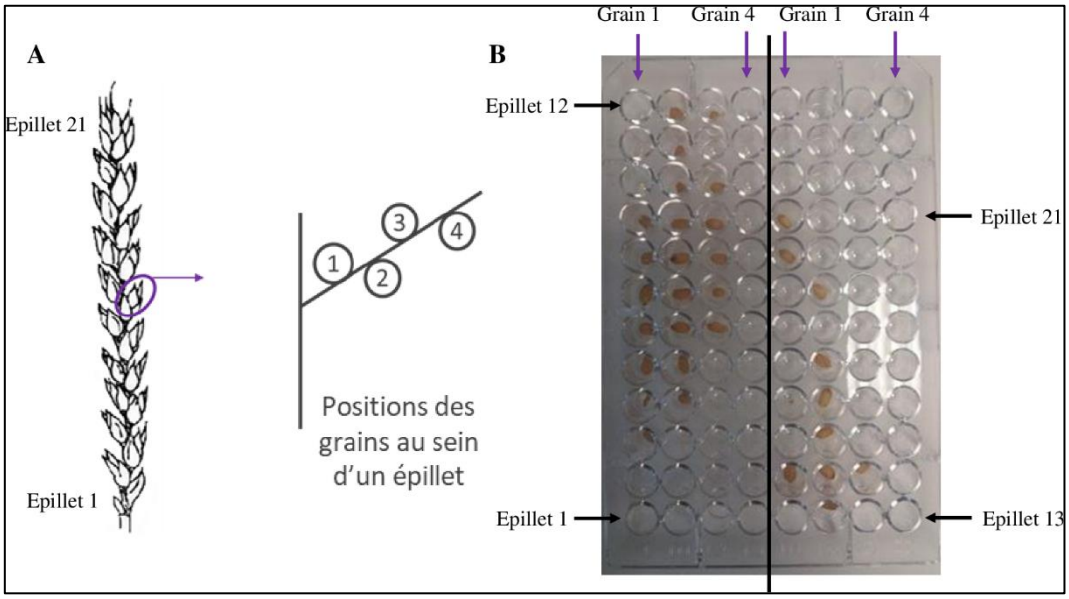


Figure 4-2: Echantillonnage d'un épi avec position des grains individuels au sein d'un épi (A) et dans une plaque 96 puits permettant le repérage des grains (B).

2.3. Analyses statistiques

2.3.1. Calcul des dates de floraison en degré jour pour chaque position de fleur individuelle

Sur chacun des onze épis sur lesquels les dates de floraison ont été notées, un calcul des dates de floraison en degré jour (°CJ) pour chaque position de fleur individuelle a été effectué en prenant comme moment initial (0°CJ) la date de la première floraison. Ensuite, à partir des températures moyennes journalières mesurées dans la chambre 1 (Figure S4-1), la date de floraison de chaque fleur est calculée en additionnant les températures moyennes journalières supérieures à 0°C depuis la première floraison jusqu'à floraison de la fleur considérée.

2.3.2. Evaluation de l'effet d'un stress thermique post-floraison sur la biomasse aérienne

A l'échelle de la plante et de l'épi, différents traits de biomasse aérienne (masses des épis repérés et masses de leurs pailles, masses des épis restants et masses de leurs pailles, nombre de grains par épi et masse moyenne des grains) ont été mesurés. Pour évaluer l'effet du stress thermique post-floraison, un test post-hoc de Tukey a été réalisé suite à une ANOVA. Un effet significatif du bac de culture dans lequel les plantes étaient placées avant application du stress a été noté. En conséquence, pour chaque trait de biomasse, le modèle linéaire utilisé prend en compte le plan d'essai de la manière suivante :

(1) $Yijl = \mu + Bj + Ti + \epsilon ijl,$ [Eq.1]

où Yijl est l'observation d'un caractère donné pour le traitement i (1,2) , le bac j (1 à 5) et la répétition l (nombre variable selon les bacs), μ est l'intercept Bj est l'effet fixe du bac j, Ti est l'effet fixe du traitement i et ϵijl est le résidu suivant une distribution normale $N(0, \sigma_{\varepsilon}^{2})$.
Afin de déterminer les positions d'épillets les plus impactés par le stress thermique, les masses d'épillet ont été calculées à partir des masses des grains individuels qui les composent. Pour évaluer l'effet du stress thermique post-floraison, le test post-hoc de Tukey a été réalisé suite à une ANOVA suivant le modèle présenté ci-dessus (Equation (1)).

2.3.3. Détermination des moyennes ajustées des masses de grains individuels, des masses d'ovaires individuels et des dates de floraison par grain

Des moyennes ajustées ont été calculées afin de prendre en considération le plan d'essai (bacs) pour chaque trait (masses de grains individuels, masses d'ovaires individuels, date de floraison par grain) pour chaque traitement à l'aide du modèle linéaire qui suit :

(2) $Yjl = \mu + Bj + \epsilon jl$, [Eq.2]

où Yjl est l'observation d'un caractère donné pour le bac j et la répétition l, μ est l'intercept, Bj est l'effet fixe du bloc j et ϵjl est le résidu suivant une distribution normale $N(0, \sigma_\varepsilon^2)$.

Pour chaque position de grain, les réponses différentielles des grains individuels au stress thermique ont enfin été calculées en pourcentage de perte de masse relative entre les grains « stressés » et les grains « témoins » à partir des moyennes ajustées.

III. Résultats

3.1. Impact du stress thermique post-floraison sur la biomasse aérienne

La perte de biomasse aérienne due au stress thermique post-floraison a pu être évaluée sur les différents organes (Tableau 4-1).

Intéressons-nous d'abord aux biomasses des talles portant les épis repérés. Le stress post-floraison (HT) a entraîné une perte de masse sèche des épis repérés de 21% par rapport aux épis témoins (T). La masse sèche moyenne des pailles (tige + feuilles) portant ces épis ne présente en revanche pas de différence significative entre les deux conditions thermiques. En décomposant la masse d'épis, on note que ni le nombre moyen d'épillets fertiles par épi ni le nombre de grains moyen par épi n'a pas été impacté, comme attendu, par le stress thermique post-floraison. En revanche, ce nombre est, quel que soit le traitement, beaucoup plus faible que celui attendu (environ 18 ou 19) sur la base de notre expérience passée avec ce génotype pour des épis sélectionnés avec 21 épillets à anthèse. Enfin, la masse moyenne des grains des épis repérés est diminué de 17% par le stress thermique post-floraison.

Comme décrit plus haut, notre stratégie d'échantillonnage nous permettait d'analyser la biomasse totale des plantes sur lesquelles les épis étaient sélectionnés. A l'échelle de la plante entière, seules des différences significatives de masses sèches d'épis (hors épis repérés) et de masse moyenne des grains entre les deux conditions de l'ordre de 29% et 22% respectivement ont été observées. Ces valeurs tendent à montrer que les effets notés sur les épis repérés étaient similaires en moyenne pour les autres épis du tube.

Ainsi, le stress thermique a eu un effet fort sur les masses des grains portés par les épis repérés, sans impacter ni le nombre de grains par épi des épis repérés ni les masses sèches totales des pailles par tube.

Pour comprendre l'effet du stress thermique post-floraison sur les grains individuels, il est nécessaire de descendre à l'échelle de l'épi et du grain individuel.

Tableau 4-1 : Moyenne et écart-type (SD) pour la biomasse sèche à maturité des différents compartiments pris en compte en condition témoin et en condition de stress thermique post-floraison. *L'effet traitement correspond au résultat du test de significativité entre les deux traitements (témoin et stress thermique post-floraison). MS Epi : Masse sèche moyenne des épis repérés à maturité ; MS Pailles : Masse sèche moyenne des pailles des épis repérés à maturité ; MS Total : Masse sèche moyenne des épis et des pailles des épis repérés à maturité ; Masse moyenne des grains ; Nombre de talles restants : Nombre de talles restants en moyenne dans chacun des tubes contenant un épi repéré; MS épis des talles restants : Masse sèche moyenne des épis des talles restants ; MS pailles des talles restants : Masse sèche moyenne des pailles des talles restants; Biomasse totale par tube : Biomasse totale moyenne par tube en comptant l'épi repéré, ses pailles, les épis des talles restants et leurs pailles. '**' : P-value<0.01 ; '***' : P-value<0.001; ns: non significatif.*

		Témoin (T)		Stress thermique post-floraison (HT)		Effet Traitement
		Moyenne	SD	Moyenne	SD	
Epis repérés	MS Epi (g)	1,32	0,28	1,04	0,22	***
	MS Pailles (g)	1,09	0,20	1,04	0,15	ns
	MS Total (g)	2,41	0,44	2,08	0,30	**
	Nombre de grains par épi	29,7	7,9	26,1	8,2	ns
	Nombre d'épillets fertiles par épi	15,7	3,9	14,2	3,7	ns
	Masse moyenne des grains (mg)	33,85	4,96	28,13	2,26	***
Biomasse des plantes des tube des épis repérés	Nombre de talles restants	5,15	1,32	4,86	0,94	ns
	MS épis des talles restants (g)	5,14	1,77	3,67	1,03	***
	MS Pailles des talles restants (g)	5,09	1,06	5,21	0,78	ns
	Biomasse totale par tube (g)	12,95	2,99	11,48	1,34	ns
	Moyenne du nombre de grains par épi pour les talles restants	121,8	48,2	102,9	46,9	ns
	Masse moyenne des grains (mg)	31,57	4,66	24,74	2,67	***

3.2. Décalages de floraisons et masses des ovaires à anthèse

Il est d'abord nécessaire d'évaluer les décalages développementaux (date de floraison et masses des ovaires) qui existent à floraison au sein des épis.

Il existe en effet des décalages de floraison le long de l'épi et au sein des épillets (Figure 4-3). Les premières floraisons ont lieu dans les épillets centraux pour les grains 1 puis progressivement aux grains 1 en position basale et apicale. Par exemple, pour les grains 1, les dates de floraison varient entre 0°CJ et 125°CJ entre les épillets centraux et les épillets basaux. De manière similaire, les floraisons aux positions 2, 3 et 4 au sein des épillets ont lieu progressivement, d'abord dans les épillets centraux puis dans les épillets basaux et apicaux (Figure 4-3). Par exemple, au sein des épillets centraux, les dates de floraison entre les grains 1 et 4 ou 5 varient entre 0°CJ et 90°CJ.

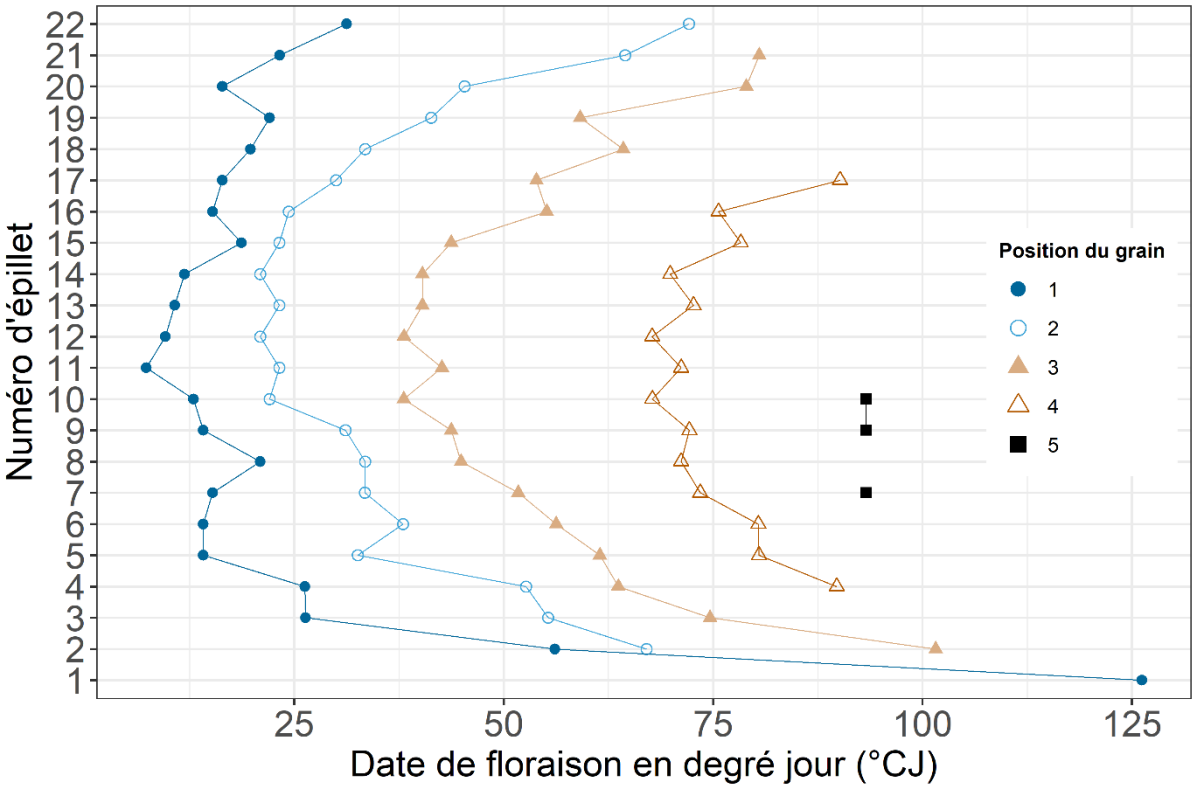


Figure 4-3: Date de floraison (°CJ) à partir de la première floraison à chaque position du grain au sein des épillets et pour tous les épillets (numérotés à partir de la base).

De la même manière, les masses d'ovaire sont variables selon la position de la fleur au sein de l'épi. Il y a ainsi une corrélation négative significative entre la date de floraison et les masses d'ovaires à anthèse (Figure S4-3). Ainsi, la distribution des masses sèches d'ovaires à floraison complète le long de l'épi et au sein des épillets est similaire aux distributions de masses de grains individuels le long de l'épi (Figure 4-4). Les ovaires en position 1 et 2 au sein des épillets présentent systématiquement des masses individuelles plus élevées que les ovaires en position 3 et 4 au sein des épillets. Par exemple, au sein des épillets centraux, les masses d'ovaires entre les grains 1 et 4 varient entre 1.6 mg et 0.3 mg. De même, les ovaires dans les épillets basaux et apicaux sont plus petits que les ovaires dans les épillets centraux. Par exemple, pour les grains 1, les masses d'ovaires varient entre 0.6 mg et 1.6 mg entre les épillets centraux et les épillets basaux.

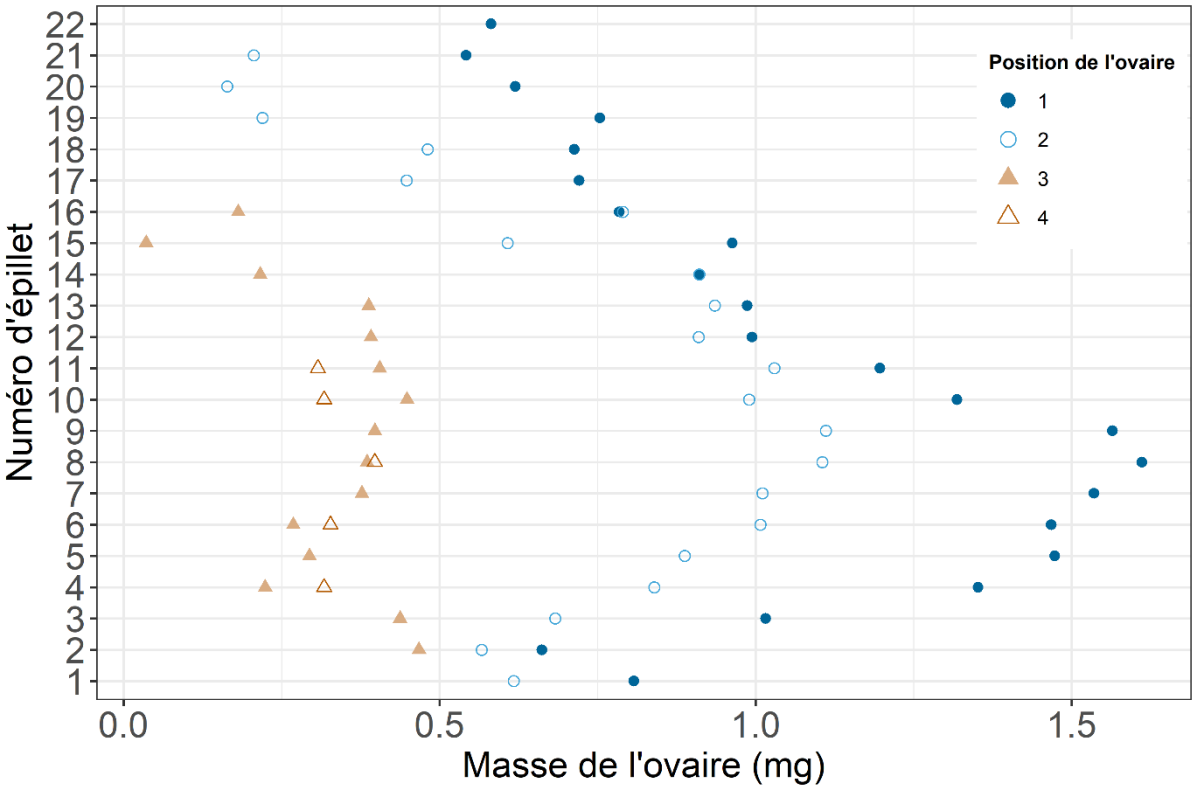


Figure 4-4 : Masse sèche moyenne de l'ovaire (mg) à chaque position de l'ovaire au sein des épillets et pour tous les épillets.

3.3. Réponses différentielles des grains individuels au stress thermique post-floraison

Exprimés en pourcentage de perte de masse entre les grains « stressés » et les grains « témoins », les résultats montrent que les grains individuels répondent différemment au stress thermique post-floraison selon leurs masses (Figure 4-5). En effet, pour les positions de grain 1 à 3 au sein des épillets, il semble y avoir une corrélation positive entre la masse moyenne des grains en condition témoin et la perte de matière sèche due au stress thermique post-floraison. Ce résultat est également visible à l'échelle de l'épillet (Figure 4-6) qui montre la distribution des masses de grains par épillet sous les deux traitements. La distribution des masses de grains par épillet le long des épis témoins comme sur ceux soumis au stress post-floraison correspond à la distribution « classique » observée dans la plupart des études à l'échelle de l'épi. Quel que soit le traitement, les épillets centraux sont globalement plus lourds que les épillets basaux et apicaux (Figure 4-6). La différence entre les distributions des masses des grains par épillet sur épis témoins (T) et sur épis stressés (HT) est visible avec une perte de masse par épillet pour les épis stressés comprise entre 12% et 52% (HT) selon la position de l'épillet sur l'axe de l'épi (Figure 4-6). Les épillets dans la partie centrale de l'épi, de l'épillet 5 à l'épillet 11, sont les plus impactés par le stress thermique avec des pertes de masses significatives entre 22% et 32% (Figure 4-6 ; Tableau S4-1). Or les grains individuels des épillets centraux, de l'épillet 5 à l'épillet 11, ont effectivement les masses les plus élevées et sont les plus impactées (Figure 4-5). De plus, on observe également une réponse différente pour deux grains de masse similaire en condition témoin (Figure 4-5). Ainsi, pour les grains individuels dans les épillets basaux (épillets 1 à 2) et plus apicaux (épillets 12 à 21) qui présentent des masses de grains similaires, les effets du stress thermique post-floraison sont plus forts sur les épillets apicaux que sur les épillets basaux. Par exemple, un grain 2 positionné sur l'épillet 18, perd proportionnellement plus de masse (-42%) que le grain en même position de l'épillet 1 (-16%) pour des masses similaires en condition témoin. Il semble donc que la réponse différentielle des grains individuels au stress thermique puisse s'expliquer d'une part par un effet de la masse du grain et d'autre part, par un effet purement positionnel.

Il est à noter que les épillets les plus apicaux, de l'épillet 16 à 21, sont peu fertiles (Tableau S4-1). Les résultats sur ces épillets reposent donc sur un nombre limité de répétitions ne permettant pas de conclure sur la significativité des différences observées. De plus, les grains 1 au sein des épillets 12 à 19 sont absents dans un grand nombre d'épis (exemple sur Figure 4-2) dans les

deux traitements, ce qui n'a pas permis de calculer une réponse différentielle au stress thermique pour les grains considérés (Figure 4-5).

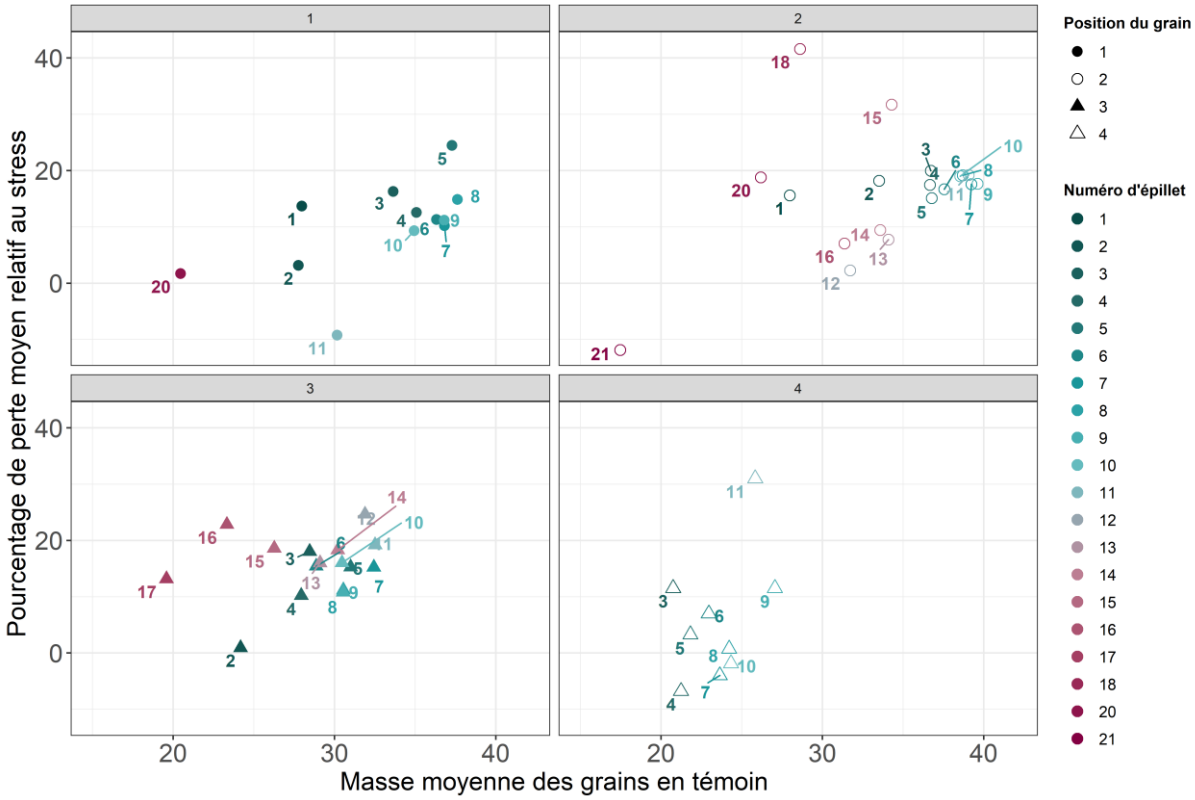


Figure 4-5 : Pourcentage moyen de perte de matière sèche due au stress thermique post-floraison par rapport à la masse sèche moyenne des grains (mg) en condition témoin pour chaque grain au sein de chaque épillet.

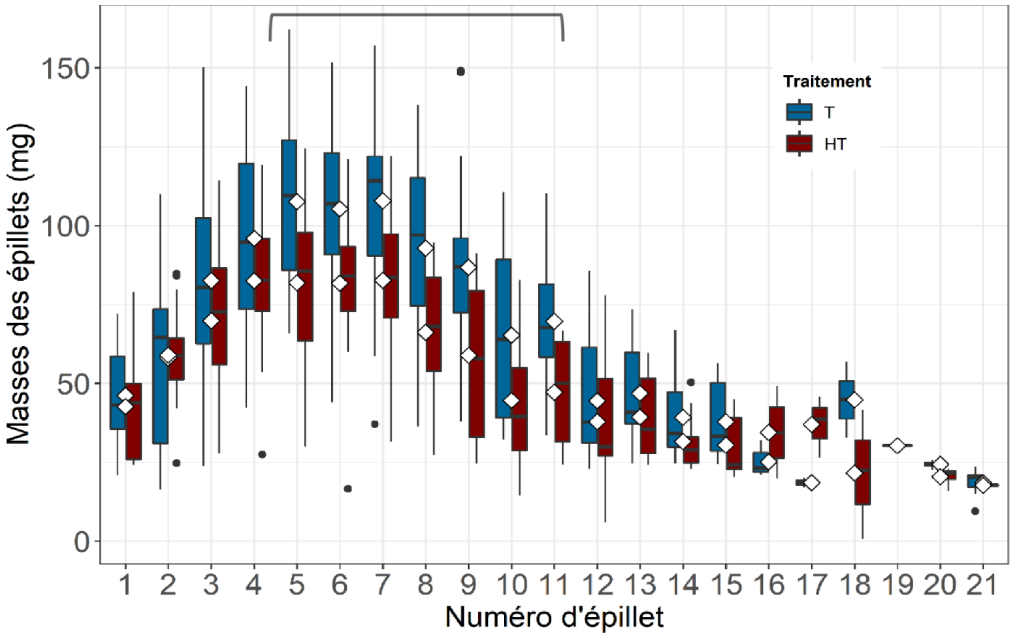


Figure 4-6 : Masses sèches moyennes des épillets par position d'épillet (mg). Ces masses sèches sont calculées en prenant compte les masses de tous les grains individuels par épillet. *T : Condition témoin ; HT : condition de stress thermique post-floraison. L'accolade correspond aux différences significatives avec une P-value <0.05. Les losanges représentent les moyennes pour chaque épillet et chaque condition.*

3.4. Effet des décalages développementaux sur la réponse au stress thermique

De manière à estimer l'impact éventuel de la masse d'ovaire initiale et/ou du décalage développemental sur la réponse différentielle, des régressions entre ces deux facteurs et les pertes de matière sèche due au stress thermique post-floraison ont été réalisées.

La régression linéaire entre les dates de floraison à chaque position du grain au sein de l'épi (°CJ) et les pertes de matière sèche dues au stress thermique post-floraison sur l'ensemble des grains individuels n'est pas significative (Figure 4-7). Si on réalise les régressions linéaires pour chaque position de grain au sein des épillets (grains 1 à 4), la seule régression linéaire négative significative, quoique faible, est celle observée pour les grains 3 au sein des épillets (R^2=0.36).

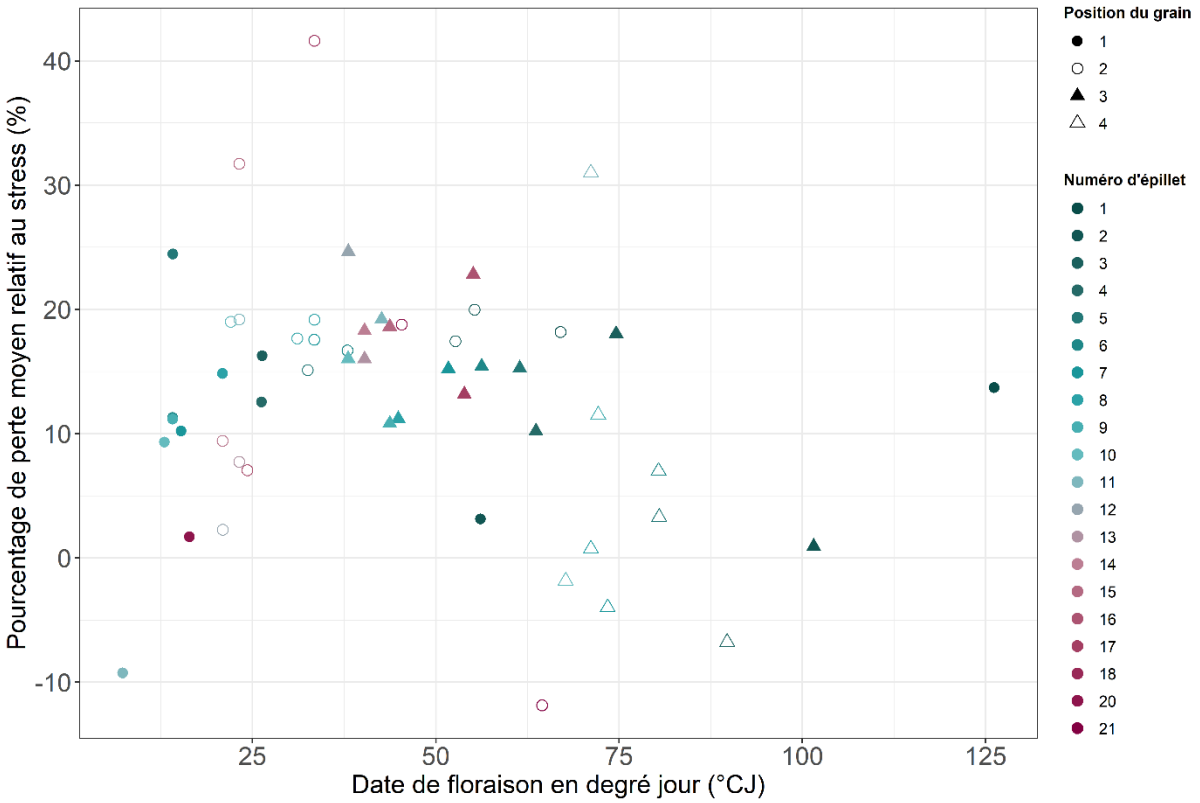


Figure 4-7 : Relation entre la date de floraison à chaque position du grain au sein de l'épi (°CJ) à partir de la première floraison et le pourcentage moyen de perte de matière sèche due au stress thermique post-floraison par numéro d'épillet (code couleur) et par position des grains au sein des épillets (code forme).

De plus, regarder les pertes de masse sèche des grains individuels en raison d'un stress thermique post-floraison par rapport aux masses sèches des ovaires individuels ne montre pas de tendance claire sur le rôle des masses d'ovaires (Figure 4-8). En effet, aucune corrélation significative n'a été trouvée entre la masse sèche de l'ovaire à floraison complète et les pertes de matière sèche due au stress thermique post-floraison sur l'ensemble des grains individuels.

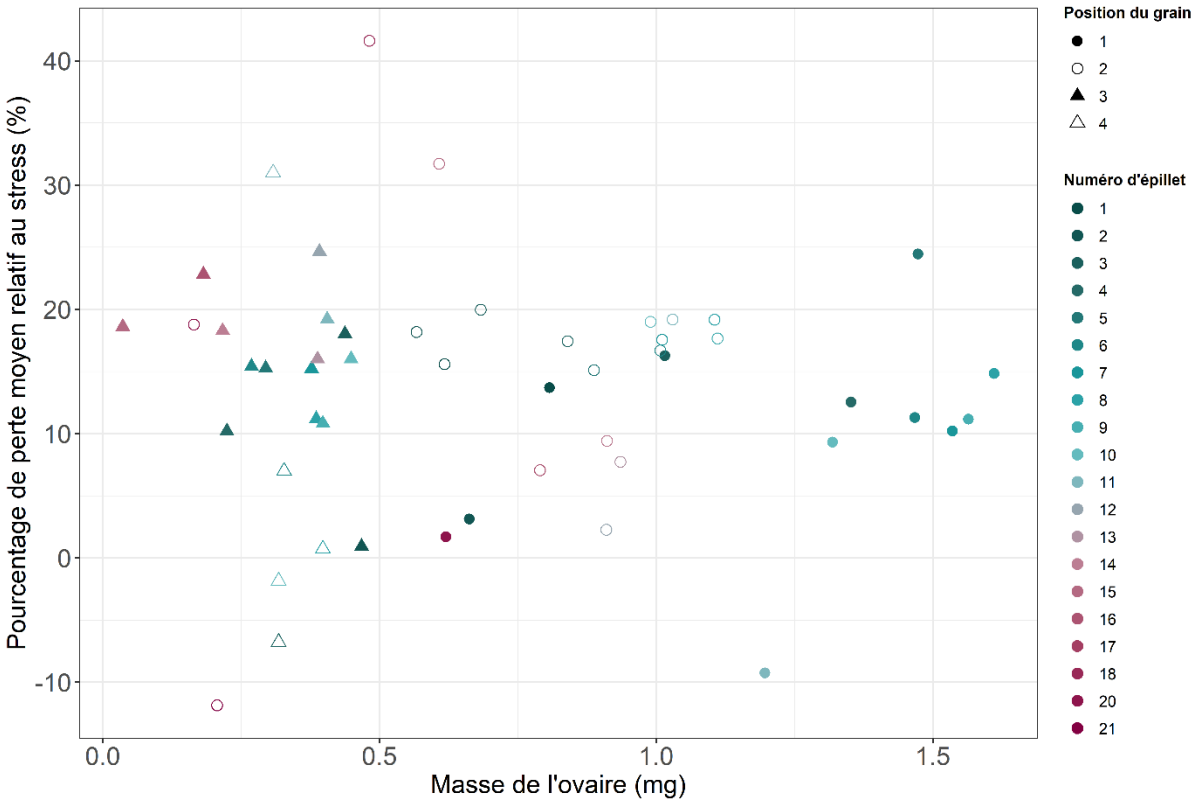


Figure 4-8 : Relation entre la masse sèche de l'ovaire à floraison complète (mg) et le pourcentage moyen de perte de matière sèche due au stress thermique post-floraison par numéro d'épillet (code couleur) et par position des grains au sein des épillets (code forme).

IV. Discussion

Ce chapitre a permis de tester l'hypothèse selon laquelle les grains individuels au sein d'un épi ont des réponses différentes à un stress thermique post-floraison et de chercher à identifier les processus causaux.

4.1. Les grains individuels répondent différemment à un stress thermique post-floraison selon leur position au sein de l'épi

Le stress thermique a été appliqué sur la phase de remplissage des grains soit en pratique 6 jours après la première floraison. Comme attendu, le nombre moyen de grains par épi dans les épis repérés n'a pas été impacté par le stress (Tableau 4-1). En effet le stade critique de sensibilité de la fertilité de l'épi au stress thermique est plutôt situé juste avant la floraison, pendant la méiose (Pradhan *et al.*, 2012 et références citées). On peut donc considérer qu'en moyenne, les différences de masses des grains individuels entre les deux traitements ont été observées à nombre de grains par épi identiques et sont donc uniquement en lien avec les effets du stress thermique pendant le remplissage. Le stress post-floraison (HT) a entraîné une perte globale de masse de 21% par rapport aux épis témoins (T). Notre protocole a donc permis de générer avec succès un stress fort, condition nécessaire pour observer des réponses différentielles potentiellement fines.

Les résultats obtenus montrent clairement des réponses variables, entre -12% et 42% de perte relative, selon la position des grains individuels au sein des épis. Le résultat le plus marquant est la corrélation positive existant entre la masse moyenne des grains en condition témoin et la perte de matière sèche due au stress thermique post-floraison (Figure 4-5). Les grains présentant les masses les plus élevées et dont les masses sont les plus impactées par le stress sont les grains 1 et 2 au sein des épillets centraux, ce qui est cohérent avec les résultats visibles observés à l'échelle des épillets (Figure 4-6 ; Tableau S4-1). Les réponses différentielles observées selon les masses des grains individuels sont globalement cohérentes avec les résultats de (Tashiro and Wardlaw, 1990). En effet, pour ces auteurs, les grains les plus affectés par le stress thermique sont dans des épillets situés dans la partie supérieure de la zone centrale, de l'épillet 12 à 16. Or dans l'étude de Tashiro and Wardlaw (1990), ce sont les grains qui présentent les masses les plus élevées en condition témoin. On retrouve donc cette corrélation positive entre la perte relative de masse sèche par grain et la masse potentielle obtenue en traitement témoin.

De plus, nous avons vu que les réponses différentielles dépendent également de la position du grain au sein de l'épi. Ainsi, dans nos résultats comme chez Tashiro and Wardlaw (1990), les

grains dans les épillets les plus basaux sont moins impactés par le stress thermique que les grains dans les épillets les plus apicaux pour des masses similaires en condition témoin. Au sein des épillets, nos résultats divergent de ceux de Tashiro and Wardlaw (1990). En effet, si Tashiro and Wardlaw (1990) ont montré que les grains les plus distaux sont plus sensibles au stress thermique, nos résultats n'ont pas montré de différence entre les grains proximaux et les grains distaux (grains 3 comparés aux grains 1 et 2) voire un résultat inverse (grains 4 comparés aux grains 1 et 2).

Dans les grandes lignes, nos résultats tendent à confirmer ceux obtenus par Tashiro and Wardlaw (1990). Malheureusement nous ne pouvons conclure de manière définitive car cette expérimentation a présenté quelques limites. De manière à limiter autant que faire se peut l'hétérogénéité du nombre d'épillets et potentiellement du nombre de grain, les épis repérés à anthèse présentaient en effet tous 21 épillets. Cependant, à maturité, le nombre d'épillets fertiles est en moyenne de 15.7 en traitement témoin et 14.2 en traitement de stress thermique. Cette stérilité observée sur les épillets basaux et apicaux est importante et inhabituelle. De plus, une stérilité localisée a été remarquée pour les grains 1 dans les épillets 12 à 21 de manière assez systématique, ce qui explique le caractère partiel des résultats sur ces épillets sur les figures 4-5 et 4-6. Les raisons de telles anomalies dans les résultats n'ont pas pu être élucidées. Malgré le fait que ces résultats fassent penser à un déficit en rayonnement à la méiose (Demotes-Mainard *et al.*, 1996, 1995), aucune perturbation de la régulation des chambres de culture (température, lumière, alimentation hydrique) n'a pu être enregistrée et l'état sanitaire des plantes a fait l'objet d'un suivi rigoureux. Le temps imparti de la thèse ainsi que la disponibilité en matériel végétal ne nous ont malheureusement pas permis de reconduire cette expérimentation. Toutefois, même si les résultats ne rendent pas compte des effets putatifs d'un stress thermique sur tous les grains/épillets, les données disponibles sont cohérentes entre elles et avec les observations faites par Tashiro et Wardlaw (1990) et nous autorisent donc à discuter, même prudemment, des causes éventuelles responsables des effets différentiels du stress thermique post-floraison sur les grains individuels selon leur masse et leur position au sein de l'épi.

4.2. Expliquer ces réponses différentielles des grains individuels : vers un modèle d'allocations des assimilats

Nous verrons dans cette partie que certaines des causes éventuelles de ces réponses différentielles sont les mêmes que celles évoquées dans le précédent chapitre. Globalement, les grains qui présentent les masses les plus élevées en conditions témoin sont les plus impactées par le stress thermique post-floraison. Or, les grains qui ont les masses les plus élevés sont à des positions spécifiques au sein de l'épi, à savoir les positions proximales au sein des épillets centraux (Baillot *et al.*, 2018; Feng *et al.*, 2019; Miralles and Slafer, 1995). De plus, à masse de grain donnée, les grains en position apicale sont plus impactés par le stress thermique que les grains en position basale. Ce résultat est observable principalement sur les grains 2 au sein des épillets dans cette étude (Figure 4-4). Les réponses différentielles des grains individuels au stress paraissent donc principalement liées aux positions des grains au sein de l'épi. Nous allons, par la suite, explorer les causes potentielles pour expliquer ces réponses différentielles.

D'une part, les stress thermiques ont un effet sur les sources à partir desquelles les grains (puits) vont être remplis. La photosynthèse est en effet un processus physiologique très impacté par les stress thermiques au sein des organes sources matures (Farooq *et al.*, 2011) et les sources d'assimilats issues de l'activité photosynthétique sont diminuées en cas de stress thermiques. La question est de savoir si, dans notre cas, l'impact du stress sur les sources a créé des limitations susceptibles d'affecter les processus de remplissage des grains individuels de manière différentielle. L'utilisation des données de répartition de masses sèches à l'échelle de la plante a révélé qu'il n'y avait pas de différences de masses sèches entre les talles des épis en condition témoin (T) et les talles des épis soumis à un stress (HT) (Tableau 4-1). A cette échelle, il ne semble pas y avoir eu d'impact fort du stress qui aurait nécessité une remobilisation mesurable de la matière sèche des tiges. Dans notre expérience, les limitations éventuelles des sources d'assimilats ne semblent donc pas à l'origine des pertes différentielles de masse des grains individuels.

D'autre part, les stress thermiques peuvent affecter les règles de répartition de la matière sèche pour les différents puits. Chaque grain individuel présente en effet une force de puits qui lui est propre. La notion de force de puits est encore sujette à de nombreuses discussions (Farrar, 1993; Marcelis, 1996 et références citées), et notamment dans des problématiques d'améliorations des forces de puits en réponse aux augmentations de taux de CO_2 (Dingkuhn *et al.*, 2020 et références citées). Elle sera définie ici comme la capacité intrinsèque du grain à utiliser des assimilats pour la croissance et/ou le stockage en conditions non limitantes (ou sources non

limitantes). La force de puits de chaque grain se caractérise ainsi par l'ensemble des processus qui permettent de faire croître et remplir le grain. En se basant sur la définition apportée par Marcelis (1996), une vitesse potentielle d'utilisation, en conditions de sources non limitantes et variable dans le temps peut traduire quantitativement la force de puits. Considérant cette définition de la force de puits, il s'agit de comprendre les causes possibles de différences de vitesses potentielles d'utilisation. Nos données ne nous permettent pas de connaître ce paramètre de remplissage des grains individuels dans la mesure où seules les masses finales ont été mesurées. Cependant, si on s'intéresse à la caractérisation de la vitesse potentielle d'utilisation au cours du temps, plusieurs paramètres complémentaires corrélés à la vitesse potentielle de remplissage peuvent permettre de tester des hypothèses.

Xie *et al.* (2015) ont montré que la masse d'ovaire à floraison était corrélée positivement avec la vitesse initiale de remplissage des grains. La première hypothèse pour expliquer ces réponses différentielles des grains individuels est donc liée au fait que les grains présentant des masses d'ovaires plus importantes à floraison complète ont des vitesses potentielles d'utilisation initiales plus importantes (*Cf* Chapitre 1) et que ces grains sont susceptibles d'être plus affectés par une perte de masse, en valeur relative. Suivant cette hypothèse, une corrélation positive entre la masse sèche d'ovaire et la perte relative de masse sèche est attendue. Or nos résultats ne montrent aucune corrélation significative entre la masse sèche d'ovaire et la perte relative de masse sèche pour l'ensemble des grains (Figure 4-8). Il est à noter qu'une corrélation significative entre ces deux variables apparaît si on se concentre sur les grains 1 au sein des épillets. Cependant, ce résultat est à considérer avec précaution. En effet, nous avons discuté précédemment de l'absence assez systématique des grains 1 au sein des épillets 12 à 21 parmi les épis repérés dans les deux traitements. Sur ces bases il nous semble possible de conclure que les vitesses potentielles d'utilisation initiales, caractérisées par les masses d'ovaires à floraison complète, ne sont pas le déterminant principal des pertes différentielles de masses de grains observées à maturité.

Plusieurs auteurs (Marcelis, 1996; Wardlaw, 1990) ont ensuite émis l'hypothèse que cette vitesse potentielle de remplissage, chez un grain de blé, dépend de la taille du puits. D'après certains auteurs (Brocklehurst, 1977; Radley, 1978), une approximation de cette taille du puits est obtenue par le nombre final de cellules de l'albumen en fin de phase de division cellulaire de développement. La multiplication des cellules dans le futur albumen débutant après la floraison complète, il apparaît possible de formuler une deuxième hypothèse pour expliquer ces réponses différentielles des grains individuels. Celle-ci est liée au fait que, du fait des décalages dans le temps de la floraison des grains individuels au sein de l'épi, les grains individuels ne

sont pas impactés par le stress thermique au même stade de développement. En effet, les grains en position proximale au sein des épillets centraux sont plus avancés dans leur phase de division et multiplication cellulaires que les grains distaux ou les grains au sein des épillets apicaux et basaux (Figure 4-3) au moment où le stress thermique est appliqué. Or le stress thermique peut réduire le nombre de cellules (Acevedo *et al.*, 2002; Nicolas *et al.*, 1985), limitant ainsi la force de puits des grains les plus impactés. Si cette hypothèse s'avérait exacte, une corrélation négative entre le décalage de floraison des grains individuels et la perte relative de masse sèche serait attendue. Or, une nouvelle fois, cette corrélation n'est pas significative pour l'ensemble des grains (Figure 4-7), à l'exception des grains 3. Il est à noter que le stress thermique, dans notre expérience, est appliqué en fin de phase de division cellulaire, sur la base des grains qui ont fleuri en premier, c'est-à-dire quand l'essentiel des cellules est mis en place dans ces grains. De plus, le stress thermique appliqué était long et d'intensité moyenne. Tashiro and Wardlaw (1990) ont montré, grâce à des stress thermiques de courte durée mais appliqués à des stades précis du développement des grains avant et pendant la phase de remplissage, que les grains individuels présentaient des sensibilités différentes selon le stade de développement. Les décalages de floraison ne semblent donc pas pouvoir expliquer, dans le travail présenté ici, les pertes différentielles de masse entre grains. Si le stress thermique affecte négativement le nombre de cellules et que cette diminution du nombre de cellules est un déterminant fort de la baisse de force de puits des grains, ce qui est encore sujet à débat (Marcelis, 1996 et références citées), dans la mesure où nos résultats ne nous permettent pas de conclure que les réductions de nombre de cellules soient différentes d'un grain individuel à l'autre, le déterminisme de la réponse différentielle des grains au stress thermique est sans doute à chercher ailleurs.

Par la suite, lors de la phase de remplissage *stricto sensu*, certains processus physiologiques liés à la vitesse potentielle d'utilisation, tels que la respiration et la conversion des assimilats en amidon, sont susceptibles d'être affectés par le stress thermique post-floraison. Chez le blé, si environ 70% des assimilats permet le remplissage des grains *stricto sensu*, l'autre partie de ces assimilats est en revanche utilisée dans les processus de respiration (Kiniry, 1993 et références citées). On distingue dans ces processus la respiration de maintenance de la respiration de croissance (Marcelis, 1996 et références citées). Si la respiration de croissance augmente de manière linéaire avec la croissance en matière sèche du puits, la respiration de maintenance est fonction, entre autres, de la taille du puits, de son activité métabolique et de la température. Cette respiration de maintenance pour chaque grain individuel est donc susceptible d'être affectée par un stress thermique (Liu *et al.*, 2011). La réponse de la respiration de maintenance à une augmentation de température peut être calculée grâce à la valeur référence $Q_{10} = 2$, qui

signifie qu'une augmentation de 10°C de la température doublerait la respiration de maintenance. Une étude (Wardlaw *et al.*, 1980) a montré que la perte de carbone due à la respiration dans le cadre d'une augmentation de température de 10°C correspondait à environ 12 à 14% du taux de croissance d'un grain moyen et à moins de 25% de la perte totale de masse finale observée chez les grains individuels soumis au stress thermique. Des différences de pertes de carbone due à la respiration de maintenance chez des grains de masses différentes sont donc possibles mais très limitées et ne pourraient expliquer totalement les réponses différentielles des grains individuels au stress thermique. De plus, la conversion des assimilats en amidon et protéines de réserve est réalisée, entre autres, grâce à une activité enzymatique sensible au stress thermique. L'activité des enzymes impliquées dans la biosynthèse de l'amidon est en effet réduite par des stress thermiques pendant la phase de remplissage (Bhullar and Jenner, 1986). Cependant, il est peu vraisemblable que ce processus physiologique puisse être impacté de manière différentielle dans des grains de masses différentes.

Ainsi, nos résultats, en prenant en compte les limites évoquées précédemment, ne nous permettent pas de penser que les forces de puits, traduites par des vitesses potentielles d'utilisation des assimilats, puissent expliquer totalement les réponses différentielles observées sur les grains individuels.

Ce qui nous amène à identifier un dernier processus de limitation, déjà évoqué dans les chapitres 1 et 3. La répartition des assimilats est réalisée au travers de l'architecture vasculaire complexe de l'épi. Nous avons vu dans le premier chapitre que l'allocation des assimilats le long de l'épi et au sein des épillets se réalise de manière acropète via des faisceaux criblo-vasculaires. Plusieurs auteurs (Hanif and Langer, 1972; Whingwiri *et al.*, 1981; Wolde and Schnurbusch, 2019) ont montré que le nombre et le diamètre de ces faisceaux diminuent entre la partie basale et apicale de l'épi, ainsi qu'entre la partie proximale et distale des épillets. La mise en place du système vasculaire étant antérieure à la phase de remplissage où le stress thermique est appliqué (Patrick, 1972), on peut supposer que la mise en place des faisceaux criblo-vasculaires n'est pas affectée par le stress et donc que la limite physique du flux d'assimilats entrant dans les épillets et dans les grains est la même dans les deux conditions. Cependant, il est possible de formuler l'hypothèse que ces flux sont co-limités par la force de puits du grain et par la taille des faisceaux vasculaires, et que le niveau de cette co-limitation est variable entre grains. Ainsi, si un grain, en condition témoin voit sa croissance limitée, non pas par sa force de puits intrinsèque mais par la taille des faisceaux lui livrant ses assimilats, toute réduction de force de puits générée par un stress thermique aura moins d'impact sur sa masse finale que pour un grain

non limité en terme vasculaire. Cette hypothèse est évidemment difficilement validable sur la base seule des résultats présentés ici et demandent une formalisation sous la forme d'un modèle mécaniste simple pour en tester sa plausibilité. Ce travail sera réalisé dans la discussion générale de cette thèse.

Le résultat fort du présent chapitre est de démontrer que les grains présentent des réponses différentielles à un stress thermique post-floraison. Ce résultat questionne sur les implications de l'ensemble de ces réponses différentielles sur l'effet global d'un stress thermique post-floraison observé sur le PMG. Cette question, consolidée par des résultats provenant des chapitres précédents sera elle aussi traitée dans la discussion générale du manuscrit.

V. Bibliographie

Acevedo, E., Silva, P., Silva, H., 2002. GROWTH AND WHEAT PHYSIOLOGY, DEVELOPMENT 47.

Asseng, S., Ewert, F., Martre, P., Rötter, R.P., Lobell, D.B., Cammarano, D., Kimball, B.A., Ottman, M.J., Wall, G.W., White, J.W., Reynolds, M.P., Alderman, P.D., Prasad, P.V.V., Aggarwal, P.K., Anothai, J., Basso, B., Biernath, C., Challinor, A.J., De Sanctis, G., Doltra, J., Fereres, E., Garcia-Vila, M., Gayler, S., Hoogenboom, G., Hunt, L.A., Izaurralde, R.C., Jabloun, M., Jones, C.D., Kersebaum, K.C., Koehler, A.-K., Müller, C., Naresh Kumar, S., Nendel, C., O'Leary, G., Olesen, J.E., Palosuo, T., Priesack, E., Eyshi Rezaei, E., Ruane, A.C., Semenov, M.A., Shcherbak, I., Stöckle, C., Stratonovitch, P., Streck, T., Supit, I., Tao, F., Thorburn, P.J., Waha, K., Wang, E., Wallach, D., Wolf, J., Zhao, Z., Zhu, Y., 2015. Rising temperatures reduce global wheat production. Nature Clim Change 5, 143–147. https://doi.org/10.1038/nclimate2470

Baillot, N., Girousse, C., Allard, V., Piquet-Pissaloux, A., Le Gouis, J., 2018. Different grain-filling rates explain grain-weight differences along the wheat ear. PLOS ONE 13, e0209597. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209597

Bhullar, S., Jenner, C., 1986. Effects of Temperature on the Conversion of Sucrose to Starch in the Developing Wheat Endosperm. Functional Plant Biol. 13, 605. https://doi.org/10.1071/PP9860605

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

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. The Journal of Agricultural Science 132, 453–459.

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

Demotes-Mainard, S., Doussinault, G., Meynard, J., 1996. Abnormalities in the male developmental programme of winter wheat induced by climatic stress at meiosis. Agronomie 16, 505–515. https://doi.org/10.1051/agro:19960804

Demotes-Mainard, S., Doussinault, G., Meynard, J., 1995. Effects of low radiation and low temperature at meiosis on pollen viability and grain set in wheat. Agronomie 15, 357–365. https://doi.org/10/bdzxc2

Dingkuhn, M., Luquet, D., Fabre, D., Muller, B., Yin, X., Paul, M.J., 2020. The case for improving crop carbon sink strength or plasticity for a CO2-rich future. Current Opinion in Plant Biology, Biotic interactions ● AGRI 2019 56, 259–272. https://doi.org/10.1016/j.pbi.2020.05.012

Farooq, M., Bramley, H., Palta, J.A., Siddique, K.H.M., 2011. Heat Stress in Wheat during Reproductive and Grain-Filling Phases. Critical Reviews in Plant Sciences 30, 491–507. https://doi.org/10.1080/07352689.2011.615687

Farrar, J.F., 1993. Sink strength: What is it and how do we measure it? Introduction. Plant Cell Environ 16, 1015–1016. https://doi.org/10/bz2hs5

Feng, F., Dang, P., Pu, X., Wen, X., Qin, X., Chen, Y., H. M. Siddique, K., 2019. Contribution of Proximal and Distal Grains Within Spikelets in Relation to Yield and Yield Components in the Winter Wheat Production Region of China From 1948 to 2012. Agronomy 9, 850. https://doi.org/10.3390/agronomy9120850

Hanif, M., Langer, R.H.M., 1972. The vascular system of the spikelet in wheat (Triticum aestivum). Annals of Botany 36, 721–727.

Hasan, A.K., Herrera, J., Lizana, C., 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, 241–247. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2011.05.019

Kiniry, J.R., 1993. Nonstructural Carbohydrate Utilization by Wheat Shaded during Grain Growth. Agronomy Journal 85, 844–849. https://doi.org/10.2134/agronj1993.00021962008500040013x

Liu, B., Asseng, S., Liu, L., Tang, L., Cao, W., Zhu, Y., 2016. Testing the responses of four wheat crop models to heat stress at anthesis and grain filling. Global Change Biology 22, 1890–1903. https://doi.org/10.1111/gcb.13212

Liu, D.L., Yang, Y., Mo, J., Scott, B.J., 2011. Simulation of Maintenance Respiration in Wheat (Triticum aestivum L.) 8.

Lu, H., Hu, Y., Wang, C., Liu, W., Ma, G., Han, Q., Ma, D., 2019. Effects of High Temperature and Drought Stress on the Expression of Gene Encoding Enzymes and the Activity of Key Enzymes Involved in Starch Biosynthesis in Wheat Grains. Frontiers in Plant Science 10. https://doi.org/10/ghcd38

Marcelis, L.F.M., 1996. Sink strength as a determinant of dry matter partitioning in the whole plant. Journal of Experimental Botany, 47, 12.

Miralles, D.J., 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, 55–66. https://doi.org/10.1016/0378-4290(95)00041-N

Nicolas, M.E., Gleadow, R.M., Dalling, M.J., 1985. Effect of Post-anthesis Drought on Cell Division and Starch Accumulation in Developing Wheat Grains. Ann Bot 55, 433–444. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a086922

Patrick, J.W., 1972. Vascular System of the Stem of the Wheat Plant .II. Development. Aust. J. Bot. 20, 65–78. https://doi.org/10.1071/bt9720065

Pradhan, G.P., Prasad, P.V.V., Fritz, A.K., Kirkham, M.B., Gill, B.S., 2012. Effects of drought and high temperature stress on synthetic hexaploid wheat. Functional Plant Biol. 39, 190. https://doi.org/10.1071/FP11245

Radley, M., 1978. Factors Affecting Grain Enlargement in Wheat. J Exp Bot 29, 919–934. https://doi.org/10.1093/jxb/29.4.919

Rawson, H., Evans, L., 1970. The Pattern of Grain Growth within the Ear of Wheat. Aust. Jnl. Of Bio. Sci. 23, 753. https://doi.org/10.1071/BI9700753

Semenov, M.A., Shewry, P.R., 2011. Modelling predicts that heat stress, not drought, will increase vulnerability of wheat in Europe. Sci Rep 1, 66. https://doi.org/10.1038/srep00066

Sharma, D., Singh, R., Tiwari, R., Kumar, R., Gupta, V.K., 2019. Wheat Responses and Tolerance to Terminal Heat Stress: A Review, in: Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Hossain, Md.A. (Eds.), Wheat Production in Changing Environments. Springer Singapore, Singapore, pp. 149–173. https://doi.org/10.1007/978-981-13-6883-7_7

Sofield, I., Evans, L., Cook, M., Wardlaw, I., 1977. Factors Influencing the Rate and Duration of Grain Filling in Wheat. Functional Plant Biol. 4, 785. https://doi.org/10.1071/PP9770785

Stone, P., Savin, R., Wardlaw, I., Nicolas, M., 1995. The Influence of Recovery Temperature on the Effects of a Brief Heat Shock on Wheat. I. Grain Growth. Functional Plant Biol. 22, 945. https://doi.org/10.1071/PP9950945

Tashiro, T, Wardlaw, I., 1990. The Response to High Temperature Shock and Humidity Changes Prior to and During the Early Stages of Grain Development in Wheat. Functional Plant Biol. 17, 551. https://doi.org/10.1071/PP9900551

Tashiro, Toro, 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, 51–61.

Tashiro, T., Wardlaw, I.F., 1989. A Comparison of the Effect of High Temperature on Grain Development in Wheat and Rice. Annals of Botany 64, 59–65. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a087808

Triboi, E., Triboi-Blondel, A.-M., 2002. Productivity and grain or seed composition: a new approach to an old problem—invited paper. European Journal of Agronomy 16, 163–186. https://doi.org/10.1016/S1161-0301(01)00146-0

Wardlaw, I., Sofield, I., Cartwright, P., 1980. Factors Limiting the Rate of Dry Matter Accumulation in the Grain of Wheat Grown at High Temperature. Functional Plant Biol. 7, 387. https://doi.org/10/fnnb9p

Wardlaw, I.F., 1990. Tansley Review No. 27 The control of carbon partitioning in plants. New Phytologist 116, 341–381. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1990.tb00524.x

Weisheimer, A., Palmer, T.N., 2005. Changing frequency of occurrence of extreme seasonal temperatures under global warming. Geophysical Research Letters 32. https://doi.org/10.1029/2005GL023365

Whingwiri, E.E., Kuo, J., Stern, W.R., 1981. The Vascular System in the Rachis of a Wheat Ear. Annals of Botany 48, 189–202. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a086113

Wolde, G.M., Schnurbusch, T., 2019. Inferring vascular architecture of the wheat spikelet based on resource allocation in the branched headt (bht-A1) near isogenic lines. Functional Plant Biol. 46, 1023. https://doi.org/10.1071/FP19041

Xie, Q., Mayes, S., Sparkes, D.L., 2015. Carpel size, grain filling, and morphology determine individual grain weight in wheat. Journal of Experimental Botany 66, 6715–6730. https://doi.org/10.1093/jxb/erv378

Zakaria, S., Matsuda, T., Tajima, S., Nitta, Y., 2002. Effect of High Temperature at Ripening Stage on the Reserve Accumulation in Seed in Some Rice Cultivars. Plant Production Science 5, 160–168. https://doi.org/10.1626/pps.5.160

VI. Données supplémentaires

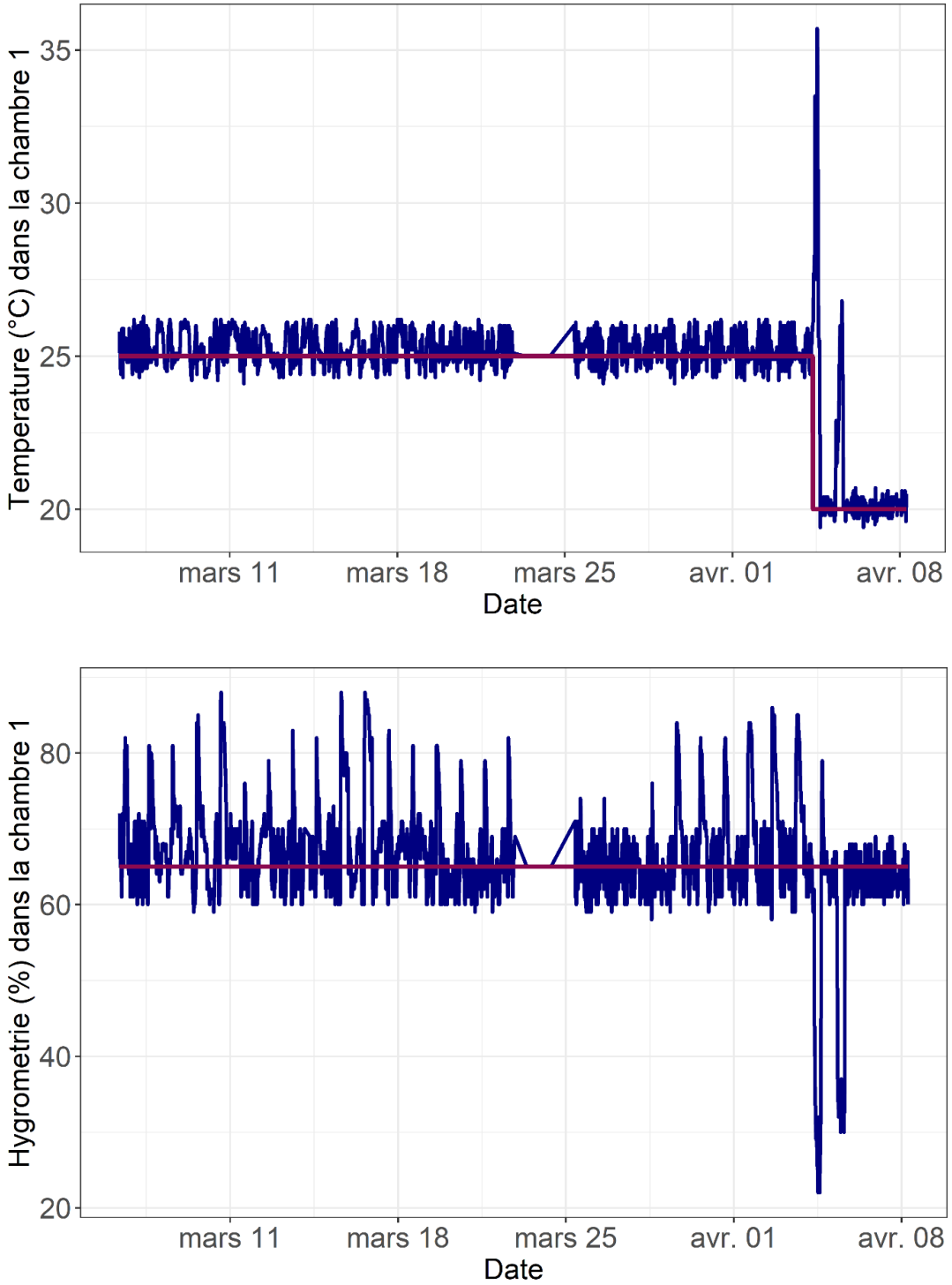


Figure S4-1 : Suivi des températures (°C) et hygrométries (%) journalières dans la chambre 1 à raison de mesures toutes les 30 min*. La température et l'hygrométrie désirées sont en rouge ; les mesures de températures et d'hygrométrie sont en bleue.*

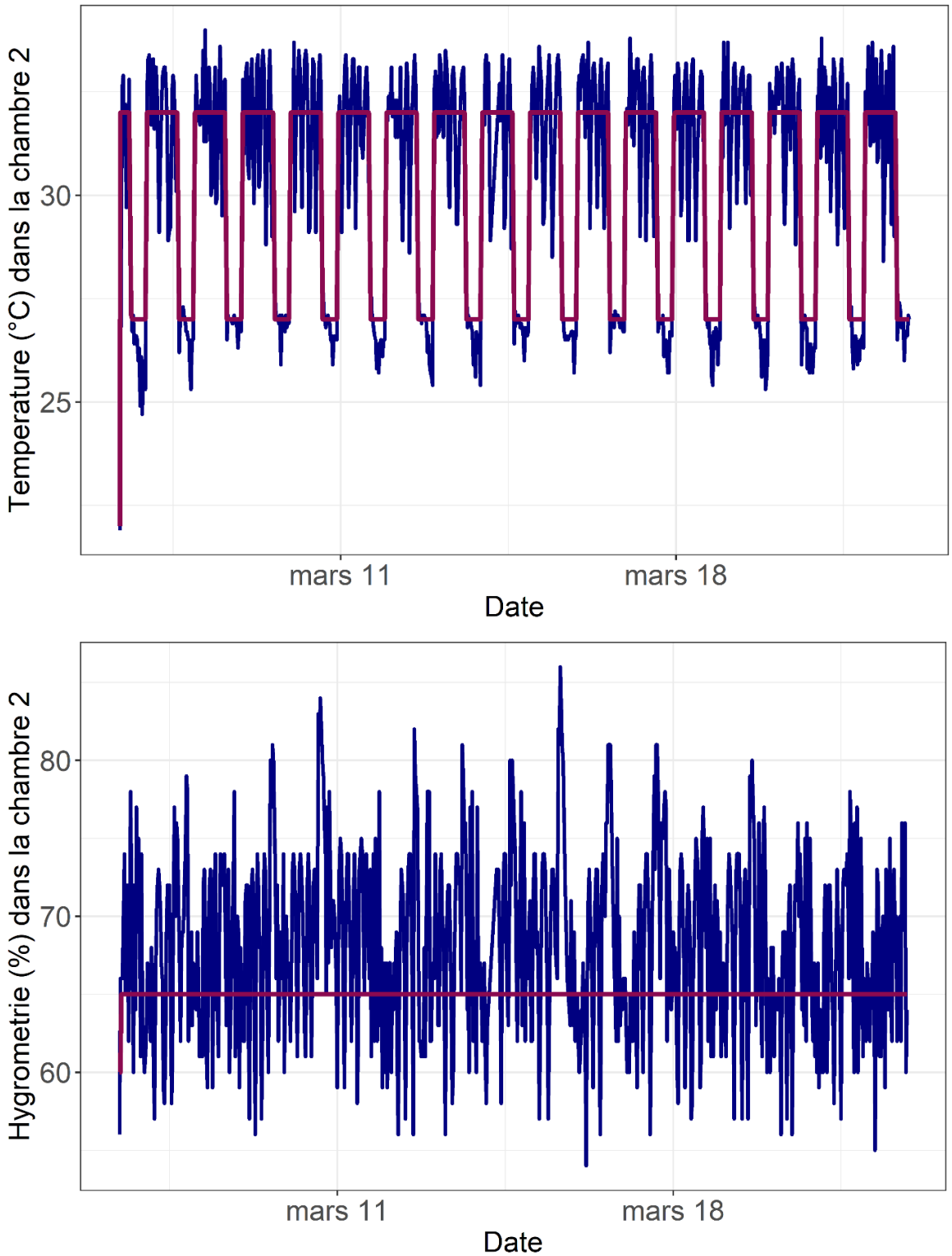


Figure S4-2 : Suivi des températures (°C) et hygrométries (%) journalières dans la chambre 2 à raison de mesures toutes les 30 min. *La température et l'hygrométrie désirées sont en rouge ; les mesures de températures et d'hygrométrie sont en bleue.*

Tableau S4-1 : Masses moyennes (mg) des épillets par traitement et par position d'épillet au sein de l'épi et p-value du test de significativité pour l'effet du stress thermique post-floraison *(cf. II. Matériels et méthodes). Les NA correspondent à des tests de significativité qui n'ont pas pu être réalisés à cause d'un manque de répétitions.*

Numéro d'épillet	Masse moyenne (mg) des épillets en condition témoin (T)	Masse moyenne (mg) des épillets en condition de stress thermique post-floraison (HT)	p-value
1	45.96	40.54	0.710
2	57.56	59.07	0.807
3	82.29	70.08	0.250
4	95.80	82.88	0.143
5	107.52	82.22	**0.008**
6	105.17	82.13	**0.010**
7	107.81	82.99	**0.011**
8	92.77	66.62	**0.001**
9	86.67	59.28	**0.002**
10	65.17	44.83	**0.022**
11	69.60	47.40	**0.004**
12	44.41	37.29	0.370
13	47.29	38.62	0.184
14	39.44	29.97	0.227
15	39.23	29.52	0.229
16	25.77	33.50	0.112
17	18.63	35.10	NA
18	46.47	22.42	NA
20	25.25	18.77	NA
21	18.65	22.17	NA

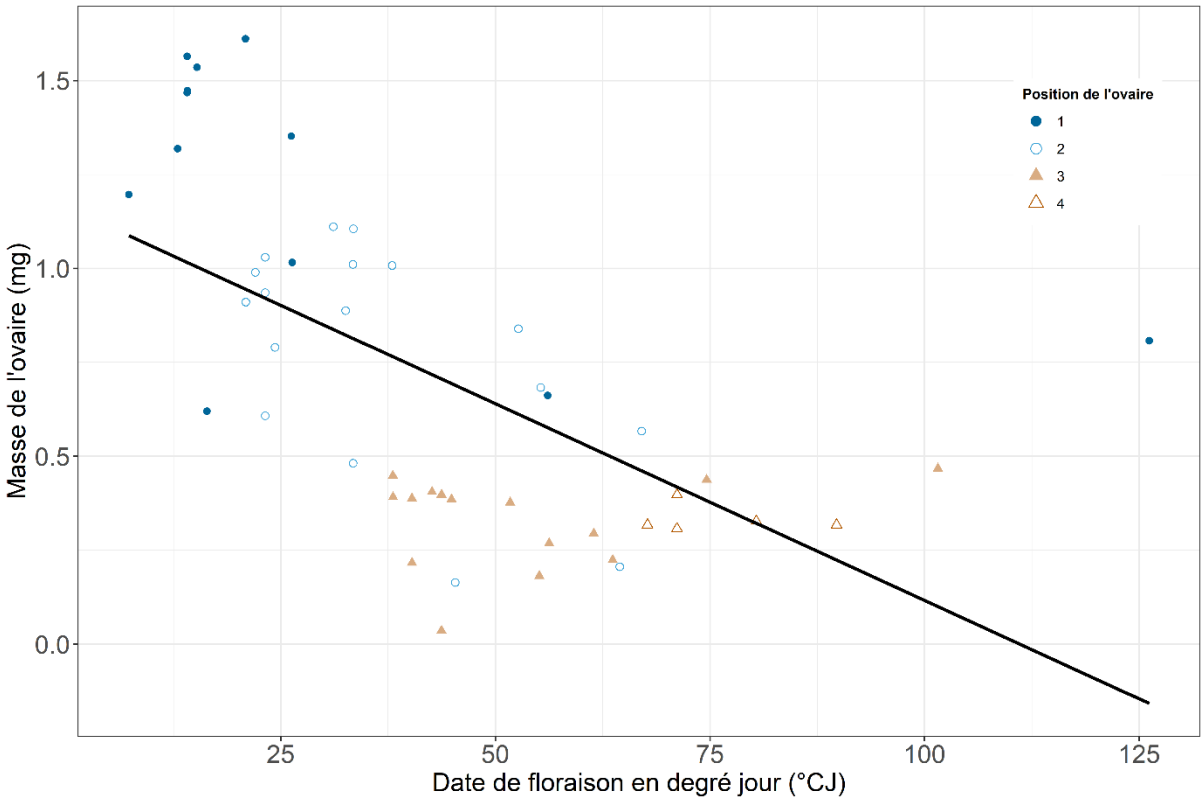


Figure S4-3 : Relation entre la masse sèche de l'ovaire à floraison complète (mg) et la date de floraison à chaque position du grain au sein des épillets (°CJ) à partir de la première floraison.

CHAPITRE 5 : DISCUSSION GENERALE ET CONCLUSION

I. Synthèse des principaux résultats

L'hypothèse générale de la thèse est que l'amélioration du rendement, dans des conditions de stress abiotiques post-floraison, peut se faire en ciblant le PMG, et en particulier la manière dont le PMG est construit à partir des masses de grains individuels.

Dans le chapitre 2, nous avons démontré l'intérêt de la prise en compte de la variabilité intra-génotypique des masses de grains individuels pour explorer la variabilité génétique du PMG. Nous avons en effet montré qu'il existe une variabilité génétique sur le lien grain moyen (PMG) - variabilité des masses de grains individuels. En d'autres termes, il existe des génotypes présentant des distributions de masses de grains individuels très différentes pour un même PMG. Il a été également démontré que cette variabilité intra-génotypique des masses de grains individuels présente, d'une part un déterminisme génétique lié aux composantes du nombre de grains par m², et d'autre part un déterminisme spécifique.

Dans les chapitres 3 et 4, la valeur ajoutée de la prise en compte explicite des masses de grains individuels dans notre compréhension de l'élaboration du PMG et du rendement a été démontrée. En effet, dans le chapitre 3, étudier les bases des différences génotypiques de PMG à l'échelle du grain individuel a permis de révéler qu'il existe une part importante de la variabilité génétique du PMG qui n'est pas issue du trade-off entre le nombre de grains par m² et le PMG. De plus, ces différences génotypiques s'expriment uniquement sur les positions des grains individuels 1 et 2 au sein des épillets. Dans le chapitre 4, cette échelle d'étude a permis de révéler des réponses différentielles des grains individuels à un stress thermique post-floraison.

Dans cette discussion générale, l'objectif est d'évaluer si la compréhension de la manière dont le PMG se construit dès le stade pré-floraison jusqu'à maturité pourrait permettre d'identifier des idéotypes de tolérance aux stress abiotiques post-floraison. Dans une première partie, nous allons évaluer la vraisemblance des hypothèses émises dans les chapitres 3 et 4 concernant les mécanismes impliqués dans l'allocation des assimilats en construisant un modèle mécaniste simple de croissance des grains au niveau d'un épillet. Dans une deuxième partie, nous allons tenter d'intégrer les résultats, obtenus à l'échelle du grain individuel, vers l'échelle de la parcelle afin d'estimer l'effet d'un stress thermique post-floraison sur le PMG à partir de diverses combinaisons génotypiques de nombre de grains par m² et de PMG. Enfin, nous discuterons des implications de ces résultats dans l'identification d'idéotypes de tolérance aux stress abiotiques post-floraison.

II. Du grain individuel à l'élaboration des distributions de masses sèches au sein de l'épi : vers un modèle mécaniste simplifié d'allocation des assimilats au sein d'un épillet

2.1. Elaboration d'un modèle d'allocation des assimilats au sein d'un épillet

2.1.1. Objectif du modèle

Les discussions des chapitres 3 et 4 ont amené à émettre l'hypothèse que les masses finales des grains au sein des épillets étaient le produit d'une co-limitation par les forces de puits et par le système vasculaire de l'épi/épillet. En d'autres termes, la masse finale d'un grain est déterminée par le fait que le flux d'assimilats entrant dans ce grain peut être limité par sa force de puits intrinsèque et/ou par les caractéristiques physiques du faisceau vasculaire qui l'alimente. La force de puits, telle qu'elle a été définie dans le chapitre 4, est la capacité intrinsèque du grain à utiliser des assimilats pour la croissance et/ou le stockage en conditions non limitantes (ou sources non limitantes).

L'objectif de ce modèle mécaniste simple est de simuler les dynamiques de remplissage de deux grains à des positions différentes au sein d'un épillet afin de tester notre hypothèse de co-limitation par les forces de puits et le système vasculaire de l'épillet. Pour simplifier, nous ne représenterons en effet qu'un grain en position 1 (grain proximal) et un grain en position 3 (grain distal) au sein d'un épillet lui même en position centrale au sein de l'épi (Figure 5-1). Les grains 1 et 2 présentent en effet des masses très similaires (*Cf* Chapitre 3 et 4 ; Baillot *et al.*, 2018; Brinton and Uauy, 2019). De plus, le grain 3 d'une part diffère des grains 1 et 2 au sein des épillets tant pour sa masse que par son système vasculaire, et d'autre part est très souvent présent au sein des épillets contrairement au grain 4. En pratique, un logiciel en ligne de modélisation de systèmes dynamiques (Fortmann-Roe, 2014) a été utilisé.

2.1.2. Structure du modèle : hypothèses et équations

Les hypothèses et les équations utilisées pour bâtir ce modèle sont les suivantes. D'abord, dans la mesure où aucun processus développemental n'est explicitement représenté dans le modèle, l'arrêt de croissance des grains est généré dans nos simulations par un tarissement de la source d'assimilats. Cette source d'assimilats présente une valeur initiale fixe qui a été choisie afin d'obtenir des masses finales pour les grains 1 et 3 réalistes et tend à s'annuler au cours du temps au fur et à mesure de la consommation des assimilats. Le flux journalier fourni par le faisceau principal (FV_0) a lui aussi été fixé de manière à obtenir des dynamiques réalistes de remplissage des grains. Dans les conditions de simulation standard, le remplissage s'effectue en environ 25 jours. Ces deux valeurs, la valeur initiale de la source et le flux journalier par le faisceau principal (FV_0), seront identiques pour l'ensemble des simulations réalisées. La modélisation au sens strict débute avec la ramification de ce flux primaire au sein de deux faisceaux connectés en parallèle qui fourniront les assimilats aux grains 1 et 3.

Les dynamiques de remplissage des deux grains (numérotés i, avec i = 1 ou 3) représentés dans notre modèle sont caractérisées par :

- Une masse initiale ($M_{i,(t=0)}$, i=1 ou 3). Pour l'ensemble des simulations la masse initiale du grain 1 sera fixée à 1.0 mg et celle du grain 3 à 0.6 mg pour prendre en compte les différences de masses d'ovaires observées à anthèse. Ces valeurs ont été choisies sur la base des résultats du chapitre 4 (Figure 4-4).

-Une force de puits (FP_i, i=1 ou 3), constante dans le temps, caractérisant la capacité intrinsèque du grain à utiliser les assimilats pour sa croissance et définie selon un paramètre PFP définie postérieurement. A l'instant t, la demande ($D_{i,t}$, i=1 ou 3, en mg j^{-1}) du grain est calculée comme le produit de la force de puits ($FP_{i,t}$, en j^{-1}) et de la masse du grain ($M_{i,t}$, en mg) selon :

$$D_{i,t} = FP_{i,} \times M_{i,t} \qquad \textbf{\textit{[Eq. 1]}}$$

- Une limitation par le système vasculaire propre à chaque grain (FV_i, i=0 (faisceau principal), 1 ou 3, en mg j^{-1}). Cette grandeur est fixe dans le temps. De plus, on considère que la somme des limitations par le système vasculaire des grains individuels est égale à celle du faisceau principal du rachis (Wolde and Schnurbusch, 2019).

$$FV_1 + FV_3 = FV_0 \qquad \textbf{\textit{[Eq. 2]}}$$

- Une limitation par la capacité de fourniture en assimilats par la source ($FS_{i,t}$, i=1 ou 3, en mg j^{-1}) est susceptible d'apparaître (i) lorsque la source est « vide » ou (ii) lorsque la demande en assimilats des grains 1 et 3 ($D_{i,t}$) excède la capacité de fourniture en assimilats. Dans ce deuxième cas, la quantité d'assimilats est distribuée entre les deux grains au prorata de leurs demandes respectives :

$$FS_{i,t} = FV_0 \times (D_{1,t} / (D_{1,t} + D_{3,t})) \qquad \textbf{\textit{[Eq. 3]}}$$

Le flux entrant ($FE_{i,t}$, en mg.j^{-1}) dans le grain i à l'instant t correspond au minimum des trois valeurs calculées chaque jour grâce aux équations 1, 2 et 3 (Figure 5-1):

$$FE_{i,t} = \min(D_{i,t}, FV_i, FS_{i,t}) \qquad \textbf{\textit{[Eq. 4]}}$$

Le tableau 5-1 fait la synthèse de l'ensemble des variables utilisées qui viennent d'être décrites.

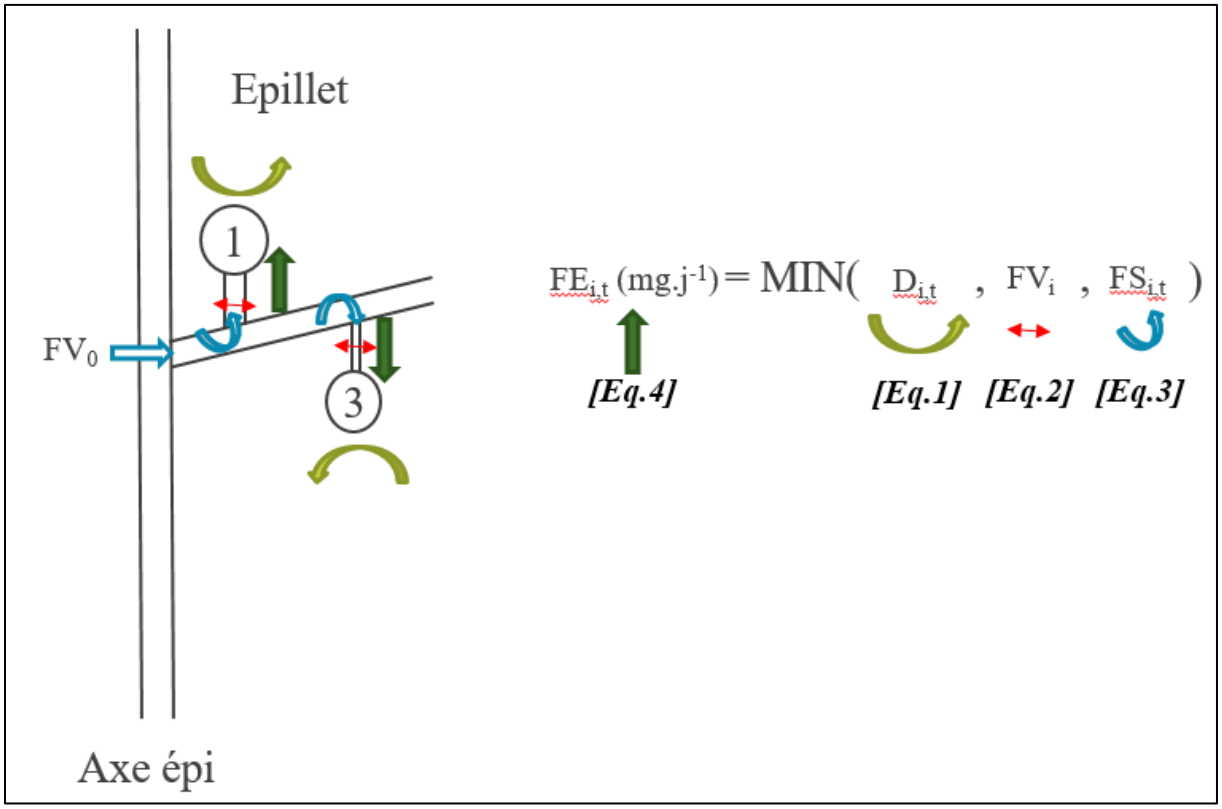


Figure 5-1 : Schéma du modèle mécaniste simple d'allocations des assimilats au sein d'un épillet. *Les flèches en vert foncé correspondent aux flux entrant ($FE_{i,t}$, en mg.j^{-1}) dans les grains 1 et 3 à l'instant t ; les flèches en vert clair correspondent aux demandes ($D_{i,t}$, i=1 ou 3, en mg j^{-1}) des grains 1 et 3; ; les flèches en rouge correspondent aux limitations par le système vasculaire propre à chaque grain (FVi, i= 1 ou 3, en mg j^{-1}); la flèche droite en bleu correspond au flux journalier (FV_0) provenant de la source et distribué vers les grains; les flèches courbées en bleu correspondent aux limitations par la capacité de fourniture en assimilats par la source ($FS_{i,t}$, i=1 ou 3, en mg j^{-1})des grains 1 et 3.*

Tableau 5-1 : Symboles, description, équation et valeurs des différents variables et paramètres du modèle.

	Symbole	Description	Equation	Valeurs initiales	Unités
Variables	$M_{i,t}$	Masse sèche du grain i à l'instant t	$M_{i,t}=M_{i,(t=t-1)}+FE_{i,t}\times t$	$M_{1,(t=0)} = 1.0$ $M_{3,(t=0)} = 0.6$	mg
	FP_i	Force de puits du grain i	Constante dans le temps	$FP_1=0.18$[1] $FP_2=0.18/PFP$	j^{-1}
	$D_{i,t}$	Demande du grain i à l'instant t	$D_{i,t} = FP_{i,t} \times M_{i,t}$	$D_{1,(t=0)} = 0$ $D_{3,(t=0)} = 0$	mg j^{-1}
	FV_i	Limitation vasculaire du grain i	Constante dans le temps	$FV_1=FV_0\times PFV$ $FV_3=FV_0\times(1-PFV)$ $FV_0=4$	mg j^{-1}
	$FS_{i,t}$	Limitation par la capacité de fourniture en assimilats du grain i à l'instant t	$FS_{i,t} = FV_{0,t} \times (D_{1,t}/(D_{1,t} + D_{3,t}))$	$FS_{1,(t=0)} =0$ $FS_{3,(t=0)} =0$	mg j^{-1}
	$FE_{i,t}$	Flux entrant dans le grain i à l'instant t	min ($D_{i,t}$, $FV_{i,t}$, $FS_{i,t}$)	$FE_{1,(t=0)} = 0$ $FE_{3,(t=0)} = 0$	mg j^{-1}
Paramètres	PFP	Ratio de forces de puits	$PFP= FP_1 / FP_3$	[1.0; 1.2; 1.4; 1.6; 1.8; 2.0]	Sans unité
	PFV	Ratio de limites vasculaires	$PFV= FV_1 / FV_0$	[0.5 ; 0.6 ; 0.7 ; 0.8 ; 0.9]	Sans unité

[1]Valeur fixée arbitrairement après des essais

2.1.3. Exemple de fonctionnement du modèle

Dans la Figure 5-2, un exemple de simulation basée sur ce modèle est illustré, qui va permettre de décrire les différentes phases du remplissage de chaque grain et les différentes limitations qui apparaissent à chacune de ces phases.

Intéressons-nous d'abord au remplissage du grain 1 au sein de l'épillet (Figure 5-2, A). Durant la première phase (Phase 1), la demande en assimilats du grain 1 (D_1) augmente progressivement et détermine totalement le flux entrant (FE_1) effectivement dans le grain 1. Ensuite, en phase 2, la demande du grain 1 (D_1) atteint la limite vasculaire du grain 1 (FV_1) et atteint un plateau. Le flux entrant dans le grain 1 (FE_1) durant cette deuxième phase correspond au flux maximal que peut fournir le faisceau vasculaire du grain 1 (FV_1). Enfin, la troisième phase correspond à la fin du remplissage, provoquée par le tarissement de la source. Sur la Figure 5-2B, le flux entrant effectivement dans le grain 1 (FE_1) est représenté en vert foncé.

En reprenant ce raisonnement sur le grain 3, les trois phases sont également visibles avec des valeurs de demande en assimilats et de limite vasculaire inférieures à celles du grain 1 (Figure 5-2C). Sur la phase 2, qui commence avec la limitation du flux entrant (FE_3) par le faisceau vasculaire du grain 3 (FV_3), une limitation par la capacité de fourniture de la source apparaît (FS_3 en bleu). En effet, durant cette phase, synchronisée entre les deux grains, la somme des demandes en assimilats des grains 1 et 3 excède la capacité de fourniture totale de la source. Suivant la règle de partage décrit par l'équation 3 [Eq. 3], le remplissage du grain 1 durant la phase 2 est favorisé, au détriment du grain 3, qui voit son flux entrant (FE_3) diminuer légèrement avant d'atteindre la phase 3 avec la fin du remplissage. Le flux entrant effectivement dans le grain 3 (FE_3) est représenté sur la figure 5-2D.

A la fin du remplissage, la masse finale des grains 1 et 3 (M_1 et M_3) sont atteintes. La dynamique de remplissage pour chacun des deux grains de l'épillet est représentée sur la Figure 5-3. Les masses finales de ces grains, 40 mg environ pour le grain 1 et 15 mg environ pour le grain 3 sont dans des gammes relativement réalistes. La durée de remplissage est par contre moins bien simulée. En effet, pour rappel, aucun processus développemental n'est explicitement modélisé dans le présent formalisme et la durée de croissance est limitée par le tarissement de la source d'assimilats et le flux journalier dans le faisceau principal (FV_0), fixés arbitrairement.

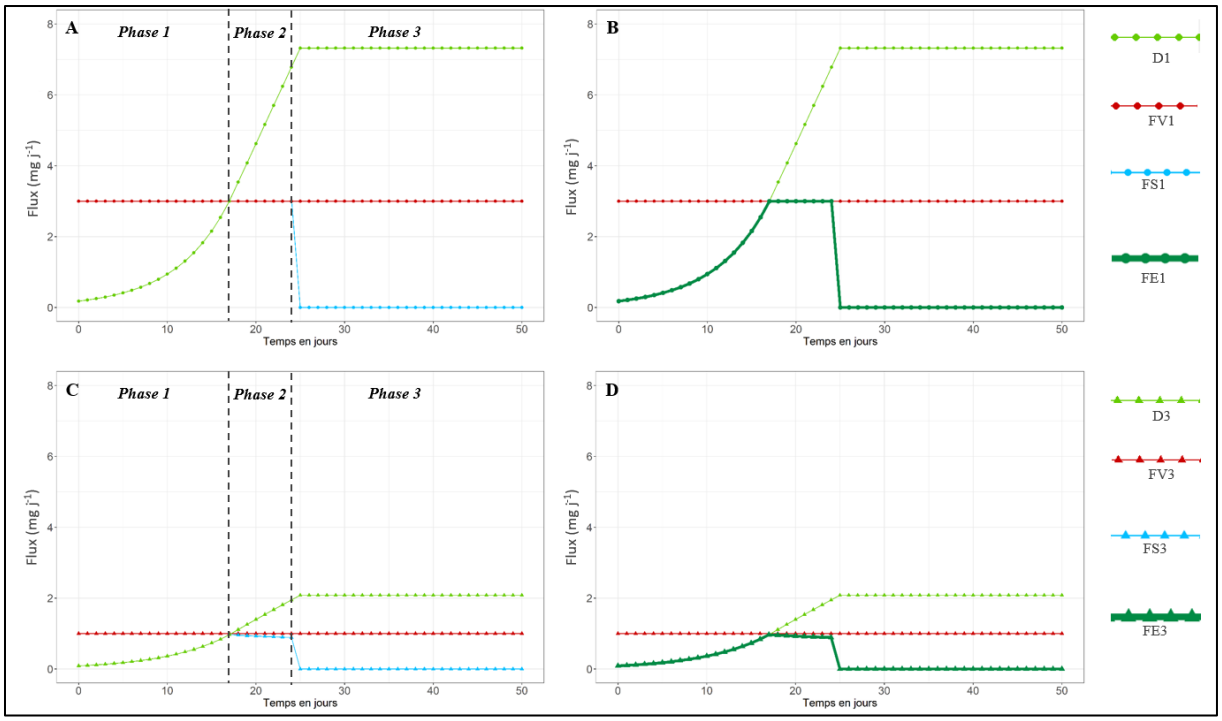


Figure 5-2 : Exemple de simulation des flux d'assimilats dans les grains 1 (A,B) et 3 (C,D) et des limitations par le système vasculaire (FV_i) et la capacité de fourniture en assimilats ($FS_{i,t}$). D_i est la demande et $FE_{i,t}$ le flux entrant.

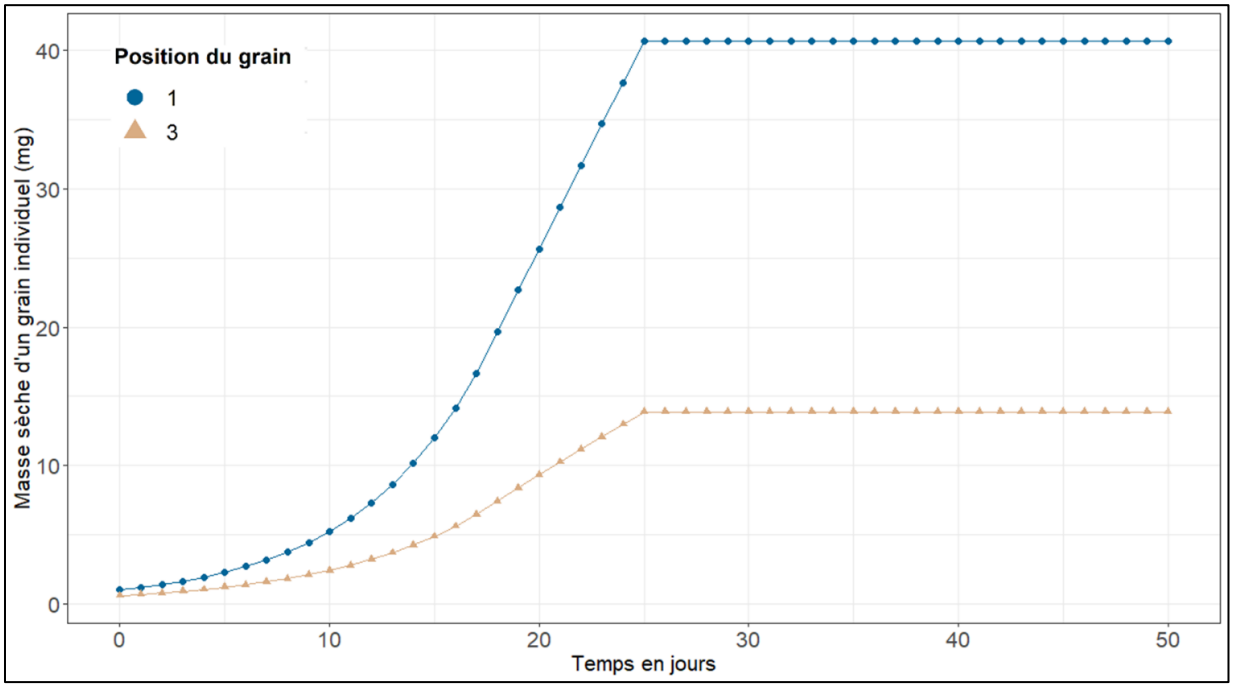


Figure 5-3 : Dynamique simulée de remplissage des grains 1 et 3 au sein d'un épillet modélisé.

2.2. Résultats et perspectives du modèle simplifié d'allocation des assimilats au sein d'un épillet

2.2.1. Objectif des simulations réalisées

L'objectif de ce modèle simple d'allocation des assimilats au sein d'un épillet est de tester la vraisemblance de l'hypothèse selon laquelle le remplissage des grains et ainsi leurs masses finales sont co-limités par leur force de puits intrinsèques et le système vasculaire qui permet l'apport des assimilats. Plus précisément, nous allons tenter de reproduire les observations du chapitre 4 qui montrent qu'une perte de masse sèche des grains due à un stress thermique post-floraison est plus importante pour les grains proximaux (grains 1 et 2) que pour les grains distaux (grains 3).

Pour répondre à cet objectif, nous allons comparer les masses des grains individuels simulées dans deux conditions. La première condition sera considérée comme la condition témoin (Condition témoin). Dans la deuxième condition (Condition stressée), les forces de puits (FP_1 et FP_3) de chaque grain sont diminuées de 15% chacune par rapport à la première condition. Nous faisons en effet l'hypothèse, sur la base des éléments discutés au chapitre 3, que les forces de puits des grains individuels sont affectées de la même manière par des facteurs génotypiques ou environnementaux, cette hypothèse étant la plus parcimonieuse. On obtient donc :

$FP_1' = 0{,}85 \times FP_1$

où FP_1 est la force de puits du grain 1 en condition témoin et FP_1' représente la force de puits dans la condition stressée.

$FP_3' = 0{,}85 \times FP_3$

où FP3 représente la force de puits du grain 3 en condition témoin et FP_3' la force de puits dans la condition stressée.

La validation ne se fera pas sur les masses finales des grains car elles sont extrêmement sensibles aux différents forçages utilisés de manière arbitraire dans ce modèle simple. Pour s'abstraire de ce problème, nous calculerons le ratio de perte de masse sèche du grain 1 par rapport à la perte totale de masse sèche totale des grains 1 et 3 (Figure 5-4) selon l'équation :

$\text{Ratio} = (M_1' - M_1) / [(M_1' - M_1) + (M_3' - M_3)] \times 100$

où M_1 et M_3 représentent les masses des grains 1 et 3 en condition témoin et M_1'et M_3' les masses des grains 1 et 3 dans la condition stressée. A titre d'exemple, si on a M_1'=40.67 mg ; M_1=46.81 mg ; M_3'=13.87 mg et M_3=15.74 mg, alors le Ratio=76.7%. Dans cet exemple, 77% de la perte de masse sèche totale des grains provient de la perte de masse du grain 1.

2.2.2. Paramètres des simulations réalisées

Cette comparaison est effectuée pour différentes combinaisons de ratios de forces de puits entre les deux grains et de ratios de limites vasculaires. Pour plus de clarté, nous définissons donc 2 paramètres variables : le ratio de forces de puits entre les deux grains (PFP) et le ratio de limites vasculaires (PFV) (Tableau 5-1).

PFP= FP_1 / FP_3

PFV= FV_1/ (FV_1+FV_3)

Nous explorerons une gamme de variation de PFP comprise entre 1 et 2 (PFP ∈ {1.0 ; 1.2 ;… ;2.0}) avec la valeur absolue de FP1 maintenue fixe (Tableau 5-1). De même, la gamme de variation de PFV est dans la gamme 0.5 à 0.9 (PFV ∈ {0.5 ; 0.6 ;… ;0.9}) (Tableau 5-1). Pour chaque condition (Condition témoin et stressée), une simulation sera effectuée pour l'ensemble des combinaisons de PFP et de PFV, soit 30 simulations par condition.

2.2.3. Résultats des simulations réalisées et perspectives

Les résultats de ces simulations sont représentés sur la Figure 5-4. On remarque d'abord une large variation des réponses à la diminution des forces de puits (Ratio) selon les combinaisons de ratios des forces de puits (PFP) et de ratios de limitations vasculaires (PFV) allant de 50 à 95%. En d'autres termes, la perte de masse sèche globale due à la diminution des forces de puits est répartie, d'équitablement entre les grains 1 et 3 (50%) à presque complètement due à la perte de masse du grain 1 (95%).

Afin de tester l'hypothèse forte de co-limitation par la force de puits / dimension du système vasculaire sur la masse finale des grains, nous pouvons tenter de comparer ces résultats de simulation obtenus avec notre modèle simplifié avec les observations faites dans le chapitre 4. Dans le chapitre 4, si nous calculons les pertes de masses sèches des grains individuels 1 et 3 au sein d'un épillet central causées par le stress thermique, on observe un pourcentage de perte de masse sèche allouée au grain 1 par rapport à la perte totale de masse sèche des grains 1 et 3

de 65% (représenté par des étoiles rouges sur les Figures 5-4 et 5-5). L'idée est donc d'identifier si des combinaisons de paramètres [PFP ; PFV] permettent de reproduire les résultats observés expérimentalement. Cette valeur (65%) se retrouve sur des simulations de seulement deux combinaisons différentes de ratios de forces de puits (PFP) et limitations vasculaires (PFV) (Figure 5-4). En première approche, l'hypothèse d'une co-limitation du remplissage des grains individuels par les forces de puits et le système vasculaire semble donc plausible.

Une comparaison plus précise entre les données simulées et les résultats du chapitre 4 peut être réalisée (Figure 5-5). Dans la figure 5-5, les masses finales des grains 1 et 3 dans les deux conditions (Témoin et stressée) ont été représentées uniquement pour la combinaison de paramètres [PFP=1.2 ; PFV=0.6]. Les étoiles rouges représentent les masses finales obtenues pour chacun des grains 1 et 3 dans l'expérience du chapitre 4 en condition témoin (comparaison avec la simulation en condition témoin) et en condition de stress thermique post-floraison (comparaison avec la simulation en condition stressée). Les masses finales simulées (barplot) et observées (étoiles rouges) sont extrêmement différentes (Figure 5-5) mettant en évidence une première limite du formalisme utilisé dans notre modèle. En effet les différences de masses finales simulées entre les grains 1 et 3 sont d'une amplitude trop grande pour être réalistes. Par exemple, la masse finale simulée du grain 1 en condition témoin est 2,4 fois plus élevée que celle du grain 3, contre 1,2 fois pour les masses finales observées. De la même manière, la masse finale simulée du grain 1 en condition stressée est 2,5 plus élevée que celle du grain 3 contre 1,1 pour les masses finales observées. Si notre formalisme simple permet de simuler les effets relatifs d'une diminution de force de puits liée au stress, il montre ses limites pour simuler les valeurs absolues. De mon point de vue, cette incapacité est à mettre au compte de l'absence de modélisation explicite des processus développementaux des grains qui nous a obligé à borner la croissance des grains par la disponibilité de la source. Une telle amélioration n'est pas réalisable dans le cadre de l'exercice simple proposé ici mais serait évidemment une piste à creuser dans le cadre de développements ultérieurs.

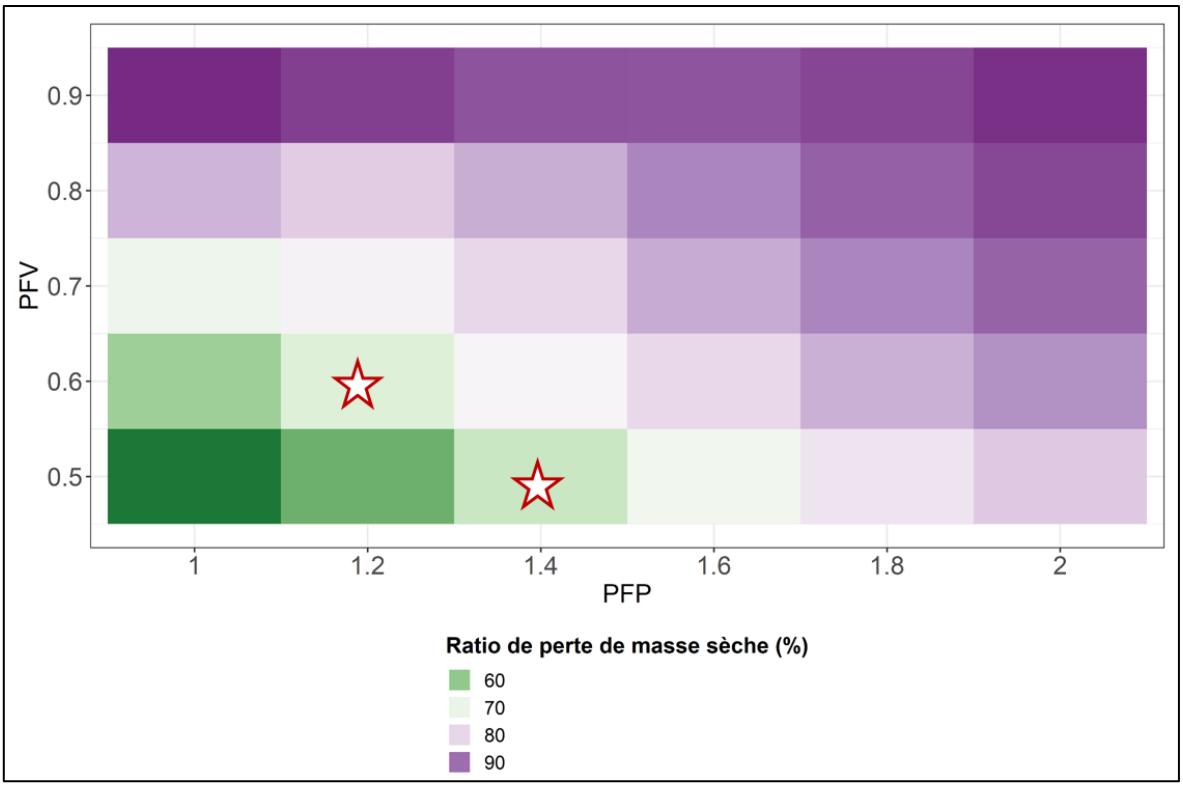


Figure 5-4 : Pourcentage de perte de masse sèche allouée aux grains 1 par rapport à la perte totale de masse sèche des grains 1 et 3 (Ratio de perte de masse sèche) pour différentes combinaisons du ratio des forces de puits du grain 1 par rapport au grain 3 (PFP) et du ratio de limitations vasculaires du grain 1 sur le faisceau principal (PFV). *Les étoiles rouges correspondent à la valeur de pourcentage de perte associé au grain 1 issu du chapitre 4 pour les grains 1 et 3 de l'épillet 5.*

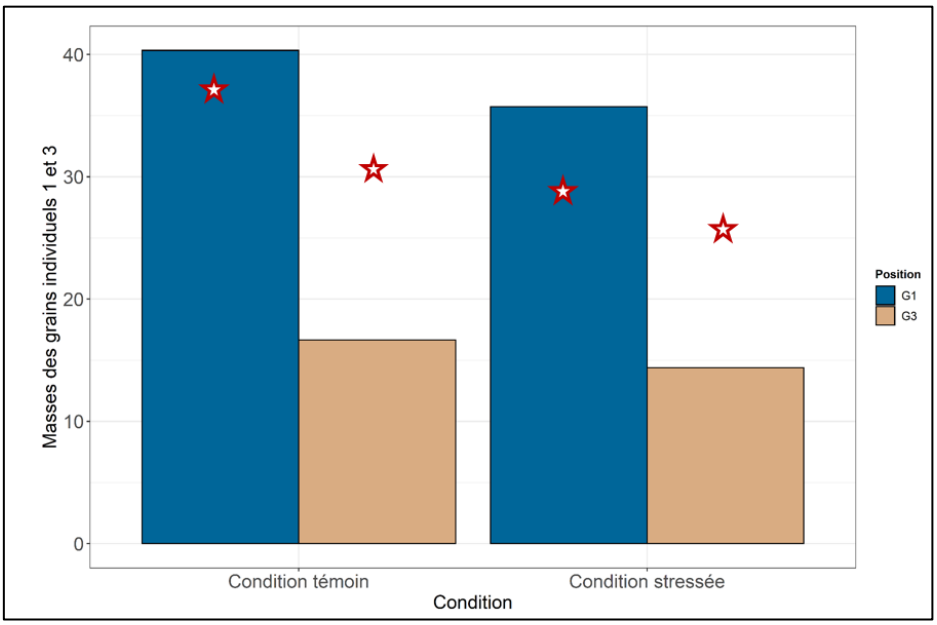


Figure 5-5 : Masses des grains individuels 1 et 3 (G1 et G3 respectivement) en mg dans la condition témoin et la condition stressée (diminution de 15% des forces de puits). *Les étoiles rouges représentent, dans chaque condition, les valeurs de masses calculées dans le chapitre 4 dans les conditions témoin (T) et stressée (HT).*

Intéressons-nous maintenant aux résultats du chapitre 3, où des différences génotypiques de masses de grains individuels étaient visibles uniquement pour le grain 1, et non pour le grain 3. Or, dans notre modèle, une diminution stricte du grain 1 sans diminution du grain 3 n'est pas possible en faisant varier uniquement les combinaisons de ratios de forces de puits (PFP) et les ratios des limitations vasculaires (PFV) (Figure 5-4). Ces résultats nous permettent de soulever d'autres limites de ce modèle. D'abord, la manière dont nous avons modélisé le système vasculaire ne prend en effet pas en compte les distances des grains 1 et 3 par rapport au faisceau principal de l'épillet et donc à la source. C'est pourtant ainsi qu'a été inférée la plus récente représentation du système vasculaire au sein des épillets (Wolde and Schnurbusch, 2019). Dans notre modèle, la prise en compte de ces résultats se traduirait par des choix de règles de partage des assimilats plus complexes entre les grains 1 et 3 avec une allocation préférentielle, indépendamment de la demande, vers le grain 1. Ensuite, dans le chapitre 3, nous avons fait l'hypothèse par souci de simplification que les forces de puits étaient affectées de manière homogène entre les grains 1 et 3 par un facteur génotypique. Cette hypothèse s'est traduite dans nos simulations en faisant diminuer de 15% les forces de puits respectives des grains 1 et 3. Or cette hypothèse est discutable sur la base des travaux de Xie *et al.* 2015, qui montrent que la masse finale et certains traits associés (taille d'ovaire, taux de remplissage) des grains proximaux et distaux présentent des déterminismes génétiques différents. Par conséquent, on peut supposer que les forces de puits des grains proximaux et distaux peuvent être impactées de manière différente par un facteur génotypique.

Enfin, à la fin du chapitre 3, nous avons soulevé l'hypothèse qu'en plus d'une co-limitation par la force de puits et le système vasculaire, la masse finale du grain 3 pouvait être limitée par les règles d'allocations des assimilats entre épillets, ceux-ci pouvant être en compétition pour les assimilats au sein d'un épi (Kirby and Rymer, 1974; Wolde and Schnurbusch, 2019). Or notre modélisation prend en compte uniquement un épillet isolé. Une amélioration de ce modèle consisterait donc à modéliser au moins deux épillets avec des règles de partage des assimilats selon la position de chaque épillet au sein de l'épi. Nous avons en effet vu que la taille et le nombre de faisceaux vasculaires diminuent de façon acropète au sein de l'épi (Whingwiri *et al.*, 1981). Un épillet situé dans la partie inférieure de l'épi serait donc favorisé dans l'allocation des assimilats par rapport à un épillet situé dans la partie supérieure de l'épi.

Ce travail de modélisation simplifié, tout en prenant en compte ses limites, a tout de même montré que l'hypothèse de co-limitation du remplissage des grains individuels par la force de puits et le dimensionnement du système vasculaire était vraisemblable dans une certaine

mesure. Des pistes d'amélioration potentielle sur les règles d'allocation entre grains et/ou épillets sont d'ores et déjà envisageables même si cela se ferait probablement au détriment de la simplicité du modèle.

L'élaboration de ce modèle mécaniste simple nous a également permis de mieux comprendre la nécessité de développer une stratégie permettant de caractériser expérimentalement les effets réels d'un stress (ou d'une différence génotypique) sur un caractère en faisant abstraction des possibles interactions avec les autres caractères. Nous avons pu mesurer cette difficulté expérimentale lors de l'étude d'un effet d'un stress thermique sur la masse des grains individuels (Chapitre 4), en particulier dans le cadre d'un système fortement co-limité comme celui qui nous occupe. Une telle stratégie s'avère difficilement réalisable, en particulier dans le cas d'une variable aussi intégrative que la masse finale des grains. Le problème peut éventuellement être contourné par une approche d'optimisation d'un modèle mécaniste (sur la base de variables mesurables) pour peu que l'on soit capable d'utiliser un formalisme incluant l'ensemble des processus nécessaires.

Bien que ce modèle simple ait été construit sans s'appuyer sur des études antérieures, des modèles mécanistes pour expliquer des remplissages différentiels de grains de blé ont bien sûr déjà été utilisés dans plusieurs études (Bancal *et al.*, 2012; Pepler *et al.*, 2006). Le modèle phénoménologique développé par Pepler *et al.* (2006) couple la dynamique de remplissage en matière sèche et la dynamique de concentration en eau au sein des grains en prenant en compte le nombre de cellules de l'endosperme, les positions des grains et des effets génotypiques et environnementaux. Ce modèle se base sur les taux et la durée de remplissage, stratégie différente de celle que nous avons utilisée et n'implique pas de mécanismes à proprement parler. Un autre modèle, le modèle à compartiments développé par Bancal *et al.* (2012) a été utilisé, en complément d'une expérimentation, pour modéliser l'effet d'un pathogène en tant que source compétitive du grain pour l'assimilation du carbone. Ce modèle a été développé à une échelle plus macroscopique que notre modèle simplifié, en modélisant quatre compartiments correspondant à différentes parties de la plante (feuille drapeau, parties végétatives et grain) et au parasite et caractérisés, pour les puits, par deux paramètres : la capacité de transport et l'affinité avec le substrat. Ces modèles, basés sur des stratégies différentes du modèle simple présenté ici, nous permettent d'envisager d'autres approches complémentaires de celle ébauchée dans cette discussion.

III. Du grain individuel à l'élaboration du PMG sous stress abiotiques post-floraison : vers un modèle d'intégration de la variabilité des masses de grains individuels

Dans cette deuxième partie de la discussion générale, il s'agit de tenter une première modélisation de l'effet d'un stress thermique post-floraison sur le PMG à partir de distributions de masses de grains individuels. Une telle modélisation a pour vocation de tester notre hypothèse initiale selon laquelle la variabilité intra-génotypique, c'est à dire la variance de la distribution de masses de grains individuels, peut être une source de tolérance au stress thermique post-floraison. Une manière simplifiée d'aborder ce travail de modélisation est de simuler l'effet d'un stress thermique post-floraison sur le PMG en appliquant directement l'effet de ce stress sur des distributions données de masses de grains individuels. C'est ce que nous allons tester dans un premier temps.

Toutefois, ces distributions de masses individuelles de grains étant la résultante à la fois de la mise en place des composantes du nombre de grains par m^2 (Chapitre 2) et d'un déterminisme propre lié à la construction des épis (Chapitre 3), il est alors théoriquement envisageable de compléter cette première étape de la modélisation en reconstruisant ces distributions à partir des relations établies avec les différentes sources de variance identifiées : la mise en place d'une population d'épis (qui diffèrent par leur nombre de grains) pour un nombre donné d'épis par m^2 et la mise en place d'une population de grains pour un épi (qui diffèrent par leur position dans l'épi) à nombre de grain donné. Cette modélisation pourrait alors permettre d'explorer les effets potentiels de certains paramètres sur la variabilité intra-génotypique des masses de grains individuels. C'est ce que nous tenterons d'effectuer dans un deuxième temps. Malheureusement, dans le temps imparti de la thèse, nous n'avons pas pu mener à terme cette modélisation statistique et ne ferons qu'en présenter les principes et en étudier qualitativement le comportement. Nous discuterons enfin des implications d'une telle modélisation dans l'identification d'idéotypes de tolérance aux stress abiotiques post-floraison.

3.1. Modélisation statistique de l'effet d'un stress thermique post-floraison sur des distributions de masses de grains individuels

Dans un premier temps, nous nous proposons de simuler l'effet d'un stress thermique post-floraison sur des distributions de masses de grains individuels caractérisées par une masse moyenne (PMG) identique et une variance différente et d'en étudier les réponses en termes de pertes de PMG.

3.1.1. Méthodologie

La première étape est de construire des distributions de masses de grains individuels à partir d'un grand nombre d'observations (50 000) et qui suivent une loi normale de paramètres μ (moyenne) et σ^2 (variance). La moyenne de chaque distribution correspond au PMG en condition témoin (PMG_t). La variance de chaque distribution correspond à la variance intra-génotypique (σ^2). Dans les calculs présentés, le PMG_t prend des valeurs comprises entre 35 et 55 mg ($PMG_t \in \{35 ; 40 ;\dots ;55\}$). σ^2 peut prendre des valeurs comprises entre 25 et 150 mg^2 ($\sigma^2 \in \{25 ; 50 ;\dots ;150\}$). Ces gammes de variations testées ont été choisies sur la base des résultats observés dans le chapitre 2. Il est à noter que dans le chapitre 2, les données étaient des surfaces de grains individuels. Pour évaluer la gamme de variance intra-génotypique pour des masses, la conversion de la surface en masse a été réalisée grâce à la relation surface-masse sur grains individuels évaluée dans le chapitre 2 (Figure S2-2). Ainsi, pour chaque combinaison de PMG_t et de σ^2, une distribution de masses de grains individuels a été générée.

La deuxième étape est de simuler les effets d'un stress thermique post-floraison sur des grains de masses différentes pour chacune des distributions créées. Pour cela, on fait l'hypothèse forte que la relation masse / perte de mase due au stress thermique est identique pour tous les génotypes. Dans le chapitre 4, une corrélation linéaire significative entre la masse de grain individuel dans la condition témoin (M_t) et la perte de masse (P, exprimée en pourcentage) due au stress thermique post-floraison a été mise en évidence. Les coefficients (pente=0,0072 et origine=-0,0898, Figure 5-6) de cette corrélation ont été utilisés afin de calculer la masse de chaque grain en condition de stress thermique post-floraison (M_s) selon l'équation suivante :

$$M_s = M_t - P \times M_t, \qquad \text{[Eq. 1]}$$

où P= 0,0072 × M_t – 0.0898 ; P étant la perte de masse exprimée en pourcentage due au stress et M_t la masse de chaque grain en condition témoin.

La troisième étape est de calculer, pour chaque distribution, le PMG résultant des masses de chaque grain après application du stress thermique post-floraison (PMG_s). PMG_s correspond à la moyenne des masses de chaque grain après application du stress thermique post-floraison.

Enfin, la perte de PMG due au stress thermique post-floraison pour chaque distribution est calculée comme :

P_{PMG} (%) = (PMG_t - PMG_s) / PMG_s ×100 [Eq. 2]

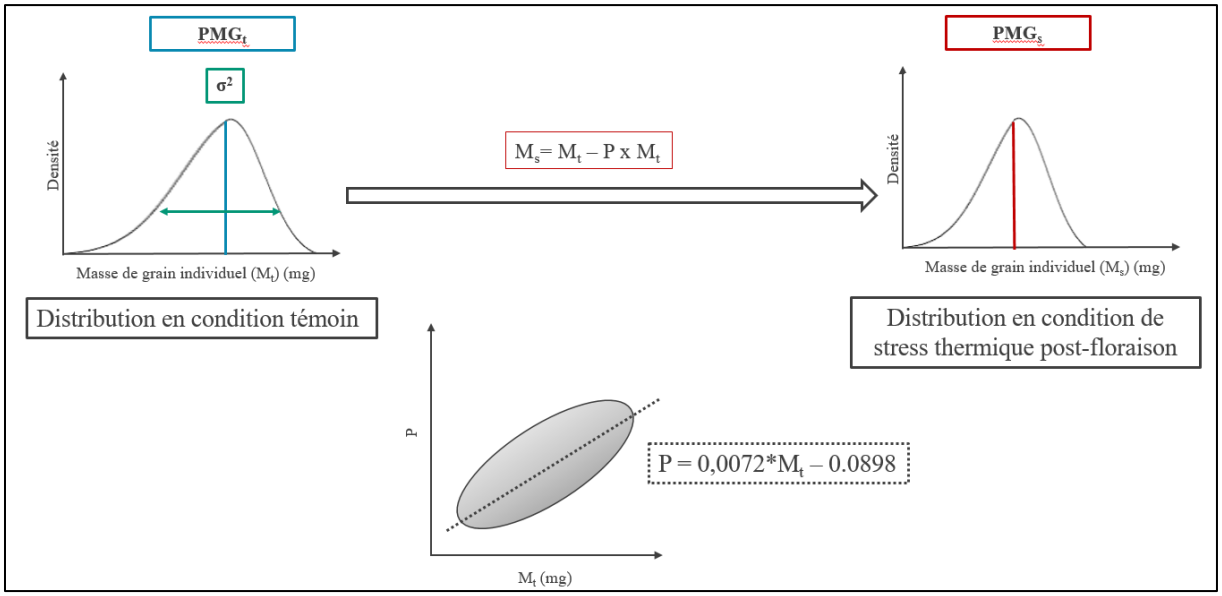


Figure 5-6 : Modélisation statistique de la perte de masse pour chaque grain individuel de la distribution de masse de grain individuel à partir des données du chapitre 4. *M_t : la masse de chaque grain en condition témoin ; M_s : masse de chaque grain en condition stressée ; PMG_t : PMG en condition témoin, PMG_s : PMG en condition stressée ; P : perte de masse due au stress ; σ^2 : variance intra-génotypique.*

3.1.2. Résultats et limites de la modélisation statistique

Les résultats de la modélisation statistique d'un stress thermique post-floraison pour des génotypes présentant des combinaisons variables de PMG_t et de σ^2sont rapportés sur la Figure 5-7. Dans un premier temps, nous pouvons comparer ces résultats obtenus sur des distributions générées *in silico* avec les résultats obtenus en appliquant la même règle d'effet du stress (Eq. 1 et 2) sur des distributions réelles issues du Chapitre 2 (Zones grisées de la Figures 5-7). Les pertes de PMG dues au stress appliqué aux distributions observées sont dans les mêmes gammes, entre 15 et 35% environ (Zones grisées, Figure 5-7) que les pertes simulées issues des distributions générées. La plus-value des distributions simulées est d'obtenir des résultats pour

une plus large gamme de combinaisons de PMG_t et de σ^2 et donc d'observer l'effet de ces variables en dehors du cadre strict, potentiellement restrictif, des observations faites dans notre travail expérimental.

Sur la figure 5-7, il apparaît clairement que la variance de masses de grains individuels a un impact négatif sur la réponse au stress du PMG et ce, quel que soit le PMG_t. En d'autres termes, plus un génotype présente une variance intra-génotypique de ses masses de grains individuels élevée, plus la perte de PMG liée à un stress thermique post-floraison sera importante. Il est toutefois à noter que cette réponse différentielle de perte de PMG liée au stress est assez faible en termes d'amplitude. Prenons l'exemple d'un génotype présentant un PMG_t de 40 mg, la perte de PMG selon la valeur σ^2 utilisée varie entre 20,3% et 22,5%. Pour mieux comprendre quel effet a l'application du stress sur la distribution de masses de grains et donc sur le PMG, il est utile de comparer, pour un PMG_t fixé (PMG_t = 40 mg), les distributions obtenues en condition témoin et de stress thermique post-floraison pour deux variances σ^2 très différentes (Figure 5-8). Dans ce cas de figure, il est clair que l'augmentation de variance se traduit par une augmentation du nombre de grains avec des masses très faibles et très élevées. Le stress thermique impactant plus fortement les grains présentant des masses élevées, il est assez logique que la perte de PMG soit plus forte dans le cas où les distributions des masses de grains individuels présentent des variances σ^2 plus élevées. Par ailleurs, on remarque qu'une co-variance positive existe entre PMG_t et σ^2 (Figure 5-7), ce qui est en accord avec la corrélation positive entre le PMG et la variance observée dans le Chapitre 2. Cette covariance n'a pas été prise en compte dans l'exercice présenté ici. De ce fait, certaines combinaisons de PMG_t et variance intra-génotypique sont par conséquent peu probables dans la réalité : par exemple des génotypes présentant des PMG_t inférieurs à 40 mg et des σ^2supérieurs à 100 mg^2 sont sans doute des cas de figure difficilement observables.

Globalement, cette première étape de l'exercice de modélisation statistique que nous proposons apporte une première réponse à l'hypothèse selon laquelle la variabilité des masses de grains individuels intra-génotypique pourrait être source de tolérance aux stress abiotiques post-floraison. Nous avions toutefois émis l'hypothèse, dans le chapitre 2, qu'une variabilité de masses de grains individuels plus élevée était susceptible de diminuer l'effet d'un stress abiotique post-floraison sur le PMG et de stabiliser le PMG dans des environnements stressés. Cette ébauche de modélisation statistique présente un résultat inverse. Ce résultat est toutefois à nuancer car certaines limites de l'exercice peuvent être discutées. La première limite qui peut être soulevée est qu'on a supposé que les réponses des grains individuels à un stress thermique

post-floraison sont identiques pour tous les génotypes. Or, nous avons vu dans le chapitre 4 que nos résultats, s'ils suivent la même tendance que les résultats de Tashiro and Wardlaw, (1990), présentent des spécificités de réponse. Une perspective du travail réalisé dans le chapitre 4 serait donc de refaire une expérimentation pour étudier les effets d'un stress thermique post-floraison sur des grains individuels avec plusieurs génotypes et pour plusieurs stress abiotiques post-floraison (différentes durée, intensité). Une deuxième limite à cet exercice de modélisation statistique est liée au fait que l'effet du stress pour chaque grain individuel a été évalué uniquement à partir de la masse de ce grain. Or, il a été montré dans le chapitre 4 que l'effet différentiel du stress était plus complexe et avait aussi une nature positionnelle (selon sa position au sein d'un épillet et au sein de l'épi). Une piste d'amélioration de ce modèle statistique serait de simuler des distributions de masses de grains individuels et de reconstruire explicitement des épis sur la base de relations entre nombre de grain par épi et probabilité de présence de grains à certaines positions. Sur cette base, il deviendrait possible de calculer l'impact du stress en prenant en compte aussi bien l'effet masse que l'effet positionnel. Avec une telle amélioration du formalisme utilisé, les effets de la variance intra-génotypique sur la réponse au stress seraient susceptibles d'être modifiés. La troisième limite qui peut être soulevée est que les distributions générées suivent toutes une loi normale qui est symétrique. Or, comme nous l'avons vu dans les chapitres 2 et 3, les distributions de masses de grains individuels présentent fréquemment des asymétries. La compréhension et la modélisation de distributions de masses de grains plus proches de la réalité s'avèrent donc nécessaire et permettraient d'évaluer plus globalement les impacts de la variabilité des masses de grains individuels sur le PMG.

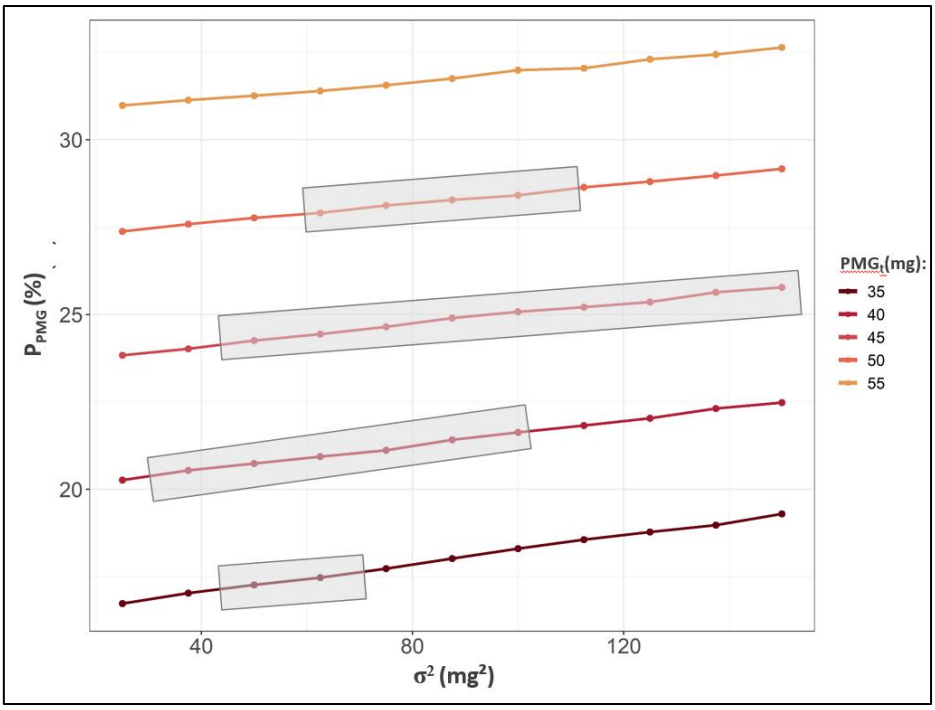


Figure 5-7 : Perte de PMG (P_{PMG}) (%) due à un stress thermique post-floraison en fonction de la variance des masses de grains individuels intra-génotypiques (σ^2). *Les courbes de différentes couleurs correspondent à la réponse au stress en fonction de σ^2 pour différentes valeurs de PMG_t. Les zones grisées correspondent aux valeurs simulées d'un stress thermique post-floraison à partir des distributions observées de masses de grains individuels du Chapitre 2.*

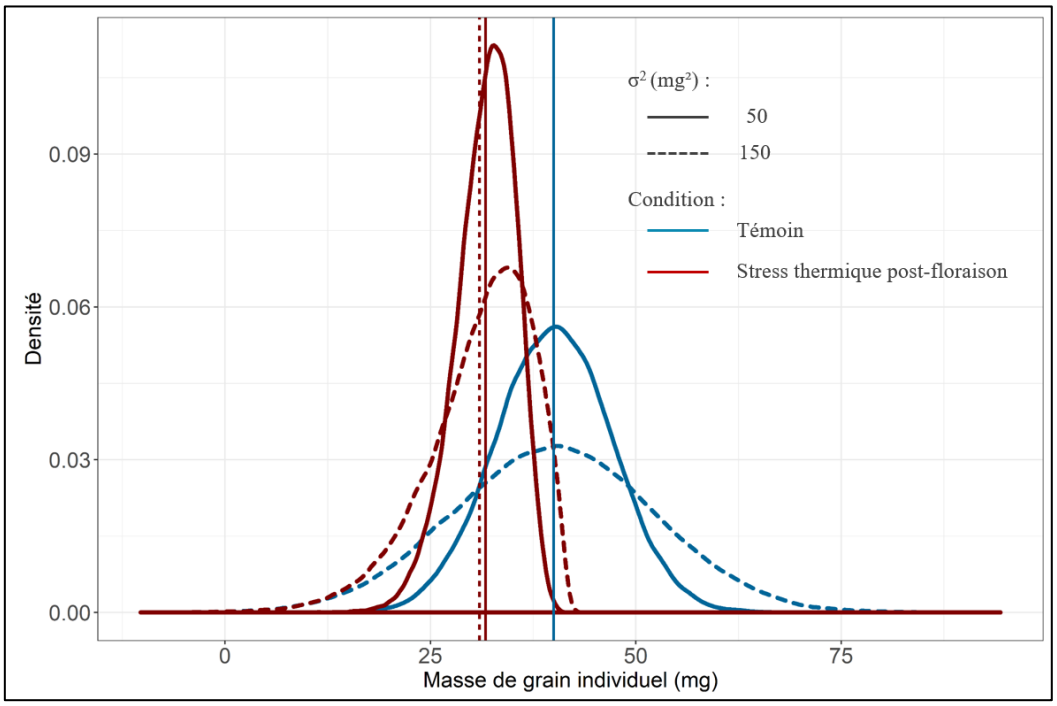


Figure 5-8 : Distributions de masses de grains individuels pour un PMG_t = 40 mg et avec des variances de masses de grains individuels (50 mg²; 150 mg²) dans deux conditions (témoin et stress thermique post-floraison). *Les barres verticales correspondent au PMGt (témoin, bleu) et aux PMG_s (stressé, rouge).*

3.2. Modélisation de distributions de masses de grains individuels

3.2.1. Règles de modélisation des distributions de masses de grains individuels à l'échelle de la parcelle

Modéliser une distribution de masses de grains individuels plus proche de la réalité nécessite de prendre en compte la manière dont la variabilité des masses de grains individuels est construite. Les résultats des Chapitres 2 et 3 qui ont montré les liens entre la mise en place des composantes du nombre de grains par m² et la variabilité des masses de grains individuels pourrait contribuer à compléter cette modélisation de la distribution des masses de grains individuels selon un formalisme de modélisation ébauché ci-après (Figure 5-9).

Considérons un génotype G présentant un nombre d'épis par m² (SPM2), un nombre moyen de grains par épi (GPS) et PMG fixés. A partir du nombre d'épis par m² (SPM2) et du nombre moyen de grains par épi (GPS), une distribution associée à une population d'épis peut être simulée suivant, en simplifiant, une loi normale de paramètres (GPS, σ_e^2) et de n=SPM2 observations. Le nombre d'épis par m² a un impact positif sur la variabilité de nombre de grains par épi (σ_e^2) (Acreche and Slafer, 2006). Cependant, ni nos résultats, ni la littérature ne nous permettent de donner une équation quantitative de cette observation.

Ensuite, pour chaque épi de cette population, caractérisé par son nombre de grains (NGE), il est possible de simuler une distribution de masses de grains individuels de paramètres ($MG_{épi}$,σ_{intra}^2) avec $MG_{épi}$ sa masse moyenne de grains individuels et σ_{intra}^2 sa variabilité de masses de grains intra-épi. $MG_{épi}$ et σ_{intra}^2 peuvent être simulés à partir de la corrélation linéaire entre ces variables et le NGE, issue des résultats du Chapitre 3 selon :

$MG_{épi} = a_g \times NGE + b_g$ avec a_g et b_g les coefficients de la corrélation linéaire qui dépendent du génotype.

$\sigma_{intra}^2 = c_g \times NGE + d_g$ avec c_g et d_g les coefficients de la corrélation linéaire qui dépendent du génotype.

L'ensemble des distributions de masses de grains individuels issues de chaque épi de la population d'épis permet de reconstruire la distribution de masses de grains individuels à l'échelle de la parcelle avec un PMG et une variabilité des masses de grains individuels intra-génotypique à l'échelle de la parcelle (Figure 5-9). Les notations utilisées et leur signification sont reportées dans le Tableau 5-2. Une fois les règles de modélisation des distributions de

masses de grains individuels à l'échelle de la parcelle explicitées, il est alors possible d'explorer les effets potentiels de certains paramètres sur la variabilité intra-génotypique des masses de grains individuels. Le modèle n'ayant pas été transcrit dans un code informatique par manque de temps, nous proposons ici uniquement d'en étudier le comportement qualitatif.

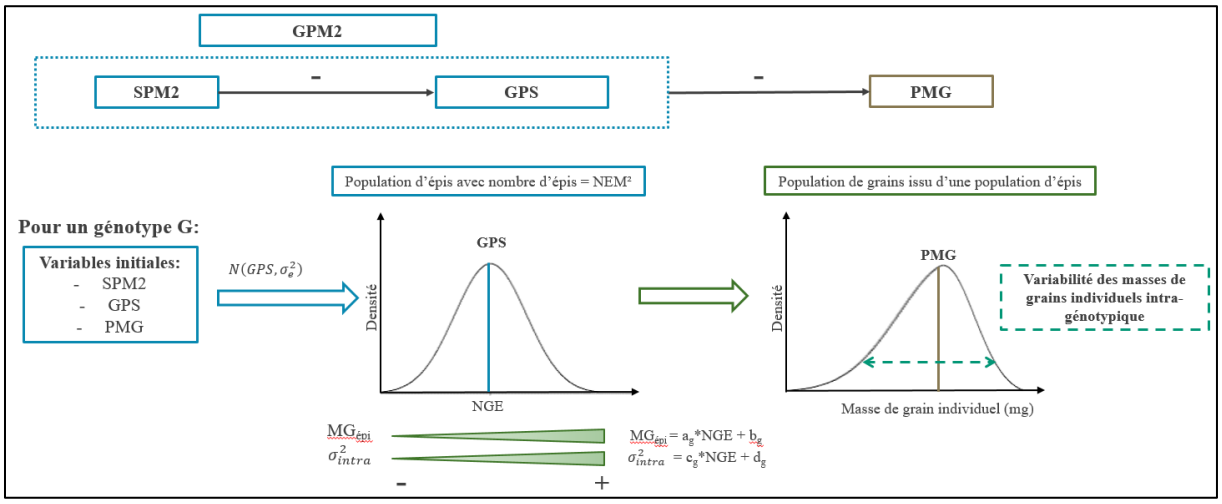


Figure 5-9: Schéma récapitulatif de la mise en place de la variabilité des masses de grains individuels à l'échelle de la parcelle. *Dans la partie gauche (flèche bleue) est représentée la relation décrivant la mise en place d'une distribution associée à la population d'épis. Dans la partie droite (flèche) est représentée la relation décrivant la mise en place de la distribution de masses de grains individuels. Dans la partie supérieure se trouve les composantes moyennes de rendement et leurs relations. Les abréviations sont décrites dans le Tableau 5-1.*

Tableau 5-2: Tableau des abréviations utilisées.

Symbole	Description
SPM2	Nombre d'épis par m²
GPS	Nombre de grains par épi moyen
GPM2	Nombre de grains par m²
NGE	Nombre de grains par épi
σ_e^2	Variabilité de nombre de grains par épi
$MG_{épi}$	Masse moyenne de grains individuels par épi
σ^2_{intra}	Variabilité de masses de grains individuels intra-épi

3.2.2. Analyse qualitative de l'effet du nombre d'épis par m² sur une distribution de masses de grains individuels à l'échelle de la parcelle

Explorons l'effet du paramètre SPM2, tous les autres paramètres étant considérés comme égaux, sur la simulation d'une distribution de masses de grains individuels. Le chapitre 2 a permis de mettre en évidence un effet négatif du nombre d'épis par m² sur la variabilité des masses de grains individuels intra-génotypique. Par ailleurs, il existe une variabilité génétique du nombre d'épis par m² (Acevedo *et al.*, 2002; Moeller *et al.*, 2014). De plus, malgré le trade-off entre le nombre d'épis par m² (SPM2) et le nombre de grains par épi moyen (GPS), il existe également une variabilité génétique du nombre de grains par épi moyen indépendant du nombre d'épis par m². Sur ces bases, prenons l'exemple de deux génotypes présentant des nombres d'épis par m² (SPM2) différents pour un nombre de grains par épi moyen (GPS) identique (Figure 5-10). Le nombre d'épis par m² (SPM2) est corrélé positivement à la variabilité de nombre de grains par épi (σ_e^2) ce qui découle de l'augmentation de la proportion de talles secondaires ou tertiaires (Acreche and Slafer, 2006). Or, ces épis ont moins de grains et présentent par conséquent une variabilité intra-épi plus faible. Par conséquent, l'augmentation du nombre d'épi par m² (Génotype 2) engendre la diminution de la variabilité intra-génotypique à l'échelle de la parcelle du génotype 2 par rapport à celle du génotype 1.

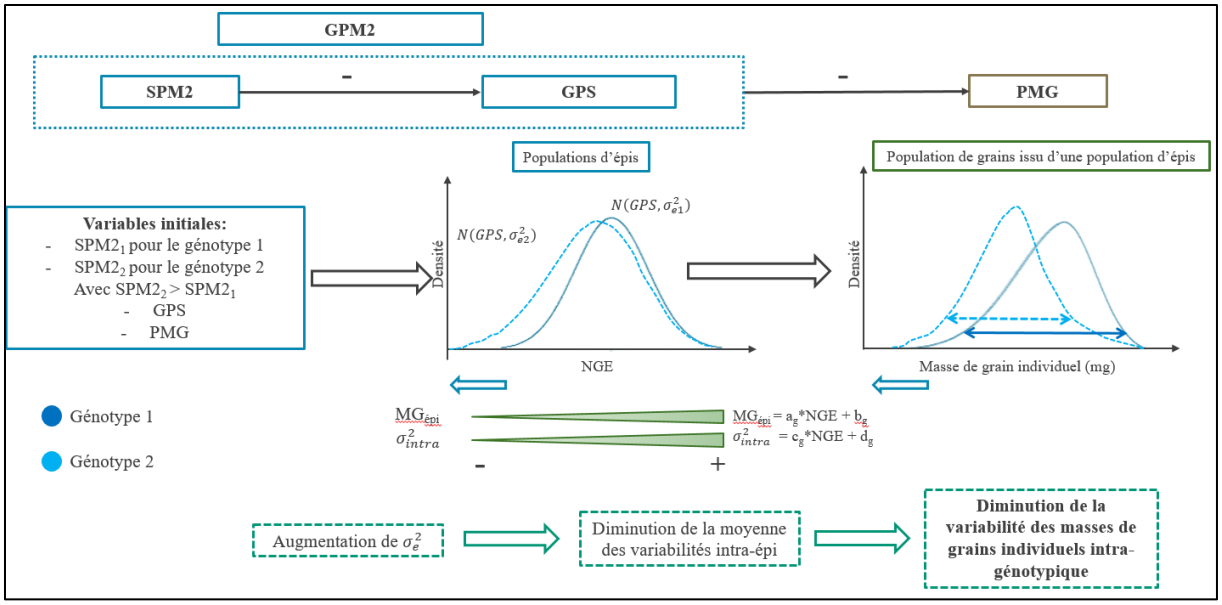


Figure 5-10: Effet de la mise en place du nombre de grains par m² sur la variabilité des masses de grains individuels à l'échelle de la parcelle.

Dans le modèle présenté, d'autres paramètres sont susceptibles de présenter une certaine variabilité génétique et justifierait donc d'en étudier l'effet. Ainsi, la variabilité génétique du nombre de grains par épi moyen (GPS) pourrait être explorée, pour peu que l'on soit capable de modéliser l'effet de la fertilité de l'épi (nombre d'épillets, nombre de grains par épillet) sur une distribution de masses de grains individuels. D'autre part, les résultats du Chapitre 3 ont mis en lumière des différences génotypiques constitutives sur les masses des grains proximaux au sein des épillets, indépendantes du trade-off entre le nombre de grains par m² et le PMG. La prise en compte de cet effet génétique de la position des grains sur l'épi et/ou dans l'épillet sur la masse individuelle des grains dans le modèle permettrait probablement de mieux simuler les distributions de masses de grains à l'échelle de la parcelle. Une telle amélioration permettrait d'explorer plus précisément les effets de stratégies variétales de mise en place de leur nombre de grains sur la tolérance à un stress induit par les réponses différentielles des grains à ce stress.

3.3. Vers l'idéotypage

L'exercice proposé ci-dessus de modélisation statistique (i) des distributions de masses de grains individuels tenant compte de certains paramètres génotypiques et (ii) de l'effet d'un stress thermique post-floraison sur ces distributions n'a pu être réalisé que partiellement en raison d'une part d'un manque de temps mais d'autre part du manque de données sur certaines relations entre les paramètres génotypiques. Cependant, malgré ses limites, cet exercice m'a permis de donner une vision intégrée des différents résultats de la thèse et des relations existant entre les différentes échelles (grain, épi, parcelle).

Si cet exercice de modélisation était effectué entièrement, il devrait inclure idéalement (i) un vrai modèle de génération de la variance intra-génotypique des masses de grains individuels au travers des différentes échelles d'étude (Figure 5-9) et (ii) un modèle plus intégratif de réponse au stress des grains individuels (sous réserve que la généricité de la réponse pour de nombreux génotypes soit démontrée). Dans ce cas-là, il deviendrait alors possible d'explorer les effets sur la tolérance au stress de stratégies génotypiques de mise en place du nombre de grains par m², via la variabilité génétique du nombre d'épis par m², de la fertilité épi ou de l'architecture de l'épi. De plus, un tel modèle pourrait être étendu à d'autres types stress abiotiques post-floraison.

Enfin, un modèle complet pourrait permettre d'apporter un éclairage original sur d'autres expériences de tolérance au stress. En effet il n'est pas impossible que la variabilité génétique de tolérance aux stress abiotiques observée dans certaines expériences au champ et difficilement

explicable sur la base des composantes moyennes de rendement seules puisse être mieux comprise en prenant en compte également la variabilité intra-génotypique. Les stratégies génotypiques de mise en place du nombre de grains par m² ainsi que le déterminisme génétique intrinsèque de la variance intra-génotypique (Beral *et al.*, 2020) et leurs impacts sur les réponses à l'échelle du grain seraient en effet des pistes à explorer pour comprendre les bases de la variabilité génétique pour la tolérance aux stress abiotiques. Une telle compréhension permettrait peut-être d'orienter la sélection vers des stratégies génotypiques susceptibles d'apporter une certaine stabilité sous climat fluctuant.

IV. La variance : à la recherche de la stabilité

La plasticité, c'est-à-dire la variation de traits moyens dans des environnements différenciés est un caractère phénotypique très étudié, en particulier en amélioration variétale (Sztepanacz *et al.*, 2017 et références citées). Dans un contexte climatique changeant, l'objectif de la sélection, outre la maximisation du rendement, est également d'obtenir un rendement stable dans des environnements fluctuants. C'est dans ce contexte que la sélection simultanée du trait moyen et de sa plasticité, est plus récemment étudiée (e.g. Dingkuhn *et al.*, 2005; Kusmec *et al.*, 2017). Kusmec *et al.* (2017) ont par exemple montré qu'il existe un contrôle génétique différent de la moyenne et de la plasticité de 23 traits d'intérêt chez le maïs. Il est dès lors possible de sélectionner des génotypes sur la base de leurs traits moyens et d'un certain niveau de plasticité afin de stabiliser le rendement quel que soit l'environnement considéré. La stabilité de production d'un couvert dans un environnement peut se traduire par un couvert végétal capable de « tamponner » les effets environnementaux.

Pour atteindre cet objectif, les solutions peuvent être apportées par d'autres champs disciplinaires avec, en particulier, les apports récents en écologie fonctionnelle sur les rôles de la variance intra- ou inter-spécifique qui englobe la variabilité génétique et la plasticité, telle que définit précédemment, de couverts végétaux plurispécifiques. Cette variance (inter- ou intra-spécifique) des traits est identifiée dans plusieurs études récentes comme une source du maintien de la coexistence des espèces et du dynamisme des communautés (Violle *et al.*, 2012a, 2012b et références citées). Dans le cadre de l'écologie fonctionnelle, ce type de variations phénotypiques est donc à l'origine de stabilité temporelle et spatiale des couverts végétaux (e.g. Violle *et al.*, 2012). Ces variations phénotypiques, dans des couverts végétaux plurispécifiques, présentent de nombreuses sources de variabilités (génétique, environnementale). Des approches similaires ont été proposées pour des couverts mono-spécifiques en valorisant la variabilité génétique existant entre variétés (mélanges variétaux, Barot *et al.*, 2017). Ma thèse a permis une extension de ce raisonnement à un couvert mono-variétal. Dans notre cas, la source de variabilité n'est plus d'origine génétique mais induite par des processus développementaux. La variabilité intra-génotypique de masses de grains individuels à l'échelle de la parcelle peut ainsi être divisée en une variance inter-épi et une variance intra-épi. La variance inter-épi, qui correspond à des variations phénotypiques de masses de grains entre épis, est sans doute causée par des différences dans le schéma de développement entre talles d'ordres différents ; bien qu'on ne puisse néanmoins pas écarter d'éventuels impacts de micro-variations

environnementales locales (lumière, température, rayonnement). La variance intra-épi correspond à des variations phénotypiques observées au sein d'un organe d'un individu. Cette thèse prend ainsi racine dans ce concept d'écologie fonctionnelle à une échelle variétale en visant à travers la variance d'un trait moyen (PMG) un potentiel de tolérance face aux stress abiotiques post-floraison.

L'essor des études impliquant l'identification et la caractérisation de variance intra-génotypique, c'est-à-dire les variations phénotypiques observées entre individus identiques génétiquement dans un environnement donné, illustre l'intérêt grandissant des différentes communautés scientifiques, notamment envers son rôle sur la stabilité de certains traits d'intérêts en sélection (Bruijning *et al.*, 2020 et références citées). Ce travail à l'échelle variétale est d'autant plus pertinent qu'il s'inclut dans une recherche de matériel génétique futur plus adapté aux conséquences du changement climatique.

V. Bibliographie

Acevedo, E., Silva, P., Silva, H., 2002. GROWTH AND WHEAT PHYSIOLOGY, DEVELOPMENT 47.

Acreche, M.M., Slafer, G.A., 2006. Grain weight response to increases in number of grains in wheat in a Mediterranean area. Field Crops Research 98, 52–59. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2005.12.005

Baillot, N., Girousse, C., Allard, V., Piquet-Pissaloux, A., Le Gouis, J., 2018. Different grain-filling rates explain grain-weight differences along the wheat ear. PLOS ONE 13, e0209597. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209597

Bancal, M.-O., Hansart, A., Sache, I., Bancal, P., 2012. Modelling fungal sink competitiveness with grains for assimilates in wheat infected by a biotrophic pathogen. Ann Bot 110, 113–123. https://doi.org/10/ghfd56

Barot, S., Allard, V., Cantarel, A., Enjalbert, J., Gauffreteau, A., Goldringer, I., Lata, J.-C., Roux, X., Niboyet, A., Porcher, E., 2017. Designing mixtures of varieties for multifunctional agriculture with the help of ecology. A review. Agronomy for Sustainable Development 37, 13. https://doi.org/10.1007/s13593-017-0418-x

Beral, A., Rincent, R., Le Gouis, J., Girousse, C., Allard, V., 2020. Wheat individual grain-size variance originates from crop development and from specific genetic determinism. PLoS ONE 15, e0230689. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230689

Brinton, J., Uauy, C., 2019. A reductionist approach to dissecting grain weight and yield in wheat. J. Integr. Plant Biol. 61, 337–358. https://doi.org/10.1111/jipb.12741

Bruijning, M., Metcalf, C.J.E., Jongejans, E., Ayroles, J.F., 2020. The Evolution of Variance Control. Trends in Ecology & Evolution 35, 22–33. https://doi.org/10/ghfkd7

Dingkuhn, M., Luquet, D., Quilot, B., de Reffye, P., 2005. Environmental and genetic control of morphogenesis in crops: towards models simulating phenotypic plasticity. Aust. J. Agric. Res. 56, 1289. https://doi.org/10/cc26zq

Fortmann-Roe, S., 2014. Insight Maker: A general-purpose tool for web-based modeling & simulation. Simulation Modelling Practice and Theory 47, 28–45. https://doi.org/10/ghcr8b

Kirby, E.J.M., Rymer, J.L., 1974. Development of the Vascular System in the Ear of Barley. Annals of Botany 38, 565–573. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a084842

Kusmec, A., Srinivasan, S., Nettleton, D., Schnable, P.S., 2017. Distinct genetic architectures for phenotype means and plasticities in Zea mays. Nature Plants 3, 715–723. https://doi.org/10.1038/s41477-017-0007-7

Moeller, C., Evers, J.B., Rebetzke, G., 2014. Canopy architectural and physiological characterization of near-isogenic wheat lines differing in the tiller inhibition gene tin. Front. Plant Sci. 5. https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00617

Pepler, S., Gooding, M.J., Ellis, R.H., 2006. Modelling simultaneously water content and dry matter dynamics of wheat grains. Field Crops Research 95, 49–63. https://doi.org/10/bxfg86

Sztepanacz, J.L., McGuigan, K., Blows, M.W., 2017. Heritable Micro-environmental Variance Covaries with Fitness in an Outbred Population of *Drosophila serrata*. Genetics 206, 2185–2198. https://doi.org/10.1534/genetics.116.199075

Tashiro, T., 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, 51–61.

Violle, C., Enquist, B.J., McGill, B.J., Jiang, L., Albert, C.H., Hulshof, C., Jung, V., Messier, J., 2012a. Viva la variance! A reply to Nakagawa & Schielzeth. Trends in Ecology & Evolution 27, 475–476. https://doi.org/10/ghfgm8

Violle, C., Enquist, B.J., McGill, B.J., Jiang, L., Albert, C.H., Hulshof, C., Jung, V., Messier, J., 2012b. The return of the variance: intraspecific variability in community ecology. Trends in Ecology & Evolution 27, 244–252. https://doi.org/10/fz3g5k

Whingwiri, E.E., Kuo, J., Stern, W.R., 1981. The Vascular System in the Rachis of a Wheat Ear. Annals of Botany 48, 189–202. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a086113

Wolde, G.M., Schnurbusch, T., 2019. Inferring vascular architecture of the wheat spikelet based on resource allocation in the branched headt (bht-A1) near isogenic lines. Functional Plant Biol. 46, 1023. https://doi.org/10.1071/FP19041

Xie, Q., Mayes, S., Sparkes, D.L., 2015. Carpel size, grain filling, and morphology determine individual grain weight in wheat. Journal of Experimental Botany 66, 6715–6730. https://doi.org/10.1093/jxb/erv378

CHAPITRE 6: ANNEXES

Partie 1 : Contributions scientifiques

I. Publications dans des revues à comité de lecture

- Beral A, Rincent R, Le Gouis J, Girousse C, Allard V (2020) Wheat individual grain-size variance originates from crop development and from specific genetic determinism. PLoS ONE 15 (3): e0230689. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230689

Abstract

Wheat grain yield is usually decomposed in the yield components: number of spikes / m^2, number of grains / spike, number of grains / m^2 and thousand kernel weight (TKW). These are correlated one with another due to yield component compensation. Under optimal conditions, the number of grains per m^2 has been identified as the main determinant of yield. However, with increasing occurrences of post-flowering abiotic stress associated with climate change, TKW may become severely limiting and hence a target for breeding. TKW is usually studied at the plot scale as it represents the average mass of a grain. However, this view disregards the large intra-genotypic variance of individual grain mass and its effect on TKW. The aim of this study is to investigate the determinism of the variance of individual grain size. We measured yield components and individual grain size variances of two large genetic wheat panels grown in two environments. We also carried out a genome-wide association study using a dense SNPs array. We show that the variance of individual grain size partly originates from the pre-flowering components of grain yield; in particular it is driven by canopy structure via its negative correlation with the number of spikes per m^2. But the variance of final grain size also has a specific genetic basis. The genome-wide analysis revealed the existence of QTL with strong effects on the variance of individual grain size, independently from the other yield components. Finally, our results reveal some interesting drivers for manipulating individual grain size variance either through canopy structure or through specific chromosomal regions.

- A. Beral, C. Girousse, J. Le Gouis, V. Allard, Gustavo A. Slafer (Soumis à la revue Field Crops Research le 06/08/2020). Physiological bases of genotypic differences in average grain weight in wheat: scaling down from plot to individual grain in elite material.

Abstract

The yield gains achieved by wheat breeders in recent decades have mainly been through increases in grain number per m², not through increases in grain weight. Future yield gains through increases in grain weight are possible, but only if grain weight can escape the reciprocal 'trade-off' with grain number per m². The basis for this trade-off is thought to be related to population effects. Usually, grain number increases have been accompanied by increases in the proportions of small grains, originating from secondary tillers and/or from peripheral positions within the spike. Thus, this trade-off has hindered our ability to identify genotypic differences in grain weight that are of truly constitutive in nature, and so could be made the basis of grain weight increases that are not associated with reductions in grain number per m².

To address this question, we chose a strategy in which four, modern, well-adapted wheat cultivars were compared. These were chosen on the basis that they exhibited consistent and significant differences in average grain weight (AGW). We also scaled our analyses so as to explore this character at three hierarchical levels: the canopy, the spike and the single grain. Further, to increase the robustness of our results, we imposed a contrasting environmental condition in the form of two environmental conditions - a well-watered vs a water-deficit.

We show that after considering the effects of the covariables reflecting genotypic grain-set and/or resource availability strategies (i.e. grain number per spike, fruiting efficiency and spike dry weight at anthesis) the genotypic differences in AGW and in individual grain size still remained at all observational scales. Indeed, grain number played only a partial role in the differences observed in individual grain size between cultivars of high-AGW and low-AGW through differences of fruiting efficiency which explain, respectively, 33% and 50% of the variance under the two contrasting environmental conditions. We conclude that the genotypic differences in AGW between these four elite cultivars do not originate solely from the negative trade-off between grain number and grain size but also reflect constitutive differences in individual grain size, suggesting independent genetic determinism for that trait. These results offer new prospects for developing strategies of grain yield improvement through direct selection for high AGW.

Keywords: Wheat, grain number per m², average grain weight, trade-off, individual grain size

II. Communications

2.1. Présentations orales

2.1.1. Colloque INRA Graines, Angers, 21-23 mai 2019

Variance des tailles des grains de blé tendre : un déterminisme génétique propre ou lié aux stratégies de mise en place du rendement ?

Aurore Beral[1], Jacques Le Gouis [1], Christine Girousse [1], Vincent Allard [1]

[1]Université Clermont Auvergne, INRA, UMR 1095 GDEC (Génétique, Diversité et Écophysiologie des Céréales), Clermont-Ferrand, France.

aurore.beral@inra.fr

Le rendement final du blé est la résultante de composantes (nombre d'épis/m², nombre de grains/épi, nombre de grains/m², poids de mille grains (PMG)) corrélées entre elles du fait de compensations entre les différentes échelles du couvert. De nombreuses études identifient le nombre de grains par m² comme le déterminant principal du rendement. Cependant, avec le risque accru d'occurrence de stress abiotiques pendant la période post-floraison, le PMG peut devenir une source importante de variabilité génétique associée à la tolérance à ces stress. Le PMG, comme les autres composantes de rendement, est classiquement étudié via sa valeur moyenne à l'échelle de la parcelle. Or, il existe une variance importante des tailles finales des grains individuels. Notre démarche vise à comprendre si ces grains de taille potentielle différente à floraison répondent de manière différente à des stress post-floraisons et si cette réponse différentielle constitue une source de tolérance aux stress abiotiques.

Le travail présenté ici se focalise sur la caractérisation de la variance des tailles des grains individuels via l'étude de lots de grains provenant de 2 années et 2 panels génétiques différents sous conditions optimales et sous stress hydrique, soit quatre environnements ; les composantes de rendement moyennes et les masses des grains individuels estimées par leur surface (entre 500 et 1000 grains) sont mesurées.

Nos résultats montrent que la variabilité génétique est plus forte pour la variance que pour la moyenne des masses de grains.

Cette variance des tailles des grains est corrélée positivement avec le PMG et négativement avec le nombre d'épis par m² quel que soit l'environnement, montrant ainsi que cette variance est en partie le produit du développement pré-floraison. Néanmoins, les corrélations des variances des tailles des grains entre environnements sont élevées (R=0.68, R=0.62 en 1ère et 2ème année respectivement) ce qui laisse donc envisager un déterminisme génétique spécifique pour ce caractère.

Ce déterminisme a ensuite été étudié par génétique d'association en nous focalisant sur la présence, ou l'absence, de colocalisations avec des caractères liés aux composantes de rendement.

La variance des tailles des grains se définit donc en partie par des bases génétiques spécifiques et en partie en réponse aux différentes stratégies de mise en place des structures de rendement à floraison. De futures études permettront de déterminer si les variances des tailles des grains ont des effets différentiels sur la tolérance au stress abiotique post-floraison durant le remplissage des grains.

2.1.2. Phloème, Paris, 29-30 janvier 2020

Déterminisme génétique et écophysiologique de la variabilité des tailles de grains de blé tendre

A. BERAL, V. ALLARD, C. GIROUSSE, J. LE GOUIS

(1) INRA, UCA, UMR 1095 GDEC, 5 Chemin de Beaulieu, 63000 Clermont-Ferrand, France
aurore.beral@inra.fr, vincent.allard@inra.fr, christine.girousse@inra.fr, jacques.le-gouis@inra.fr

Déterminisme génétique et écophysiologique de la variabilité des tailles de grains de blé tendre

Avec le risque accru d'occurrence de stress abiotiques pendant la période post-floraison, le poids de mille grains (PMG) peut devenir une source importante de variabilité génétique associée à la tolérance à ces stress. Le PMG est classiquement étudié via sa valeur moyenne à l'échelle de la parcelle. Or, il existe une variance importante des masses finales des grains individuels. Notre démarche vise globalement à comprendre si la variabilité des masses individuelles du grain de blé peut constituer un trait potentiel de tolérance aux stress abiotiques post-floraison. Une première étape consiste à analyser la variance des masses de grains individuels et en identifier les différentes sources causales. Il a été montré que la variance des masses des grains individuels se définit en partie par des bases génétiques spécifiques et en partie par la mise en place d'une structure du couvert à floraison. L'objectif de la présente étude est de comprendre plus finement l'effet sur la variabilité des masses de grains individuels de la structure du couvert à l'échelle de l'épi, en prenant en compte la diversité des épis qui le composent. Pour cela, la relation entre une population d'épis caractérisés par leur nombre de grains par épi et la variabilité intra-épi des tailles des grains a été analysée au sein de quatre génotypes de même qu'entre génotypes. Il a été montré (i) qu'au niveau intra-génotypique, le nombre de grains par épi est corrélé positivement avec la variance des tailles de grains et (ii) que les différences de variance de tailles de grains entre génotypes ne sont donc pas dues à des différences de nombre de grains par épi.

Genetic and ecophysiological determinism of the variability of wheat grain size

With higher occurrence of abiotic stresses during the post-flowering period, thousand grain weight (TGW) may become an important source of genetic variability for post-flowering abiotic stresses tolerance. TGW is usually analysed through its average value at the plot scale. Yet, there is a large variance of the final masses of individual grains. The global aim of my PhD work is to understand if the variance of the final masses of individual grains can be a potential trait for post-flowering abiotic stresses. A first step was to analyse the variance of the final masses of individual grains and identify the causal sources. It has been shown that the variance of the final masses of individual grains is defined partly by specific genetic bases and partly driven by canopy structure at anthesis. The objective of the present study is to understand in depth the effect of canopy structure at the spike scale, by fully accounting for spike diversity, on the variance of the final masses of individual grains. To this aim the relationship between a population of spikes characterised by their number of grains per spike and the intra-spike variability of grain sizes was analysed within each of four genotypes as well as between genotypes. It has been shown (i) that at the intra-genotypic level, the number of grains per spike is positively correlated with the variance of grain sizes and (ii) that differences in grain size variance between genotypes are therefore not due to differences in the number of grains per spike.

INTRODUCTION

L'augmentation de la fréquence de stress abiotiques post-floraison implique de chercher des solutions pour conserver des niveaux de rendement élevés et améliorer leur stabilité. Ces solutions peuvent être agronomiques (stratégies d'évitement par exemple) ou impliquer la recherche de traits de tolérance aux stress post-floraison (e.g. Gouache *et al.*, 2012). Chez le blé tendre, la variabilité génétique associée aux effets des stress abiotiques post-floraison sur le rendement est classiquement étudiée via la réponse au stress de la composante moyenne « Poids de mille grains » ou PMG, occultant ainsi la forte variabilité observée des masses individuelles des grains entre épis et au sein d'un épi. Cette thèse s'inscrit dans l'objectif global développé dans l'article « La variance des structures au sein d'un couvert de blé comme source de stabilité du rendement sous contraintes » (Allard *et al.*,. 2020) qui est d'explorer le lien entre la variabilité des masses individuelles des grains et la stabilité du PMG en condition de stress abiotiques post-floraison.

Nous faisons donc l'hypothèse générale que **la variabilité des masses individuelles des grains de blé peut constituer un trait**

potentiel de tolérance aux stress abiotiques post-floraison. Pour y répondre, la première étape correspond à une analyse descriptive approfondie de la variabilité des masses des grains individuels et de ses sources causales. Il a été montré que la variabilité des masses de grains individuels à l'échelle de la parcelle est expliquée d'une part par un déterminisme génétique propre, et d'autre part par la structure du couvert à floraison (Beral *et al.*, soumis). Pour mieux comprendre le rôle de la structure du couvert il nous apparaît nécessaire de prendre en compte de manière explicite la diversité existant entre épis, et de quantifier, à l'échelle de chaque épi individuel, la variabilité de la masse des grains qu'ils portent.

Dans cet article, nous explorerons donc, à l'échelle de l'épi et pour quatre génotypes, la relation entre une population d'épis caractérisés par leur nombre de grains par épi et la variabilité intra-épi des tailles des grains au sein des différents génotypes et entre ces génotypes.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Conditions de culture

Cette expérimentation a été menée en 2017/2018 sur l'unité expérimentale de l'INRA de Clermont-Ferrand. Quatre génotypes élites de blé tendre ont été choisis de manière à avoir deux couples de génotypes de PMG respectivement élevés (Altigo et Solehio) et faibles (Cellule et SyMoisson). Ces quatre génotypes ont été cultivés en micro-parcelles expérimentales de 2 m² en conditions non limitantes en eau et en azote. Pour chacun des génotypes, quatre répétitions ont été disposées dans des blocs distincts, générant 4 micro-parcelles distinctes par génotype.

1.2. Caractères phénotypiques mesurés

Dans chacune des micro-parcelles et après floraison, le nombre d'épis par m² a été déterminé par comptage des épis d'un rang central (1.9 m). A maturité et pour chaque micro-parcelle, 100 épis ont été récoltés sur chaque micro-parcelle en prélevant 50 épis consécutifs sur deux rangs centraux. Chaque épi a été battu individuellement et un poids de mille grains (PMG) a été déterminé sur l'ensemble des grains pour chaque épi. La surface de chacun des grains de chaque épi a été de plus obtenu par analyse d'image à l'aide d'un analyseur optique (Optoagri2, Optomachines, France). La surface projetée des grains est considérée comme un bon proxy de la masse.

Les données obtenues par épi sont donc les suivantes : nombre de grains, PMG et tailles (surfaces) individuelles des grains. A partir des tailles individuelles des grains par épi, la variance de la taille des grains a été calculée par épi et exprimée en mm4.

2. RESULTATS

La figure 1 présente la relation entre le nombre de grains par épi et la variance intra-épi des tailles des grains pour chaque génotype. L'analyse de cette figure peut se faire à deux échelles ; d'abord en analysant le lien entre le nombre de grains et la variance des tailles des grains au sein de chaque génotype, puis en comparant les variances des tailles des grains entre génotypes.

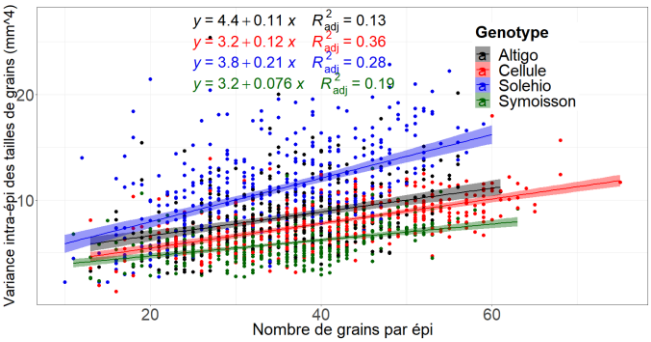


Figure 1 – Relation entre le nombre de grains d'un épi et la variance des tailles (surfaces) de grains (mm^4) qui le composent

2.1. Effet du nombre de grains par épi sur la variance intra-épi des grains à l'échelle intra-génotypique

Pour les quatre génotypes, une large gamme de variation de nombre de grains par épi est couverte, de 15 à 60 grains par épi environ. Cette gamme de variation du nombre de grains par épi illustre la diversité des épis au sein d'un couvert et souligne une possible stratification du couvert, des maîtres brins avec un grand nombre de grains par épi aux talles secondaires présentant un nombre de grains plus faible. La figure 1 montre qu'il existe pour chaque génotype une relation significative et positive entre ces épis présentant des nombres de grains différents et la variance intra-épi des tailles de grains qui les composent. Les épis avec un grand nombre de grains présentent donc une plus grande variabilité de tailles de grains.

2.2. Effet génotypique constitutif sur la variance intra-épi des grains

Si cette relation positive entre nombre de grains par épi et variance intra-épi des tailles de grains est visible au sein de chaque génotype, on observe de grandes différences de variance intra-épi entre génotypes. Par exemple, si on prend les épis présentant 40 grains, les génotypes présentent des variances intra-épi des tailles de grains très différentes : entre 16 mm^4 au maximum pour Solehio et 3 mm^4 au minimum pour SyMoisson. Les différences entre génotypes ne sont donc pas dues à des différences de nombre de grains par épi.

CONCLUSION

Nos résultats montrent donc qu'au niveau intra-génotypique, le nombre de grains par épi est corrélé positivement avec la variance des tailles de grains, suggérant que les plus gros épis présentent à la fois des plus gros grains mais également, puisque qu'il y a plus de grains, des grains constitutivement plus petits qui se développent aux positions distales (haut et bas de l'épi et au sein des épillets). En revanche, quand on compare la variance des tailles de grains entre génotypes, il est clair que le nombre de grains n'est pas le facteur explicatif des différences entre génotypes. Nous faisons ici l'hypothèse que ces différences entre génotypes correspondent à des stratégies différentes de mise en place du nombre de grains en fonction de leurs ressources disponibles à floraison. Analyser à l'échelle de l'épi, les relations entre une population d'épis et la variabilité intra-épi des tailles de grains peut permettre d'apporter une compréhension plus fine du rôle du couvert sur la variabilité des tailles individuelles des grains.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Allard V, Beral A, Girousse C, 2020.La variance des structures au sein d'un couvert de blé comme source de stabilité du rendement sous contraintes. Conférence phloeme 2020.
- Beral A, Le Gouis J, Girousse C, Allard V. Submitted. Wheat individual grain size variance originates from both crop development and specific genetic determinism. (Submitted to PLOS one)
- Gouache, D., Le Bris, X., Bogard, M., Deudon, O., Pagé, C., 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, 62–70. https://doi.org/10.1016/j.eja.2012.01.009

2.2. Communications écrites

2.2.1. Eucarpia cereal section, Clermont-Ferrand, 19-22 mars 2018, Poster

Is wheat individual grain characteristics variance a source of genetic variability for water stress tolerance?

Authors: Beral Aurore, Le Gouis Jacques, Girousse Christine, Allard Vincent

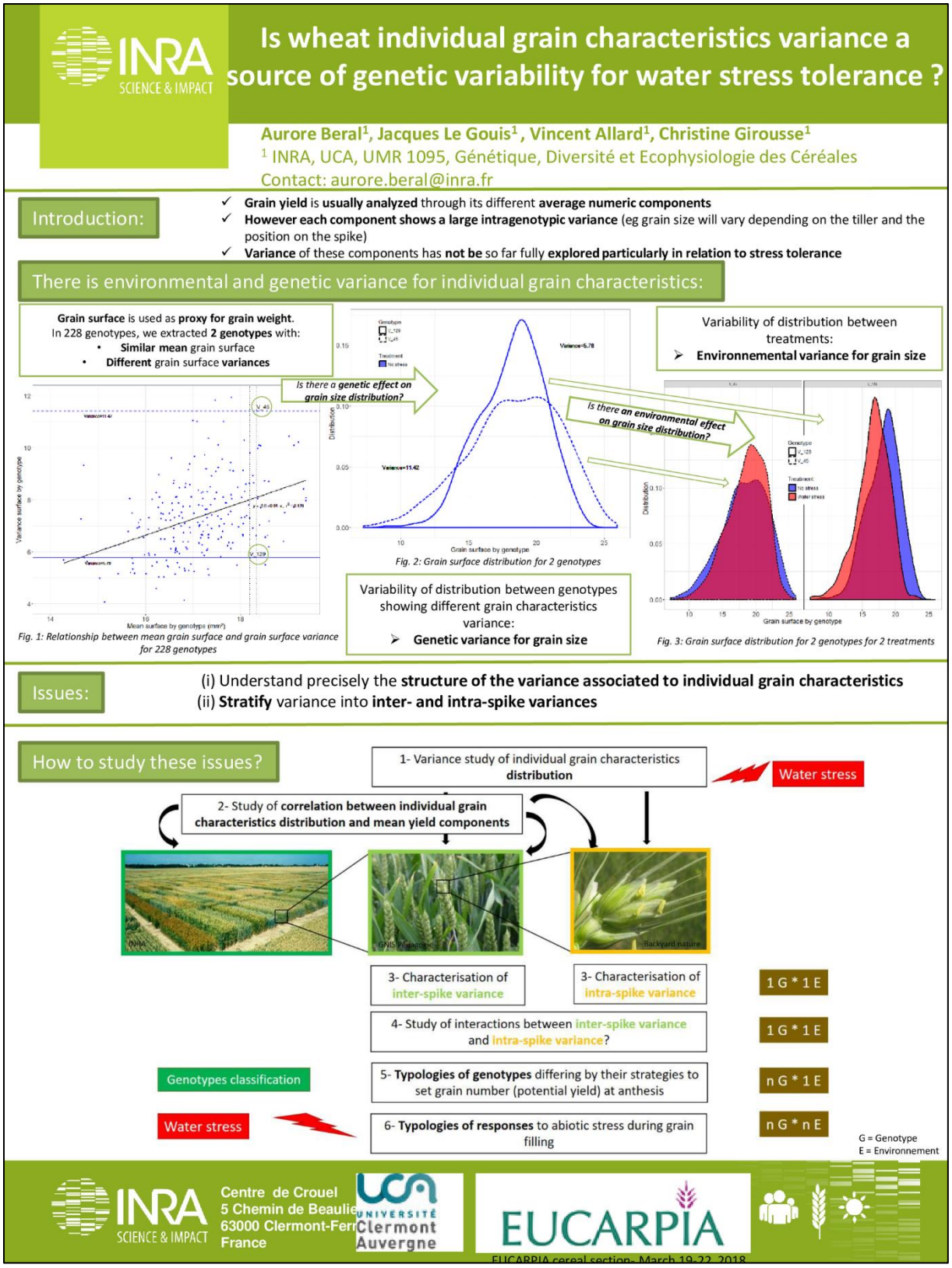
Key words: Variance, grain weight, water stress, wheat

Agronomic performance of wheat genotypes is usually evaluated by studying the mean value of pertinent agronomic variables. In particular, grain yield is analyzed through its different average numeric components (number of plants per m-2, number of spikes per plant, number of spikelets per spike, number of grains per spike, number of grains per m-2, individual grain weight). Nevertheless, the variance of these components has not be so far fully explored. Moreover, number of grains per m-2 is often considered as the most important component impacting grain yield. Yet it has been observed that the bigger the number of grains is, the more the number of small grains is, especially those in apical spikelets or in apical position within a spikelet. The variance associated to the grain size and individual grain composition (nitrogen concentration) is linked to both tillering and spike structure. Its impact on agronomic performance, especially in stressful environments (abiotic stress) is not much known.

The aim of this study is to analyze the genetic and ecophysiological determinism of wheat individual grain characteristics variability and evaluate its impacts on agronomic performance in order to quantify the actual genetic variance potential. To this aim, several issues have to be investigated: (i) understand precisely the structure of the variance associated to individual grain characteristics and (ii) understand causal processes of this variance, especially spatial structure of the spike and spikelets.

The present work is based on an field experiment where 228 genotypes were grown under optimal conditions or under a severe water stress. All yield components were recorded. Out of this panel, four genotypes were selected for in depth analysis of grain traits variance structure. For these genotypes, 10 spikes were randomly chosen in each plot and were individually dissected in order to record the exact position of each grain within the spike structure. Grains originating from 2 spikes among these 10 spikes, nitrogen concentrations per grain were also measured.

Our results show that (i) individual grain weight is strongly affected both by its position within the spike as well as by mean spike characteristics and (ii) variance components are under both genetic and environmental control. These results suggest that studying variable components of grain traits can help defining typologies of wheat genotypes differing by their strategies to set grain number (and thus potential yield) at anthesis. Further studies will be needed in order to test whether these strategies have differential effects on wheat tolerance to abiotic stresses during grain filling.


INRA
SCIENCE & IMPACT
Is wheat individual grain characteristics variance a source of genetic variability for water stress tolerance ?
Aurore Beral[1], Jacques Le Gouis[1], Vincent Allard[1], Christine Girousse[1]
[1] INRA, UCA, UMR 1095, Génétique, Diversité et Ecophysiologie des Céréales
Contact: aurore.beral@inra.fr
Introduction:
✓ Grain yield is usually analyzed through its different average numeric components
✓ However each component shows a large intragenotypic variance (eg grain size will vary depending on the tiller and the position on the spike)
✓ Variance of these components has not be so far fully explored particularly in relation to stress tolerance
There is environmental and genetic variance for individual grain characteristics:
Grain surface is used as proxy for grain weight.
In 228 genotypes, we extracted 2 genotypes with:
• Similar mean grain surface
• Different grain surface variances
Is there a genetic effect on grain size distribution?
Variability of distribution between treatments:
➢ Environnemental variance for grain size
Is there an environmental effect on grain size distribution?
Variability of distribution between genotypes showing different grain characteristics variance:
➢ Genetic variance for grain size
Fig. 1: Relationship between mean grain surface and grain surface variance for 228 genotypes
Fig. 2: Grain surface distribution for 2 genotypes
Fig. 3: Grain surface distribution for 2 genotypes for 2 treatments
Issues:
(i) Understand precisely the structure of the variance associated to individual grain characteristics
(ii) Stratify variance into inter- and intra-spike variances
How to study these issues?
1- Variance study of individual grain characteristics distribution
Water stress
2- Study of correlation between individual grain characteristics distribution and mean yield components
3- Characterisation of inter-spike variance
3- Characterisation of intra-spike variance
1 G * 1 E
4- Study of interactions between inter-spike variance and intra-spike variance?
1 G * 1 E
Genotypes classification
5- Typologies of genotypes differing by their strategies to set grain number (potential yield) at anthesis
n G * 1 E
Water stress
6- Typologies of responses to abiotic stress during grain filling
n G * n E
G = Genotype
E = Environnement
INRA SCIENCE & IMPACT
Centre de Crouel
5 Chemin de Beaulieu
63000 Clermont-Ferrand
France
UNIVERSITÉ Clermont Auvergne
EUCARPIA
EUCARPIA cereal section- March 19-22, 2018

2.2.2. Journées de l'Ecole Doctorale, Clermont-Ferrand, 23-24 mai 2019, Poster

Le rendement final du blé est la résultante de composantes (nombre d'épis/m², nombre de grains/épi, nombre de grains/m², poids de mille grains (PMG)) corrélées entre elles, dont le nombre de grains/m² identifié comme le déterminant principal du rendement. Cependant, le PMG peut devenir une source importante de variabilité génétique associée à la tolérance à des stress abiotiques post-floraison plus récurrents. Le PMG est classiquement étudié via sa valeur moyenne à l'échelle de la parcelle malgré une variance importante des tailles finales des grains individuels. Est-ce que ces grains de taille potentielle différente à floraison répondent de manière différente à des stress post-floraisons ? Cette réponse différentielle constitue-t-elle une source de tolérance aux stress abiotiques ? Je présente ici la caractérisation de la variance des tailles des grains individuels via l'étude de lots de grains provenant de quatre environnements différents ; les composantes de rendement moyennes et les tailles des grains individuels (entre 500 et 1000 grains) sont mesurées. Nos résultats montrent que la variabilité génétique est plus forte pour la variance que pour la moyenne des masses de grains (PMG). Cette variance des tailles des grains est corrélée positivement avec le PMG et négativement avec le nombre d'épis/m² pour tous les environnements, montrant que cette variance est en partie le produit du développement pré-floraison. Il existe également un déterminisme génétique propre à la variance de taille des grains étudié par génétique d'association.

Variance des tailles des grains de blé tendre : un déterminisme génétique propre ou lié aux stratégies de mise en place du rendement ?

Aurore Beral[1], Jacques Le Gouis[1], Vincent Allard[1], Christine Girousse[1]
[1] INRA, UCA, UMR 1095, Génétique, Diversité et Ecophysiologie des Céréales
Contact: aurore.beral@inra.fr

INTRODUCTION

Rendement = nombres d'épis par m² * nombres de grains par épi * masse moyenne des grains (PMG)

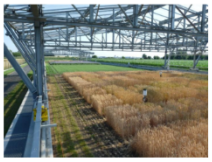
Développement pré-floraison — *Développement post-floraison*

Risques accrus de stress abiotiques post-floraisons

La variance du PMG, une source de variabilité génétique pour la tolérance aux stress abiotiques post-floraison ?

- PMG = masse finale moyenne des grains
- Or, il existe une **variance importante des masses finales des grains individuels**.
- ➢ Comment se caractérise cette variance de PMG?
- ➢ Est-elle liée aux composantes de rendement pré-floraison ou possède-t-elle un déterminisme génétique propre?

MATÉRIELS & MÉTHODES



Par micro-parcelle

4 Environnements:
- 2 Années * 2 Traitements
- 2016: 228 Génotypes
- 2017: 312 Génotypes

Données phénotypiques:
➢Composantes de rendement moyennes:
- Nombre d'épis par m² (NEM²)
- Nombre de grains par épi (NGE)
- Nombre de grains par m²
- PMG
- Rendement

➢Tailles (proxy masses) des grains individuels d'un échantillonnage de grains:
- Variance des tailles des grains individuels

Données génotypiques

ANALYSE DESCRIPTIVE PAR ENVIRONNEMENT

Corrélations phénotypiques entre les composantes de rendement et la variance des tailles des grains individuels

ANALYSE QTL (GWAS) PAR ENVIRONNEMENT

Principe:
Recherche des effets significatifs des allèles de chaque SNP sur la variance des tailles des grains individuels ou les composantes de rendement moyennes

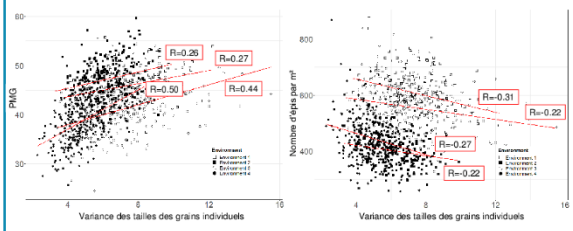
Recherche des QTL:
- Délimitations des QTL sur les chromosomes
- Colocalisations des QTL de la variance avec les QTL de composantes de rendement

RÉSULTATS

1 Il existe une variabilité génétique importante de la variance des tailles des grains individuels.

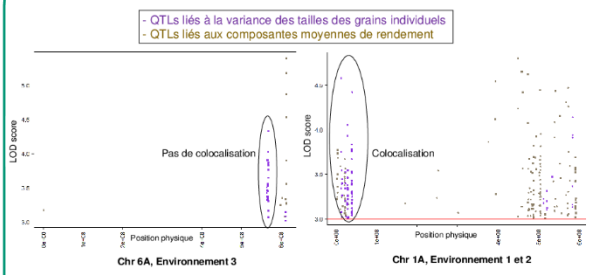
- Variabilité génotypique du PMG << Variabilité génotypique de la variance des tailles des grains individuels, quelque soit l'environnement
  ➡ Importante variabilité génétique non explorée

2 La variance des tailles des grains individuels est partiellement expliquée par certains composantes moyennes du rendement.



- La variance des tailles des grains individuels augmente avec la moyenne (PMG).
- Plus il y a d'épis par m², plus la variance des tailles des grains individuels est grande.
  ➡ La structure du couvert explique donc partiellement la variance des tailles des grains. La part non expliquée provient-elle d'un déterminisme génétique spécifique?

3 L'étude du déterminisme génétique révèle également des bases génétiques spécifiques à la variance des tailles des grains individuels.



71 QTLs liés à la variance des tailles des grains individuels
- 49 QTLs liés à la variance présents dans au moins 2 environnements
  - 44 QTLs liés à la variance colocalisants avec les composantes du rendement
  - 5 QTLs liés à la variance indépendants

CONCLUSIONS & PERSPECTIVES

- La variance des tailles des grains individuels est en partie le produit du développement pré-floraison.
- Il existe également un déterminisme génétique propre à la variance de tailles des grains individuels.
- ➢ La variance des tailles des grains individuels peut-elle donc être, en tant que source de variabilité génétique, un caractère intéressant pour la tolérance aux stress abiotiques post-floraison ?

INRA SCIENCE & IMPACT
Centre de Crouel
5 Chemin de Beaulieu
63000 Clermont-Ferrand
France

2.2.3. International Wheat Congress, Saskatoon, Canada, 21-26 juillet 2019, Poster

WHEAT INDIVIDUAL GRAIN SIZES VARIANCE: SPECIFIC GENETIC DETERMINISM OR INHERITED FROM YIELD COMPONENTS?

Aurore Beral[1], Jacques Le Gouis [1], Christine Girousse [1], Vincent Allard [1]

[1]Université Clermont Auvergne, INRA, UMR 1095 GDEC (Génétique, Diversité et Écophysiologie des Céréales), Clermont-Ferrand, France.

Wheat grain yield can be decomposed in yield components (number of spikes / m², number of grains / spike, number of grains / m², thousand grain weight (TGW)) correlated with each other due to the compensations that occur between the different scales. Many studies identified the number of grains per m² as the main determinant of yield. However, with higher occurrence of abiotic stresses during the post-flowering period, TGW may become an important source of genetic variability for post-flowering abiotic stresses tolerance. TGW is usually analysed, as the other yield components, through its average value at the plot scale. Yet, there is a large variance of the final sizes of individual grains. The aim of this study is to understand if grains with various potential size at anthesis react differently to post-flowering stresses and if this differential response is a source of abiotic stresses tolerance.

The work presented here focuses on the characterization of the variance of individual grain sizes through the study of grains bulks originating from 2 large genetic panels grown for 2 years under optimal conditions and under water stress, i.e. four environments. Average yield components and the individual grain masses estimated by their sizes (about 500 grains) were measured.

Our results show that the genetic variability is stronger for the variance than for the average of grain sizes.

This individual grain sizes variance was positively correlated with TGW and negatively with the number of spikes per m² for all environments, showing that this variance is in part the result of pre-flowering development. Nevertheless, the correlations of individual grain sizes variances between environments were high (R = 0.68, R = 0.62 in 1st and 2nd year respectively), which therefore suggests a specific genetic determinism for this trait.

This determinism was then studied by genome-wide association focusing on the presence, or absence, of colocalizations with traits related to yield components.

The variance of grain sizes is therefore defined partially by specific genetic determinism and partially in response to different strategies to set potential yield at anthesis. Future studies will determine whether grain sizes variances have differential effects on post-flowering abiotic stress tolerance during grain filling.

WHEAT INDIVIDUAL GRAIN SIZE VARIANCE: SPECIFIC GENETIC DETERMINISM OR DRIVEN BY YIELD COMPONENTS?

Aurore Beral[1], Jacques Le Gouis[1], Vincent Allard[1], Christine Girousse[1]
[1] INRA, UCA, UMR 1095, Génétique, Diversité et Ecophysiologie des Céréales (GDEC)
Contact: aurore.beral@inra.fr

INTRODUCTION

Grain yield = number of spikes per m² * number of grains per spike * thousand kernel weight (TKW)

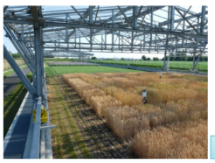
Pre-flowering development — *Post-flowering development*

Higher occurrence of post-flowering abiotic stresses

- TKW represents the mean of individual grain mass, and is usually studied at the scale plot.
- However there is a **large variance of the final sizes of individual grains** within a sample of grains.

Hypothesis: This variance may be an unexplored source of genetic variability for post-flowering abiotic stresses tolerance.
The first steps toward the validation of this hypothesis are:
1) To quantify the variance of grain size within a sample of grains and characterize its environmental and genetic variability
2) To analyse whether this variance is driven by mean yield components or presents a specific genetic determinism

MATERIALS & METHODS



4 Environments:
- 2 Years * 2 Treatments
- 2016: 228 Genotypes
- 2017: 312 Genotypes

By micro-plot

Phenotypic data:
- **Mean yield components:**
  - Number of spikes per m²
  - Number of grains per spike
  - Number of grains per m²
  - TKW
  - Grain yield
- **Sizes (proxy of masses) of individual grains from grains samples:**
  - Variance of individual grain size characterized by their areas

Genotypic data

DESCRIPTIVE ANALYSIS BY ENVIRONMENT

Phenotypic correlations between mean yield components and the variance of individual grain size

GWAS BY ENVIRONMENT

Identification of QTL:
1) Define QTL boundaries on each chromosome
2) Colocalisations of QTL of variance with SNP associated with either variance in another environnement or with mean yield components

RESULTS

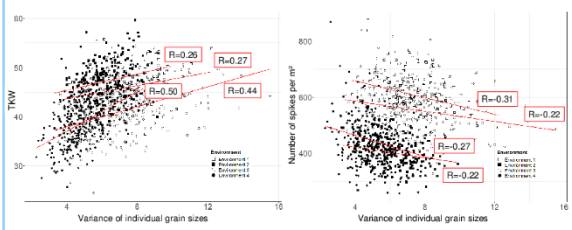
1 There is a high genetic variability for the variance of individual grain size.

Coefficient of variation (CV)	Environment 1	Environment 2	Environment 3	Environment 4
TKW	5.45%	5.76%	8.14%	8.88%
Variance of individual grain size	20.24%	20.08%	29.44%	23.71%

- CV for the variance of individual grain size is globally three times greater than CV for TKW.
- There is an environmental variability for the variance of individual grain size.

➡ Identification of an important but unexplored genetic and environmental variability

2 The variance of individual grain size is partly driven by some mean yield components.



- The variance of individual grain size increases with the mean (TKW).
- The variance of individual grain size increases with the number of spikes per m².

➡ The canopy structure explains a part of the variance of individual grain size. Does the unexplained part of the variance originate from a specific genetic determinism?

3 The study of genetic determinism shows specific genetic basis for variance of individual grain size.

Overall the 4 environments, 64 QTL for variance of individual grain size

⇩

45 QTL for variance of individual grain size which colocalised with SNP associated with variance in another environment

⇩ 33 QTL for variance which colocalised with yield components

⇩ 22 QTL for variance which did not colocalise with yield components

Average explained variance by significant SNP: 6.16% +/- 2.68%

Average explained variance by significant SNP: 4.93% +/- 1.98%

- 34,4% of the 64 QTL for the variance of individual grain size are specific to this trait.
- The variances explained by the two types of QTL (with or without colocalisation) are in the same order of magnitude.

➡ There is a specific genetic determinism.

CONCLUSIONS & PERSPECTIVES

- As expected, the variance of individual grain size is partly the product of the pre-flowering development.
- Nevertheless there is a specific genetic determinism for the variance of individual grain size.

➡ **Variance as a new trait of interest ? →** Next steps:
- Quantify the two sources of grain size variance: between spikes and within spikes
- Analyse if individual grains have a differential response to post-flowering abiotic stresses depending on spike characteristics or position within spike

INRA SCIENCE & IMPACT
Centre de Crouel
5 Chemin de Beaulieu
63000 Clermont-Ferrand
France

UCA Université Clermont Auvergne
CAP 20-25 I-SITE CLERMONT Clermont Auvergne Project
IWC 1ST INTERNATIONAL WHEAT CONGRESS
July 21-26, 2019, Saskatoon, Canada

Partie 2 : Formations

L'école doctorale SVSAE (Sciences de la vie, santé, agronomie et environnement) de l'Université Clermont Auvergne impose la validation de 8 modules doctoraux :

- 4 modules OSP (modules d'ouverture socio-professionnelle) à choisir parmi les modules socio-professionnels proposés par le Collège des Ecoles Doctorales d'Auvergne + formation « Ethique » obligatoire
- 4 modules « biologie »

Toutes ces formations ont été suivies et validées :

- Modules OSP :
  - ✓ Module «Ethique et intégrité scientifique», UCA, 5 février 2018 et 8 juin 2018
  - ✓ Module «Communication», UCA, 15-16 janvier 2018
  - ✓ Module «Gestion de projet», UCA, 21-22 juin 2018
  - ✓ Module «Maîtriser l'information stratégique: un enjeu majeur pour la recherche», UCA, 3-4 mai 2018
  - ✓ Module de vulgarisation scientifique « Ma thèse en 180 secondes » (Décembre 2018-Février 2019) + participation à la finale régionale (mars 2019), UCA
- Modules « biologie » :
  - ✓ Formation «Introduction à la modélisation structure-fonction des plantes», Montpellier, 12-16 mars 2018
  - ✓ Formation statistiques « Analysis of experiments using ASReml », Toulouse, 26-27 septembre 2018
  - ✓ Formation INRA Papirus « Publier et Communiquer en science », 17 septembre-9 novembre 2018
  - ✓ Ecole internationale de recherche d'Agreenium(EIR-A):
    - Séminaire à VetAgroSup, Campus de Marcy l'Etoile, 26-30 mars 2018
    - Séminaire à AgroSup Dijon, 1-3 avril 2019
    - Séjour de 3 mois dans le laboratoire ICREA, Crop and Forest Sciences, Université de Lleida (UDL), Espagne, Octobre-Décembre 2019