

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC EN OUTAOUAIS

ÉTUDE DES EFFETS COMBINÉS ET INDIVIDUELS DES STRESS THERMIQUE ET  
HYDRIQUE SUR LE MÉTABOLISME ET LA PHYSIOLOGIE DES DIFFÉRENTS  
CÉPAGES (VITIS SP.)

MÉMOIRE

PRÉSENTÉ

COMME EXIGENCE PARTIELLE

MAÎTRISE EN BIOLOGIE

PAR

KARINE DELORME

20 NOVEMBRE 2024

## REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier toutes les personnes qui ont contribué au succès de ce projet de recherche et qui m'ont aidé lors de la rédaction de ce mémoire.

Je voudrais dans un premier temps remercier, ma directrice Prof. Karine Pedneault et mon co-directeur Prof. Frédéric Pitre pour leur patience, leur disponibilité et surtout leurs judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter mon esprit scientifique. Merci de m'avoir accueillie comme étudiante dans votre groupe de recherche, les deux dernières années m'ont permis d'évoluer autant sur les plans académiques que personnels. Merci de m'avoir accordé votre confiance et une indépendance dans l'exécution de mon expérience. Merci pour votre temps, votre partage de connaissances et votre support tout au long de ce projet de recherche.

Je tiens à témoigner toute ma reconnaissance aux personnes et institutions suivantes, pour leur aide dans la réalisation de ce mémoire :

Université du Québec en Outaouais et son personnel, pour son accueil et son soutien.

L'Université de Montréal pour son soutien dans la réalisation de mon expérience active au phytozone.

Dr. Pamela Nicolle qui m'a beaucoup aidé pour l'analyse de mes données métabolomiques et la rédaction de l'article scientifique. Elle a été d'un grand soutien dans l'élaboration de ce mémoire, merci pour ta grande disponibilité à tout moment et d'avoir répondu à mes nombreuses questions.

Finalement, je remercie mes parents Marc et Manon, ils m'ont supporté dans ce projet du début à la fin, dans les hauts comme dans les bas. Je remercie mon copain Jocelyn pour ses encouragements et son support inconditionnel.

À toutes ces personnes, je présente mes remerciements, mon respect et ma gratitude.

## AVANT-PROPOS

Ce mémoire rentre dans le cadre de l'obtention du diplôme de Maîtrise en biologie de l'Université du Québec en Outaouais. Par ce mémoire, j'étudierai l'effet combiné et individuel d'un stress thermique et d'un stress hydrique sur la métabolomique des feuilles de *Vitis* sp. L'idée de ce mémoire de recherche est venue du constat que les changements climatiques auront des répercussions sur les plantes, incluant la vigne, car elles dépendent fortement du climat.

En effet, les changements climatiques se manifestent par une augmentation globale des températures, souvent accompagnée d'une plus grande fréquence des épisodes de sécheresses estivales ou de chaleur intense, lesquelles résultent en des stress hydriques plus fréquents et/ou plus importants.

Ce mémoire comprend deux chapitres, précédés d'une introduction et se termine sur une conclusion générale. Le premier chapitre présente une revue de la littérature pertinente en lien avec le sujet abordé dans le présent mémoire, suivi des hypothèses et objectifs de l'étude. Le chapitre deux présente l'expérience réalisée sous forme d'article scientifique rédigée en anglais, dans le but d'être soumise pour publication ultérieurement.

## TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS .....	ii
AVANT-PROPOS.....	iii
LISTE DES FIGURES.....	vii
LISTE DES TABLEAUX .....	ix
RÉSUMÉ .....	x
ABSTRACT .....	xi
INTRODUCTION .....	1
CHAPITRE 1 Revue de littérature.....	4
1.1 Importance du climat sur les cultures.....	4
1.1.1 Température et croissance des plantes.....	4
1.1.1.1 Degré-jour.....	4
1.1.2 Type de physiologie de la photosynthèse.....	5
1.2 Vigne .....	5
1.2.1 Cycle de vie et phénologie.....	6
1.3 Impact des changements climatiques au Canada et du réchauffement sur la vigne .....	7
1.3.1 Prévisions en termes de réchauffement climatique au Canada .....	7
1.3.1.1 Réchauffement climatique pour la Montérégie .....	8
1.3.2 Réponses sur la phénologie .....	9
1.3.3 Photosynthèse et morphologie .....	10
1.3.3.1 Métabolisme.....	10
1.4 Réponses physiologiques et métaboliques au régime hydrique .....	12
1.4.1 Physiologie.....	12
1.4.2 Métabolisme .....	13
1.5 Étude des stress abiotiques chez la vigne.....	15
1.6 Hypothèse et objectifs .....	15
1.6.1 Hypothèses .....	15
1.6.2 Objectifs.....	16
2 Changements physiologiques et métaboliques associés à l'effet combiné et individuel d'un stress hydrique et d'un stress thermique sur les feuilles de <i>Vitis</i> sp. Cabernet franc, Marquette, Riesling et Vidal.	17
2.1 Avant-propos.....	17

2.2	Résumé.....	18
2.3	Abstract.....	19
2.4	Introduction .....	20
2.5	Matériel et Méthode.....	23
2.5.1	Matériel végétal et dispositif expérimental.....	23
2.5.2	Potentiel hydrique foliaire de tige ( $\Psi_{MD}$ ) et mesure des échanges gazeux.....	25
2.5.3	Profilage des métabolites .....	26
2.5.3.1	Prélèvement et extraction des feuilles .....	26
2.5.3.2	Analyses métabolomiques non ciblées.....	27
2.5.3.2.1	Analyses en mode positif.....	27
2.5.3.2.2	Analyses en mode négatif.....	28
2.5.3.3	Traitement des données chromatographiques .....	28
2.5.4	Analyses statistiques.....	29
2.6	Résultats.....	30
2.6.1	Potentiel hydrique foliaire de tige .....	30
2.6.2	Physiologie.....	31
2.6.3	Produits métaboliques.....	39
2.6.3.1	Acides organiques.....	39
2.6.3.2	Acides aminés .....	39
2.6.3.3	Composés phénoliques.....	40
2.6.3.4	Sucres.....	41
2.7	Discussion.....	46
2.7.1	Impact des stress sur la physiologie .....	46
2.7.2	Impacts des stress sur le métabolisme .....	47
2.7.2.1	Stress hydrique .....	47
2.7.2.2	Impacts des stress thermique et combinés sur le métabolisme .....	48
	CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES .....	51
	ANNEXE A Température et luminosité journalières moyennes dans le tunnel et le phytozone durant l'expérience active.....	52
	ANNEXE B Effets des traitements sur la température ( $^{\circ}C$ ), la longueur (cm), la transpiration ( $mol \cdot m^{-2} s^{-1}$ ) et la conductance stomatique ( $mol \cdot m^{-2} s^{-1}$ ) des feuilles de <i>Vitis</i> sp. aux temps d'échantillonnage -1 et 21 jours.....	53

ANNEXE C Liste des composés inclus dans la méthode instrumentale LC-MS/MS (liste des inclusions) ....	56
ANNEXE D .....	58
Réponses métaboliques au stress hydrique et thermique, seul ou combiné, dans les feuilles de Cabernet franc. Les valeurs correspondent aux logarithmiques en base 2 transformés des facteurs multiplicatifs ( $\log_2$ <i>fold change</i> ; stress hydrique/contrôle ; stress thermique/contrôle (ST/CTRL); stress combinés/contrôle (ST X SH/CTRL); stress hydrique/stress thermique (SH/ST); stress combinés/stress thermique (ST X SH/ST)) 21 jours après le début de l'expérience active (T+21) .....	58
ANNEXE E.....	61
Réponses métaboliques au stress hydrique et thermique, seul ou combinés, dans les feuilles de Marquette. Les valeurs correspondent aux logarithmique en base 2 transformé des facteurs multiplicatifs ( $\log_2$ <i>fold change</i> ; stress hydrique/contrôle (SH/CTRL); stress thermique/contrôle (ST/CTRL); stress combinés/contrôle (ST X SH/CTRL); stress hydrique/stress thermique (SH/ST) ; stress combinés/stress thermique (ST X SH/ST)) 21 jours après le début de l'expérience active (T+21) .....	61
ANNEXE F.....	63
Réponses métaboliques au stress hydrique et thermique, seul ou combiné, dans les feuilles de Riesling. Les valeurs correspondent aux logarithmiques en base 2 transformés des facteurs multiplicatifs ( $\log_2$ <i>fold change</i> ; stress hydrique/contrôle (SH/CTRL); stress thermique/contrôle (ST/CTRL); stress combinés/contrôle (ST X SH/CTRL); stress hydrique/stress thermique (SH/ST) ; stress combinés/stress thermique (ST X SH/ST)) 21 jours après le début de l'expérience active (T+21) .....	63
ANNEXE G .....	65
Réponses métaboliques au stress hydrique et thermique, seul ou combiné, dans les feuilles de Vidal. Les valeurs correspondent aux logarithmique en base 2 transformé des facteurs multiplicatifs ( $\log_2$ <i>fold change</i> ; stress hydrique/contrôle (SH/CTRL); stress thermique/contrôle (ST/CTRL); stress combinés/contrôle (ST X SH/CTRL); stress hydrique/stress thermique (SH/ST); stress combinés/stress thermique (ST X SH/ST)) 21 jours après le début de l'expérience active (T+21) .....	65
RÉFÉRENCES .....	67
Savoi, S., C J Wong, D., Arapitsas, P., Miculan, M., Bucchetti, B., Peterlunger, E., Fait, A. & D Castellarin, S. (2016). Transcriptome and metabolite profiling reveals that prolonged drought modulates the phenylpropanoid and terpenoid pathway in white grapes ( <i>Vitis vinifera</i> L.). BMC Plant Biology, 16(67). <a href="https://doi.org/10.1186/s12870-016-0760-1">https://doi.org/10.1186/s12870-016-0760-1</a> .....	71

## LISTE DES FIGURES

Figure 1.1 Durée entre la mi-véraison et la récolte pour une parcelle de Cabernet franc dans l'appellation Saint-Émilion entre 1988 et 2014 (reproduit de Van Leeuwen <i>et al.</i> , 2016). .....	9
Figure 2.1 Design expérimental et dates des mesures effectuées sur les plants de vigne. Les plants « ST » et « ST x SH » ont reçu une quantité minimale d'eau 2 semaines avant le début des traitements, de façon à induire un stress hydrique progressif. R, Riesling ; M, Marquette ; CF, Cabernet franc ; V, Vidal ; ST, stress thermique ; SH, stress hydrique ; ST x SH, stress combinés ; CT, contrôle.....	25
Figure 2.2 Conductance stomatique ( $\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) des cépages Cabernet franc, Marquette, Riesling et Vidal soumis à un stress thermique (ST), hydrique (SH) ou combiné (ST X SH) pendant 21 jours et comparés à un contrôle (CTRL). Les valeurs représentent la moyennes de 8 réplicats biologiques (plants) $\pm$ l'écart-type. Les valeurs avec des lettres différentes indiquent une différence significative entre les traitements pour un même cépage (Test de Tukey à $P \leq 0,05$ ). .....	32
Figure 2.3 Transpiration ( $\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) des cépages Cabernet franc, Marquette, Riesling et Vidal soumis à un stress thermique (ST), hydrique (SH) ou combiné (ST X SH) pendant 21 jours et comparés à un contrôle (CTRL). Les valeurs représentent la moyennes de 8 réplicats biologiques (plants) $\pm$ l'écart-type. Les valeurs avec des lettres différentes indiquent une différence significative entre les traitements pour un même cépage (Test de Tukey à $P \leq 0,05$ ). .....	33
Figure 2.4 Conductance stomatique ( $\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) et transpiration ( $\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) du cépage Cabernet franc soumis à un stress thermique (ST), hydrique (SH) ou combiné (ST X SH) pendant 21 jours et comparé à un contrôle (CTRL). Les valeurs représentent la moyenne de 8 réplicats biologiques (plants) $\pm$ l'écart-type. Les valeurs avec des lettres différentes indiquent une différence significative (Test de Tukey à $P \leq 0,05$ ). .....	35
Figure 2.5 Conductance stomatique ( $\text{mmol}^{-1}$ ) et transpiration ( $\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) du cépage Marquette soumis à un stress thermique (ST), hydrique (SH) ou combiné (ST X SH) pendant 21 jours et comparé à un contrôle (CTRL). Les valeurs représentent la moyenne de 8 réplicats biologiques (plants) $\pm$ l'écart-type. Les valeurs avec des lettres différentes indiquent une différence significative (Test de Tukey à $P \leq 0,05$ ). .....	36

Figure 2.6 Conductance stomatique ( $\text{mmol}^{-1}$ ) et transpiration ( $\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) du cépage Riesling soumis à un stress thermique (ST), hydrique (SH) ou combiné (ST X SH) pendant 21 jours et comparé à un contrôle (CTRL). Les valeurs représentent la moyenne de 8 réplicats biologiques (plants)  $\pm$  l'écart-type. Les valeurs avec des lettres différentes indiquent une différence significative (Test de Tukey à  $P \leq 0,05$ ).  
..... 37

Figure 2.7 Conductance stomatique ( $\text{mmol}^{-1}$ ) et transpiration ( $\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) du cépage Vidal soumis à un stress thermique (ST), hydrique (SH) ou combiné (ST X SH) pendant 21 jours et comparé à un contrôle (CTRL). Les valeurs représentent la moyenne de 8 réplicats biologiques (plants)  $\pm$  l'écart-type. Les valeurs avec des lettres différentes indiquent une différence significative (Test de Tukey à  $P \leq 0,05$ ).  
..... 38

Figure 2.8 Effet des traitements, i.e. stress hydrique vs contrôle, stress thermique vs contrôle, stress combinés vs contrôle, stress hydrique vs stress thermique, sur le profil métabolique des feuilles (niveau de confiance 2) de Cabernet franc 21 jours suivant le début des traitements. .... 42

Figure 2.9 Effets des traitements, i.e. stress hydrique vs contrôle, stress thermique vs contrôle, stress combinés vs contrôle, stress hydrique vs stress thermique, sur le profil métabolique des feuilles (niveau de confiance 2) de Marquette 21 jours suivants le début des traitements. .... 43

Figure 2.10 Effets des traitements, i.e. stress hydrique vs contrôle, stress thermique vs contrôle, stress combinés vs contrôle, stress hydrique vs stress thermique, sur le profil métabolique des feuilles (niveau de confiance 2) de Riesling 21 jours suivant le début des traitements. .... 44

Figure 2.11 Effets des traitements, i.e. stress hydrique vs contrôle, stress thermique vs contrôle, stress combinés vs contrôle, stress hydrique vs stress thermique, sur le profil métabolique des feuilles (niveau de confiance 2) de Vidal 21 jours suivant le début des traitements. .... 45

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.0.1 Degré-jour de croissance réelle (en pourcentage) des provinces canadiennes de la Colombie-Britannique, de l'Ontario et du Québec selon la moyenne des degrés-jour de croissance réelle pour la période 2010-2039 en se basant sur la celle de 1971-2000 (Lasserre & Dorval, 2020). .....	8
Tableau 1.2 Normales climatiques de la Montérégie au Québec pour la période 1981-2010 pour les mois de juin, juillet et août (MELCC, 2022). .....	8
Tableau 2.1. Niveaux de déficits hydriques de la vigne mesurés par le potentiel hydrique des feuilles à la mi-journée (Smith et Prichard, 2002). .....	22
Tableau 2.2 Critères d'évaluation fournis par Metabolomics Society (Blaženovic <i>et al.</i> , 2018) et leur application dans cette étude. ....	29
Tableau 2.3 Potentiel hydrique foliaire de tige ( $\Psi_{MD}$ , bars) des cépages Cabernet franc, Marquette, Riesling et Vidal soumis à un stress thermique (ST), hydrique (SH) ou combiné (ST X SH) et comparés à un contrôle (CTRL) pendant 21 jours. Les valeurs représentent la moyennes de 2 réplicats biologiques (plants) $\pm$ l'écart-type. ....	30

## RÉSUMÉ

Les changements globaux provoquent des répercussions majeures sur la viticulture mondiale qui dépend fortement des conditions climatiques. Ils se manifestent par une augmentation globale des températures, souvent accompagné d'une plus grande fréquence des épisodes de sécheresses estivales ou de chaleur intense, lesquelles résultent en des stress hydriques plus fréquents et/ou plus importants. Une conséquence non négligeable de l'augmentation des températures est l'avancée de la phénologie de la vigne. À ce jour, ces modifications peuvent s'avérer favorables à la qualité du vin dans certaines régions viticoles. Néanmoins, l'amplification des stress hydriques et des vagues de chaleur peut limiter les effets potentiellement bénéfiques d'une hausse des températures et entraîner des conséquences négatives, surtout lorsque ces stress sont combinés, un aspect qui a été peu étudié, jusqu'ici, chez les plantes horticoles. La réponse des plantes face à différentes conditions est souvent une altération du métabolisme primaire et secondaire. Les métabolites primaires sont avant tout liés à la croissance de la plante tandis que les métabolites secondaires ont des fonctions de protection contre les stress biotiques et abiotiques. La température affecte l'intensité de la photosynthèse et donc la croissance. Cependant, à plus forte intensité et en présence d'autres stress (ex. : stress hydrique), elle peut limiter la croissance et impacter l'utilisation du carbone vers la production de métabolites secondaires (par exemple, molécules antioxydantes telles que les polyphénols). Dans ce sens, l'objectif de ce projet de recherche était de déterminer les effets d'un stress thermique et d'un stress hydrique, seuls ou combinés, sur le métabolisme des feuilles de quatre cépages de *Vitis* cultivés au Canada : Cabernet franc, Riesling, Marquette et Vidal. Un dispositif expérimental factoriel comprenant huit blocs aléatoires a été utilisé. Les feuilles ont été échantillonnées une journée avant l'imposition des stress abiotiques, puis après 1, 7, 14 et 21. Une analyse métabolomique des feuilles a été ensuite réalisée à l'aide du logiciel Compound Discoverer afin de comparer les traitements et leurs interactions. Les données ont été analysées en  $\log_2$  *fold change*. Côté métabolomique, les résultats ont démontrés que les cépages européens, Cabernet franc et Riesling, ont été plus affectés par le stress thermique seul ou combinés au stress hydrique. De manière générale, le stress ayant le plus affecté les plantes est le stress thermique (ST). Les résultats de ce projet pourront être utilisés par les vigneron pour adapter leurs pratiques culturales au réchauffement climatique, tout cela avec l'objectif de maintenir une production de qualité.

## ABSTRACT

Global changes are having major impacts on global viticulture, which is highly dependent on climatic conditions. These impacts manifest as a global increase in temperatures, often accompanied by a greater frequency of summer droughts or intense heatwaves, resulting in more frequent and/or severe water stress. A significant consequence of rising temperatures is the advancement of vine phenology. To date, these changes may prove beneficial for wine quality in some wine-growing regions. However, the intensification of water stress and heatwaves may limit the potentially beneficial effects of temperature increases and lead to negative consequences, especially when these stresses are combined, an aspect that has been little studied so far in horticultural plants. The plant's response to different conditions is often a disruption of primary and secondary metabolism. Primary metabolites are primarily related to plant growth, while secondary metabolites serve protective functions against biotic and abiotic stresses. Temperature affects the intensity of photosynthesis and, therefore, growth. However, at higher intensities and in the presence of other stresses (e.g., water stress), it can limit growth and impact the use of carbon toward the production of secondary metabolites (e.g., antioxidant molecules such as polyphenols). In this context, the objective of this research project was to determine the effects of thermal stress and water stress, alone or combined, on the leaf metabolism of four *Vitis* grapevine varieties cultivated in Canada: Cabernet franc, Riesling, Marquette, and Vidal. An experimental factorial design with eight random blocks was used. Leaves were sampled one day before the imposition of abiotic stresses, and then after 1, 7, 14, and 21 days. A metabolomic analysis of the leaves was then performed using Compound Discoverer software to compare the treatments and their interactions. The data were analyzed using log<sub>2</sub> fold change. From a metabolomic perspective, the results showed that the European varieties, Cabernet franc and Riesling, were more affected by thermal stress alone or combined with water stress. In general, the stress that most affected the plants was thermal stress. The results of this project could be used by winemakers to adapt their cultural practices to climate change, with the aim of maintaining quality production.

## INTRODUCTION

La communauté scientifique est unanime sur le fait que l'augmentation des teneurs en CO<sub>2</sub> atmosphérique mène à un accroissement de l'effet de serre et, par conséquent, à une augmentation de l'énergie solaire retenue à la surface du globe (Bush et Lemmen, 2019). Ce surplus d'énergie se traduit par un réchauffement de l'air, modifiant le climat au niveau mondial, mais avec de fortes variations régionales à l'échelle du globe (Van Leeuwen et Darriet, 2018). Les effets observés du changement climatique à travers la planète sont bien décrits par les rapports du GIEC (Groupement Intergouvernemental pour l'Étude du Climat). Le climat du Canada s'est réchauffé et continuera de se réchauffer encore à l'avenir sous l'effet des émissions anthropiques. Selon Environnement et Changements Climatiques Canada, un réchauffement de 1,5 °C est attendu dans un scénario de faibles émissions (« Representative Concentration Pathway 4.5 » ou RCP4.5), en accord avec l'objectif de température mondiale de l'Accord de Paris, pour la période 2031 à 2050 au Canada (Environnement Canada, 2016). Le scénario d'émissions élevées (RCP8.5), dans lequel peu de réductions d'émissions seraient réalisées, présente une augmentation de la température moyenne annuelle au Canada de 6 °C d'ici la fin du XXI<sup>e</sup> siècle. Les effets de ce réchauffement impliquent une fréquence accrue d'extrêmes chauds et intenses, ainsi que d'extrêmes froids moins fréquents, mais intenses.

En agriculture, la saison de croissance débute lorsqu'il y a six jours consécutifs avec une température moyenne quotidienne d'au moins 5 °C au printemps ou à l'été et prend fin lorsque cette condition n'est plus satisfaite à l'automne (Gladstones, 2007). Avec les changements climatiques, la saison de croissance commence plus tôt et se termine plus tard, correspondant à une augmentation d'environ 15 jours annuellement entre 1948 et 2016. Une saison de croissance plus longue augmente le nombre de degrés-jour de croissance.

Malgré les fortes contraintes du climat froid continental sur une large partie du territoire, la viticulture a connu un développement significatif dans plusieurs régions du Canada (Pérard et Wolikow, 2020). Plusieurs vignobles ont ainsi connu un essor important, notamment en Colombie-Britannique, en Ontario, au Québec et partiellement en Nouvelle-Écosse. Les viticulteurs ont su s'adapter aux contraintes climatiques locales que présente le Canada. La température est un facteur

central à tous les niveaux en viticulture : elle contrôle en grande partie la phénologie de la vigne, c'est-à-dire toutes les étapes de développement physiologique et affecte le développement des fruits ainsi que leur composition chimique (Gladstones, 2007). La lumière, couplée à la température, joue également un rôle important en régissant la photosynthèse, la production de biomasse ainsi que le rendement potentiel en fruits (Gladstones, 2007).

Il a été démontré que des épisodes de chaleur affectent les performances de la vigne sur plusieurs aspects, notamment sur la maturation, le rendement et les échanges gazeux (Greer & Weedon, 2013). Une forte demande évaporative (air chaud et sec) combinée à un dessèchement du sol, contribue à déshydrater les tissus de la plante (Simonneau *et al.*, 2014). Cette déshydratation peut atteindre des niveaux néfastes pour la production et la qualité des raisins produits, car elle affecte la gestion des sucres au sein de la plante, ayant des effets sur la mobilisation, le stockage et la répartition des sucres. Avec les changements climatiques, ce phénomène semble s'accroître. Au cours des quarante dernières années, on a observé une maturation accrue des fruits (baies plus sucrées et moins acides) dans de nombreuses régions viticoles d'Europe (Neethling *et al.*, 2015). Ces données de maturité, collectées depuis la seconde moitié du XXe siècle dans des régions sous appellation contrôlée où la viticulture est encadrée par des cahiers de charges strictes, ont d'ailleurs contribué à démontrer un impact concret des changements climatiques (Duchêne & Scheinder, 2005).

Le rôle de la température dans le développement de la plante est néanmoins modulé de nombreux facteurs tels que les températures atteintes (à la hausse et à la baisse), la durée des épisodes de chaleurs ou de froids et le moment où ils surviennent, ainsi que la brutalité avec laquelle ils surviennent (par exemple, les changements brusques de température peuvent être plus dommageables que les changements qui surviennent avec une période d'acclimatation). Par exemple, par temps sec, une température élevée contribue au dessèchement du sol pouvant résulter en un stress hydrique sur la vigne. On assiste également depuis quelques années à une fréquence accrue de vagues de chaleurs intenses, lesquelles affectent significativement la physiologie de la vigne.

Les effets d'une température élevée sur la vigne, qu'elle soit associée à un stress hydrique ou à des vagues de chaleur, ont surtout été étudiés sur la biochimie des baies, alors que leurs impacts sur le métabolisme de la plante demeurent relativement peu connus (Greer et Weedon, 2013; Jing, 2018; Kappel, 2010; Lecourieux *et al.*, 2017; Lher *et al.*, 2021; Mori *et al.*, 2005; Murcia *et al.*, 2017; Neethling *et al.*, 2015; Venios *et al.*, 2020). Un autre aspect peu étudié est l'effet de la combinaison de stress : par exemple, un stress thermique combinée à un stress hydrique ainsi que leur répétition dans le temps. Une meilleure compréhension de la réponse du métabolisme primaire et secondaire aux températures élevées et à leurs effets secondaires tels que le stress hydrique de la canopée s'avère essentielle afin de comprendre la résilience des cépages au changement climatique et assurer la durabilité de l'industrie viticole dans le temps. Dans cette étude, il sera question des changements métaboliques dans les feuilles des vignes soumises à deux facteurs environnementaux : un stress thermique et un stress hydrique. Les résultats de ce projet de recherche permettront une meilleure compréhension des stratégies mises en place par la vigne pour faire face à l'augmentation de température et à la contrainte hydrique.

# CHAPITRE 1

## Revue de littérature

### 1.1 Importance du climat sur les cultures

La croissance des cultures est intimement liée aux conditions climatiques. Le climat peut être mesuré à l'aide de statistiques portant sur des paramètres quantifiables (température, précipitation, mouvements d'air, etc.) évalués sur une période de temps donnée, mais il repose en grande partie sur la température (Choisnel & Cloppet, 2021). La température affecte la physiologie de la plante de façon intrinsèque, par exemple en affectant le fonctionnement des cellules (activité enzymatique, flexibilité des membranes) (Nievola *et al.*, 2017). Les besoins thermiques diffèrent en fonction du type de culture. La température seuil correspond à la température minimale à partir de laquelle une plante se développe. Lorsqu'une température enregistrée est en dessous de ce seuil, on suppose un développement nul de la plante. Cependant, les variations de température peuvent devenir un stress lorsque la plante rencontre des valeurs extrêmes (à la hausse comme à la baisse). La température a également un effet extrinsèque à la plante sur les conditions climatiques environnantes : elle affecte par exemple le statut hydrique du sol, ce qui limite éventuellement la disponibilité de l'eau.

#### 1.1.1 Température et croissance des plantes

##### 1.1.1.1 Degré-jour

Le degré-jour de croissance est une mesure empirique servant à calculer l'accumulation de chaleur nécessaire au développement biologique d'un organisme vivant (Herms, 2004). Le nombre de degrés-jour est obtenu à l'aide d'une formule tenant compte de la température minimale et maximale de chaque jour. Par exemple, pour la vigne, l'accumulation commence lorsque les températures sont d'au moins 10 °C, correspondant à son seuil de développement (Barriault, 2013). L'accumulation de degrés-jour (DJ) en base 10 °C se calcule selon l'équation suivante :

$$DJ = \frac{(T_{\max} + T_{\min})}{2} - \text{Température de base}$$

Plus la valeur de degré-jour est élevée, plus la plante reçoit de chaleur lui permettant de synthétiser les sucres, lesquels jouent deux rôles essentiels dans la plante : favoriser la croissance, puis fournir

des réserves à la plante pour survivre à l'hiver. Chez la vigne, il a été établi que l'indice du cumul des degrés-jour de croissance sur la base de 10 °C doit être d'au moins 900 degrés-jour afin de permettre la production de fruits destinés à la production de vin.

### 1.1.2 Type de physiologie de la photosynthèse

Les plantes ont su développer différentes adaptations en fonction du climat dans lequel elles ont évolué. Par exemple, une augmentation de température affecte de manière importante les plantes en C<sub>3</sub> (fixation du carbone en C<sub>3</sub>), ce qui n'est pas le cas des plantes en C<sub>4</sub> et les plantes CAM qui ont développé des adaptations physiologiques leur permettant d'effectuer une photosynthèse efficace même à des températures supérieures à 30°C (Percy & Ehleringer, 1984). Au contraire, dans des zones de température de 10 à 25°C, les plantes en C<sub>3</sub> ont un rendement supérieur aux plantes en C<sub>4</sub>.

Le mode photosynthétique de la vigne (*Vitis* sp.) est en C<sub>3</sub>. En effet, en condition très chaude, sa photosynthèse est fortement affectée et sa croissance ralentit (Greer & Weedon, 2013). Cependant, la réaction de stress face à des hausses de température importantes, ou encore en présence d'autres stress tels que le stress hydrique, est peu documentée.

## 1.2 Vigne

La vigne appartient à la famille des *Vitaceae* et au genre *Vitis*. Cultivée mondialement, la vigne domestique fait partie des espèces végétales les plus importantes, occupant une superficie de 7,4 millions d'hectares en 2016 (OIV, 2016). La vigne est prisée pour ses fruits, se présentant sous forme de grappes que l'on mange directement ou dont on extrait un jus, le moût, que l'on fait fermenter pour produire du vin. Un vignoble est un terrain constitué de plants de vigne, et la culture associée à ceux-ci se nomme viticulture.

Il existe différentes variétés de vigne que l'on appelle « cépages ». L'espèce cultivée la plus importante est *Vitis vinifera*. D'autres espèces sont aussi utilisées, notamment les cépages hybrides, qui résultent de multiples croisements entre les vignes européennes (*Vitis vinifera*) et des espèces de vignes américaines tels que *Vitis labrusca* ou *Vitis riparia*, entre autres.

Afin qu'une région puisse cultiver la vigne, celle-ci doit être caractérisé par une période sèche assez longue et des températures supérieures à  $-5^{\circ}\text{C}$  au printemps (Lebon, 2005). Les températures optimales pour la culture de la vigne se situent entre  $21$  et  $32^{\circ}\text{C}$ , selon les régions, les cultivars et les méthodes de culture, de sorte que la majorité des vignobles mondiaux sont localisés dans les hémisphères nord et sud compris entre les isothermes  $10^{\circ}\text{C}$  et  $50^{\circ}\text{C}$  (voir Annexe A). Il existe néanmoins des techniques permettant de cultiver des vignes non rustiques dans des climats froids comme celui du Québec, en couvrant les vignes de toiles protectrices pour tout l'hiver (Jolivet & Dubois, 2006).

### 1.2.1 Cycle de vie et phénologie

Le développement de la vigne est constitué de deux cycles : le cycle végétatif et le cycle reproducteur (Kappel, 2010). Le cycle végétatif est associé à la croissance des organes tels les racines, les rameaux, les feuilles et les vrilles. L'hiver est caractérisé par une phase de dormance, s'en suit le début de la croissance végétative au printemps lorsque les températures du sol dépassent les  $10^{\circ}\text{C}$ . Le cycle reproducteur, quant à lui, mène à la formation des baies et est interrompu par la dormance hivernale.

Les classifications de Eichhorn et Lorenz (1977) sont utilisées mondialement pour caractériser les différentes étapes du cycle végétatif de la vigne. Les critères utilisés afin de déterminer les différents stades de développement de la vigne sont uniquement basés sur des critères morphologiques comme le nombre de feuilles et de grappes ou le pourcentage de fleurs ouvertes. Le développement commence au printemps avec le débourrement (stade « bourgeon dans le coton »; stade 03), qui marque la reprise de l'activité métabolique du bourgeon latent et de la croissance végétative (Lebon, 2005). Le bourgeon gonfle, les écailles s'écartent et la bourre disparaît juste avant que les feuilles n'émergent (stade 06). Les feuilles apparaissent et forment de petites rosettes (stade 09). Par la suite, les feuilles se développent jusqu'au mois d'août. À partir du stade 12 (grappes visibles) au stade 41 (aoûté), les classifications se basent sur le développement des inflorescences et des grappes plutôt que sur l'aspect des feuilles. Suite à la maturation des baies, l'aoûté suit. Il correspond au repos hivernal de la vigne, impliquant la lignification des sarments principaux. Vers septembre-octobre au Québec, les feuilles passent du jaune au brun pour finalement chuter progressivement (stades 43 et 47).

En période hivernale, seule une faible activité métabolique interne persiste permettant de protéger la plante du gel via le catabolisme de glucides. En effet, les glucides produits via la dégradation de l'amidon augmentent la pression osmotique contribuant à abaisser le point de congélation du milieu cellulaire (Zufferey *et al.*, 2012).

### 1.3 Impact des changements climatiques au Canada et du réchauffement sur la vigne

#### 1.3.1 Prévisions en termes de réchauffement climatique au Canada

Le rapport publié en 2019 par Environnement et Changements climatiques Canada explique comment le climat du Canada a changé et quels changements sont à prévoir pour l'avenir. En moyenne, pour l'ensemble du pays et par rapport à la période de référence 1986 à 2005, un réchauffement de 1,5 °C est attendu dans un scénario de faibles émissions pour la période 2031 à 2050 (Bush et Lemmen, 2019). Pour ce qui est du scénario d'émissions élevées, un réchauffement de 2,3 °C est attendu pour la même période, atteignant 6 °C d'ici la fin du XXI<sup>e</sup> siècle. Concernant le scénario de faibles émissions, il assume d'importantes réductions rapides des émissions et presque aucune émission pour le siècle actuel. Le scénario d'émissions élevées, quant à lui, présente une croissance continue des émissions au cours du présent siècle. Ce réchauffement à venir résultera en davantage de degrés-jour de croissance dans les provinces canadiennes de la Colombie-Britannique, de l'Ontario et du Québec (**Tableau 1.0.1**; Lasserre & Dorval, 2020). La sévérité des températures excessivement chaudes sera amplifiée, conduisant à des vagues de chaleur pouvant affecter la photosynthèse, alors que les températures extrêmement froides seront moins intenses. À noter qu'une vague de chaleur survient lorsque le nombre d'événements où les températures journalières, minimales sont d'au moins 16 °C et maximales, supérieures à 31 °C durant au moins trois jours consécutifs (Ouranos, 2021). Dans l'avenir, on estime une continuité de ces changements, évoluant de façon proportionnelle à l'ampleur de l'augmentation de la température moyenne.

Tableau 1.0.1 Degré-jour de croissance réelle (en pourcentage) des provinces canadiennes de la Colombie-Britannique, de l'Ontario et du Québec selon la moyenne des degrés-jour de croissance réelle pour la période 2010-2039 en se basant sur la celle de 1971-2000 (Lasserre & Dorval, 2020).

	Colombie-Britannique		Ontario		Québec	
	1971-2000	2010-2039	1971-2000	2010-2039	1971-2000	2010-2039
<b>Degré-jour de croissance réelle</b>						
Plus de 1600	2,4	4,8	9,3	21,2	1,8	6,3
1200-1600	7,2	18,6	26,6	44,3	8,9	17,8
900-1200	24	26,5	42,9	21,9	21,3	19,4
<900	66,7	50,1	21,3	12,5	67,9	56,5

### 1.3.1.1 Réchauffement climatique pour la Montérégie

La Montérégie-Est représente 45% de la production viticole du Québec, totalisant 74 vignobles et une superficie de 228 hectares (MAPAQ, 2022). Pour cette raison, cette étude focalisera sur les conditions « normales » de cette région comme point de départ.

L'augmentation des événements extrêmes climatiques pourrait entraîner des fluctuations sur la qualité et la quantité de raisins récoltés, mais surtout sur la résilience des vignes tout au cours de la saison, un enjeu préoccupant pour l'économie de la région. Le ministère de l'Environnement, de la Lutte contre les Changements Climatiques, de la Faune et des Parcs (MELCCFP) fournit des données quant aux normales climatiques de la Montérégie pour la période 1981-2010 (**Tableau 1.2**; MELCCFP, 2022). Les mois de juin, juillet et août représentent les trois mois les plus chauds pour cette région durant la période estivale.

Tableau 1.2 Normales climatiques de la Montérégie au Québec pour la période 1981-2010 pour les mois de juin, juillet et août (MELCC, 2022).

Mois	Température		
	Min. (°C)	Max. (°C)	Moy. (°C)
Juin	12,8	24,2	18,5
Juillet	15,3	26,7	21,0
Août	14,2	25,2	19,7

Les projections climatiques pour la région de la Montérégie pour les scénarios d'émissions RCP4.5 et RCP8.5 montrent une augmentation significative des températures et du nombre de vagues de chaleur en Montérégie au cours du prochain siècle, combiné à une augmentation négligeable des précipitations.

### 1.3.2 Réponses sur la phénologie

La phénologie de la vigne, à savoir les dates auxquelles la vigne atteint les différents stades de son développement comme le débourrement, la floraison ou la véraison, dépend fortement de la température (Van Leeuwen *et al.*, 2016). L'augmentation des températures moyennes annuelles provoque l'avancée des cycles végétatifs et reproducteurs de la vigne. Ce phénomène est observé depuis les années 1980 dans plusieurs régions, notamment dans celles d'Alsace et Bordeaux où la date de récolte a avancé de deux semaines (Van Leeuwen *et al.*, 2016). Ce phénomène s'accompagne d'une durée « véraison à récolte » considérablement plus longue depuis 25 ans (**Figure 1.1**). D'une manière générale, l'avancée de la phénologie a pour conséquence que la maturation se déroule dans des conditions plus chaudes, non seulement parce que le climat se réchauffe, mais aussi dû au fait que la maturation commence plus tôt dans la saison estivale.

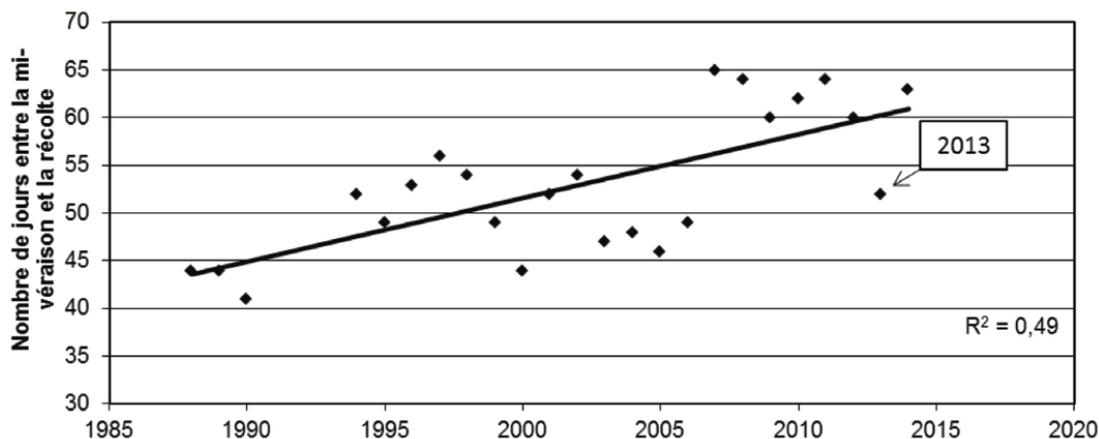


Figure 1.1 Durée entre la mi-véraison et la récolte pour une parcelle de Cabernet franc dans l'appellation Saint-Émilion entre 1988 et 2014 (reproduit de Van Leeuwen *et al.*, 2016).

### 1.3.3 Photosynthèse et morphologie

Parmi les fonctions physiologiques principales, la photosynthèse est le premier processus à être directement influencée par les variations de température (Venios *et al.*, 2020). Elle diminue avant l'apparition d'autres signaux lorsque la température dépasse une limite optimale, qui varie selon les espèces. Chez la vigne, la température optimale photosynthétique se trouve entre 25 et 35 °C et varie largement en fonction des régions. Lorsque la température est sous les 10 °C, la plupart des processus physiologiques ralentissent, tandis qu'à des températures dépassant 35 °C, les mécanismes d'acclimatation à la chaleur se mettent en marche. Des températures très élevées, dépassant les 40 °C, impactent fortement la photosynthèse, surtout en raison de la perturbation de l'appareil photosynthétique. D'ailleurs, Venios *et al.* (2020) ont rapporté des observations sur le terrain concernant la photosynthèse des feuilles de vigne à des températures variant entre 20 et 40 °C. Celles-ci ont révélé qu'en comparaison avec 25 °C, le taux photosynthétique moyen diminuait avec l'augmentation de la température, étant inhibé de 60 % à 45 °C. Greer et Weedon (2011) ont proposé que la diminution du Pn pouvait être liée à une réduction de 15 à 30 % de la conductance stomatique. Cela est probablement dû au fait que le stress causé par la chaleur et celui causé par la sécheresse sont étroitement interconnectés, et qu'une conductance stomatique réduite peut donc aggraver les symptômes du stress thermique à mesure que la température des feuilles augmente. Néanmoins, l'impact du stress thermique sur la conductance stomatique varie d'une variété de vigne à l'autre. Par exemple, le cultivar de vin portugais « Touriga Nacional » garde ses stomates ouverts même en cas de léger stress thermique, ce qui favorise le refroidissement des feuilles par transpiration et contribue à préserver la photosynthèse (Venios *et al.*, 2020).

#### 1.3.3.1 Métabolisme

L'impact de la température sur le métabolisme primaire et secondaire de la vigne a surtout été étudié chez les baies, en raison de leur impact sur la qualité et de la typicité des vins produits (Jing, 2018). Néanmoins, les feuilles sont une source importante de biomolécules pendant le développement des baies, en particulier pendant la phase de la véraison, où les grappes forment des organes-puits pour une grande partie des produits de la photosynthèse (Degu *et al.*, 2019). Ainsi, comprendre la réponse du métabolisme des feuilles de vigne à un stress thermique ouvre une perspective additionnelle dans le cadre de l'étude des effets du réchauffement climatique sur la vigne.

Les acides aminés, les composés phénoliques, les sucres et les acides organiques sont des métabolites essentiels dans le métabolisme de la vigne. Produits primaires de l'assimilation de l'azote, les acides aminés jouent un rôle essentiel dans le métabolisme de la vigne. D'un point de vue œnologique, ils sont impliqués dans la fermentation des moûts et la formation de substances aromatiques (Miele *et al.*, 2000). Bien que la température soit connue pour affecter globalement la biosynthèse des acides aminés dans la vigne, chaque acide aminé a une réponse différente à une augmentation de température. Lecourieux *et al.* (2017) a montré qu'une augmentation de température de 8°C en serre lors de la phase de maturation a significativement augmenté sept acides aminés (Thr, Arg, Tyr, Phe, Cys, Lys et GABA) dans des baies du cépage Cabernet Sauvignon. La variation en acides aminés retrouvés dans les feuilles de vigne soumises à un stress thermique n'a peu ou pas été étudiée. Néanmoins, Feller et Vaseva (2014) rapportent que, lors d'une sécheresse, les acides aminés libres tendent à s'accumuler dans les feuilles et sont en partie transformés en solutés compatibles, comme la proline. Verbruggen et Hermans (2008) ont étudié en profondeur l'accumulation de proline sous divers stress abiotiques. Ceux-ci ont observé une augmentation de la teneur en proline allant de 10 à 100 fois dans le trèfle soumis à un stress de sécheresse.

Parmi les métabolites secondaires, les composés phénoliques présentent un grand intérêt pour l'industrie du vin (Murcia *et al.*, 2017). Ces molécules organiques sont les produits du métabolisme secondaire des plantes et incluent de nombreuses classes, incluant les tanins, les flavonoïdes et les anthocyanes. Goicoechea *et al.* (2021) a noté une augmentation de l'accumulation de composés phénoliques dans les feuilles de *Vitis vinifera* L. cv. Tinto Velasco suite à une interaction entre un taux de CO<sub>2</sub> élevé avec une température élevée. Il a été démontré qu'une température élevée peut diminuer les concentrations en anthocyanes et modifier leur profil dans la peau des baies de raisins rouges (Jing, 2018). En effet, plusieurs gènes impliqués dans la biosynthèse des anthocyanes sont régulés à la baisse en réponse à des températures élevées (Mori *et al.*, 2005). En revanche, plusieurs études ont montré que l'accumulation des tanins ne semble pas être affectée par des températures élevées (Jing, 2018). Yang *et al.* (2015) a étudié les effets de différentes températures de croissance sur le métabolisme des polyphénols dans les feuilles de tabac (*Nicotiana tabacum* L.) à différents stades de développement. Les résultats ont montré que, après le stade mature, la teneur totale en phénols dans les feuilles de tabac commençait à croître, et l'accumulation totale de phénols à haute

température (environ 25 °C) était la plus élevée à la fin du traitement. Islam *et al.* (2003) a étudié le contenu phénolique dans les feuilles de patate douce (*Ipomoea batatas* L.) sous différentes conditions de température, notamment. Ils ont notamment observé une corrélation positive entre l'activité de piégeage des radicaux libres et le niveau de polyphénols totaux, suggérant l'importance des composés phénoliques en tant que composants antioxydants dans les feuilles de patate douce. Six de ces composés phénoliques ont pu être identifiés par chromatographie liquide haute performance en phase inverse (RP-HPLC) : l'acide caféique, l'acide chlorogénique, l'acide 4,5-di-O-caféoylquinique, l'acide 3,5-di-O-caféoylquinique, l'acide 3,4-di-O-caféoylquinique et l'acide 3,4,5-tri-O-caféoylquinique. Les résultats démontrent que le traitement à haute température (30 °C) a causé une diminution des composés phénoliques identifiés dans les feuilles de patate douce, alors que des températures modérées (20 °C) ont favorisé l'accumulation des polyphénols.

#### 1.4 Réponses physiologiques et métaboliques au régime hydrique

##### 1.4.1 Physiologie

En conditions limitantes d'eau, le développement végétatif de la vigne est fortement perturbé, se traduisant par une diminution de la taille et de la surface foliaire en raison d'une diminution de la photosynthèse et de la conductance stomatique, qui sont affectées (Ju *et al.*, 2018). La fermeture des stomates entraîne une diminution de la diffusion du CO<sub>2</sub>, associé à une diminution du potentiel hydrique foliaire. En ce qui concerne la vigne, un stress hydrique se traduit par une diminution de la croissance des rameaux et des feuilles.

Ju *et al.* (2018) ont observé les changements dans la microstructure des feuilles de Cabernet Sauvignon soumises à un stress hydrique : les plantes stressées avaient une densité stomatique inférieure à tout moment par rapport aux plantes témoins. La fermeture des stomates des feuilles de vigne en situation de stress aide la plante à réduire son taux de transpiration et à conserver son eau. Par le fait même, le photosystème II est réduit en efficacité (diminution de la photosynthèse) et la photorespiration, associée à la production de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, augmente.

La quantité d'eau contenue dans une plante dépend du potentiel hydrique du sol près du système racinaire, la taille de la canopée ainsi que de la demande évaporative (Choné *et al.*, 2001). Afin d'évaluer la disponibilité en eau des vignes, la méthode du potentiel hydrique foliaire s'avère fiable

pour déterminer l'état hydrique des plants (Choné *et al.*, 2001). Le potentiel hydrique foliaire de tige ( $\Psi_{MD}$ ) se mesure autour du midi solaire, alors que la photosynthèse est active et la demande climatique importante. Le potentiel de tige renseigne sur la capacité de la plante à conduire l'eau du sol à l'atmosphère, elle fournit une information fiable sur l'état hydrique du végétal en condition de transpiration, et semble rendre compte de manière très satisfaisante de la disponibilité en eau du sol (Choné *et al.*, 2001). Plus les valeurs enregistrées sont fortement négatives, plus l'eau est bien retenue à l'intérieur de la plante due à sa faible teneur.

#### 1.4.2 Métabolisme

Les métabolites jouent un rôle essentiel dans la croissance et le développement des plantes. En condition de stress, ils sont impliqués dans la signalisation cellulaire, le stockage d'énergie, la formation des membranes et le soutien structurel, tout en contribuant à l'allocation des ressources au sein de la plante (Kumar *et al.*, 2021). Différents stress abiotiques, incluant la sécheresse, perturbent le métabolisme des plantes dû à l'inhibition des enzymes métaboliques, du manque de substrats, d'une demande trop grande de certains composés, ou d'une combinaison de ces éléments. Ainsi, le métabolisme doit être en mesure de s'acclimater en adoptant un nouvel état d'équilibre en fonction des différentes conditions de stress prédominantes (Kumar *et al.*, 2021). La synthèse de métabolites primaires ou secondaires en réponse au stress hydrique peut réguler la turgescence et la rigidité des cellules et des tissus, l'homéostasie redox, le transport d'ions et l'activité enzymatique (Kumar *et al.*, 2021). Ces métabolites sont essentiels pour établir le lien entre les géotypes et les phénotypes des plantes.

La métabolomique est un outil pertinent afin d'obtenir des informations complètes sur le profilage des métabolites et l'analyse des voies métaboliques. Plusieurs études ont contribué à la compréhension de la régulation des métabolites chez différentes espèces de plantes en réponse à différents stress environnementaux tels que la sécheresse, le sel et le froid (Greer et Weedon, 2013; Jing, 2018; Kappel, 2010; Lecourieux *et al.*, 2017; Lher *et al.*, 2021; Mori *et al.*, 2005; Murcia *et al.*, 2017; Neethling *et al.*, 2015; Venios *et al.*, 2020). Le profilage des métabolites a été largement utilisé afin de caractériser les différentes réponses moléculaires en condition de stress hydrique chez les plantes et ainsi évaluer le taux de production de métabolites dans une classe donnée ou une voie métabolique particulière (Greer et Weedon, 2013; Jing, 2018; Lecourieux *et al.*, 2017;

Lher *et al.*, 2021; Mori *et al.*, 2005; Murcia *et al.*, 2017; Neethling *et al.*, 2015; Venios *et al.*, 2020). Plusieurs méthodes analytiques existent afin d'identifier différentes classes de métabolites, telles que la chromatographie liquide-spectrométrie de masse (LC-MS) et la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) dans diverses espèces végétales sous stress hydrique (Kumar *et al.*, 2021). Les métabolites secondaires des plantes sont des produits des métabolites primaires produits afin de contrer différents changements physiologiques défavorables induits par des conditions de stress. La sécheresse ou le stress hydrique est l'un des stress environnementaux les plus importants affectant la production agricole. La capacité à maintenir un niveau suffisant de métabolites primaires et secondaires est directement reliée au niveau de tolérance des plantes face au stress hydrique, celle-ci varie d'une espèce à une autre (Kumar *et al.*, 2021).

Khan *et al.* (2019) a observé différentes accumulations de métabolites chez deux génotypes de pois chiches (*Cicer arietinum* L.), révélant différentes réponses face à la sécheresse. En situation de stress hydrique, des métabolites primaires se sont accumulés dans les feuilles de la variété de pois chiche tolérante, tels que la proline, l'arginine, l'histidine, l'isoleucine et le tryptophane tandis que l'alanine, l'acide  $\alpha$ -cétoglutarique, le GABA, la choline, la tyrosine, la glucosamine, l'adénosine, la guanine et l'acide aspartique ont diminué dans les deux génotypes. Les acides aminés aromatiques actifs, comme la phénylalanine et la tyrosine, agiraient à titre de source secondaire d'énergie et seraient impliqués dans la tolérance au stress hydrique chez le pois chiche (Khan *et al.*, 2019).

Marcek *et al.* (2019) rapporte que plusieurs métabolites essentiels comme les sucres, les acides aminés et le GABA ont été régulés à la hausse chez le blé (*Triticum aestivum*) face au stress hydrique en comparaison aux plantes de contrôle. Cependant, Michaletti *et al.* (2018) ont observé des niveaux accrus de proline, méthionine, lysine et arginine autant chez les génotypes de blé tolérants et sensibles en réponse au stress hydrique.

Aussi, Ju *et al.* (2018) a rapporté qu'un déficit hydrique réduisait à la fois le rendement et la qualité des baies de raisin. Ceux-ci ont démontré que la concentration en proline (acide aminé) des plantes sous stress hydrique était plus grande que celle des témoins. De plus, l'échange gazeux des feuilles est négativement corrélé à la concentration en proline (Lher *et al.*, 2021).

## 1.5 Étude des stress abiotiques chez la vigne

L'étude des stress abiotiques chez la vigne pose certains défis considérables : la vigne est une plante pérenne, qui arrive à maturité (productivité) après trois à quatre ans. Il est donc difficile de la cultiver en pot à long terme afin de créer des stress en conditions contrôlés. D'autre part, l'étude des stress abiotiques en champ est difficile, car seul un contrôle limité sur les paramètres météorologiques tels que la température et l'ensoleillement est possible. Par exemple, un stress hydrique peut être induit par des systèmes d'exclusion de pluie. La culture de vignes en conditions expérimentales contrôlées telle qu'une serre horticole ou une chambre de croissance permet de contrôler précisément la quantité d'eau reçue par les plants ainsi que la température et l'humidité relative de l'air.

L'effet de la température élevée, notamment de stress thermique sur la vigne, a largement été étudié sur les fruits, mais beaucoup moins pour la partie végétale (Greer et Weedon, 2013; Jing, 2018; Kappel, 2010; Lecourieux *et al.*, 2017; Lher *et al.*, 2021; Mori *et al.*, 2005; Murcia *et al.*, 2017; Venios *et al.*, 2020). Toutefois, la majeure partie de ces études a été conduite sur des plantes matures (plus de 3-4 ans d'âge), mais moins sur de jeunes plants, qui sont plus fragiles et moins résilients que les plantes matures face aux stress abiotiques. Enfin, de nombreux stress abiotiques sont étudiés chez les plantes, mais peu d'études incluent des combinaisons de stress. Or, les plantes rencontrent de nombreux stress, à la fois ou successivement, pendant la période de croissance.

## 1.6 Hypothèse et objectifs

### 1.6.1 Hypothèses

Afin de répondre à la problématique posée précédemment, l'hypothèse suivante a été posée :

Le stress thermique et le stress hydrique, seuls ou combinés, modifieront :

#### 1. La physiologie des plants

- a. Des taux plus importants de conductance stomatique ( $\text{mmol}^{-1}$ ) et de transpiration ( $\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) seront observés pour les traitements impliquant un stress thermique ;
- b. Des taux moins importants de conductance stomatique ( $\text{mmol}^{-1}$ ) et de transpiration ( $\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) seront observés pour les traitements impliquant un stress hydrique ;

- c. Plus l'expérience avancera dans le temps, plus les niveaux de conductance stomatique ( $\text{mmol}^{-1}$ ) et de transpiration ( $\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) diminueront, et ce, pour tout l'ensemble des traitements.
2. La métabolomique des feuilles chez les cépages européens Cabernet franc et Riesling ainsi que chez les cépages hybrides Vidal et Marquette :
- a. Les traitements impliquant un stress thermique engendront une régulation à la hausse de tous les groupes de molécules : acides organiques, acides aminés, composés phénoliques et sucres ;
  - b. Les traitements impliquant un stress hydrique engendront une régulation à la baisse de tous les groupes de molécules : acides organiques, acides aminés, composés phénoliques et sucres.
  - c. Plusieurs molécules clés reliées aux stress environnementaux seront identifiées et présenteront des variations dans leur régulation :
    - i. Acides aminés : proline, serine, isoleucine, histidine et tyrosine.
    - ii. Acides organiques : acide malique, citrique et tartrique.
    - iii. Composés phénoliques : rutine, acide caféique et acide férulique.
    - iv. Sucres : glucose, sucrose et fructose.

### 1.6.2 Objectifs

Afin de vérifier les hypothèses émises, l'objectif général de cette étude visait à caractériser les effets d'un stress thermique et d'un stress hydrique, seuls ou combinés, sur la physiologie et le métabolisme des feuilles de quatre cépages *Vitis* cultivés au Canada : Cabernet franc, Riesling, Marquette et Vidal.

Les objectifs spécifiques étaient de :

- a) Étudier les changements métaboliques qui se produisent sous les traitements de stress hydrique et stress thermique, seuls ou combinés, dans les feuilles, par métabolomique non ciblée.
- b) Mettre en relation la composition biochimique des feuilles, l'effet du traitement (stress hydrique et stress thermique, seuls ou combinés) et le cépage (*Vitis* Cabernet franc, Riesling, Marquette et Vidal).

## **2 Changements physiologiques et métabolomiques associés à l'effet combiné et individuel d'un stress hydrique et d'un stress thermique sur les feuilles de *Vitis* sp. Cabernet franc, Marquette, Riesling et Vidal.**

### 2.1 Avant-propos

Ce chapitre présente sous forme d'article scientifique l'étude conduite dans le cadre de ce travail de maîtrise sur les changements physiologiques et la composition biochimique des feuilles de quatre cépages (*Vitis vinifera* c.v. Cabernet franc et Riesling et *Vitis* sp. Marquette et Vidal) soumis à des traitements de stress hydrique et stress thermique, seuls ou combinés. Cette étude a été réalisée par la candidate à la maîtrise Karine Delorme, sous la supervision de la professeure Karine Pedneault, avec le soutien du professeur Frédéric E. Pitre et de son équipe de l'IRBV et de la Dre Pamela Nicolle, professionnelle de recherche dans l'équipe de K. Pedneault à l'ISFORT. L'expérience a été développée par les K. Pedneault et F. E. Pitre et la candidate à la maîtrise K. Delorme, qui a réalisé l'ensemble des traitements, prises de données physiologiques, extractions et analyses métabolomiques par LC-MS/MS. P. Nicolle a effectué l'analyse des données métabolomiques et les analyses statistiques. K. Delorme a rédigé l'article.

## 2.2 Résumé

Plusieurs études ont rapporté que le climat a une influence directe sur la phénologie et la production de métabolites primaires et secondaires chez *Vitis* sp. Dans ce contexte, les projections climatiques pour la région de la Montérégie, Québec, Canada suggèrent une augmentation des températures accompagnées de vagues de chaleur et peu d'augmentation des précipitations, et ce, pour le prochain siècle. Le but de la présente étude était de caractériser l'impact du stress hydrique et du stress thermique, seuls ou combinés, sur des paramètres physiologiques et métabolomiques mesurés sur des feuilles de quatre cépages *Vitis* cultivés au Canada : Cabernet franc, Riesling, Marquette et Vidal. Plus précisément, les acides organiques (AO), acides phénoliques (AP), les acides aminés (AA) et les hormones végétales (HV) ont été analysés. Une expérience factorielle impliquant deux traitements de stress hydrique et deux traitements de stress thermique puis répété sur huit plants par traitement et combinaison de traitements a été mise en place : (1) stress hydrique (SH) ; (2) irrigué (CT) ; (3) stress thermique (ST) ; (4) température normale (CT). Pour le traitement stress hydrique, les plants ont reçu une quantité d'eau minimale à chaque trois jours de façon graduelle deux semaines avant le début de l'expérience jusqu'au jour 21. Pour le traitement de stress thermique, les plants ont été placés dans une serre expérimentale à une température de 38 °C le jour et 35 °C la nuit à partir du jour 1, pendant 21 jours consécutifs. Les plants soumis à une température normale ont été placés sous un abri extérieur à l'abri des précipitations. Des feuilles récoltées de huit plantes par variété, chacune sous stress hydrique, stress thermique, combinaison des stress ou contrôle, ont été récoltées à chacun des cinq jours d'échantillonnage (jours 0, 1, 7, 14 et 21) de l'expérience. Le potentiel hydrique foliaire de tige ( $\Psi_{MD}$ ), la conductance stomatique à l'eau ( $g_{sw}$ ), la transpiration (E) et la température de la feuille ( $T_f$ ) ont été mesurés et le profil métabolomique des feuilles récoltées J21 a été réalisé. Les phases aqueuses de chaque échantillon ont été injectées en mode d'ionisation positif et négatif dans un chromatographe en phase liquide à haute performance couplé à un détecteur UV-visible et à un spectromètre de masse à haute résolution (LC/MS-MS). Nos résultats ont montré que les trois paramètres physiologiques mesurés ont été significativement affectés par les traitements. Le stress hydrique d'une durée de 21 jours a régulé la production des métabolites primaires et secondaires à la baisse, cependant, aucun résultat n'était significatif ( $p < 0.05$ ). Le stress thermique ainsi que la combinaison des stress ont régulé les métabolites à la hausse de façon significative. Le stress hydrique a régulé à la baisse les métabolites de façon significative en comparaison au stress thermique. Les quatre cépages étudiés ont eu des

tendances similaires en fonction des différents traitements appliqués. Nos résultats ont montré la complexité de la réponse des feuilles de vigne au stress thermique et hydrique, seuls ou combinés, ce qui suggère que les pratiques viticoles devraient être adaptées en réponse aux effets du changement climatique afin de maintenir une production de qualité.

### 2.3 Abstract

Several studies have reported that climate has a direct influence on phenology and the production of primary and secondary metabolites in *Vitis* sp. In this context, climate projections for the Montérégie region suggest increasing temperatures accompanied by heat waves and little increase in precipitation over the next century. The aim of the present study was to characterize the impact of water stress and heat stress, alone or combined, on physiological and metabolomic parameters in the leaves of four *Vitis* grape varieties grown in Canada: Cabernet franc, Riesling, Marquette and Vidal. Specifically, organic acids (OA), phenolic acids (PA), amino acids (AA) and plant hormones (HV) were analyzed. A factorial experiment involving two water-stress and two heat-stress treatments and repeated on eight plants per treatment and treatment combination was set up: (1) water stress (SH); (2) irrigated (CT); (3) heat stress (ST); (4) normal temperature (CT). For the water stress treatment, the plants received a minimum amount of water every three days, gradually from two weeks before the start of the experiment to day 21. For the heat stress treatment, plants were placed in an experimental greenhouse at a temperature of 38°C during the day and 35°C at night from day 1, for 21 consecutive days. Plants subjected to normal temperature were placed under an outdoor shelter protected from precipitation. Harvested leaves from eight plants per variety, each under water stress, heat stress, a combination of stresses or control, were collected on each of the five sampling days (days 0, 1, 7, 14 and 21) of the experiment. Stem leaf water potential ( $\Psi_{MD}$ ), stomatal water conductance (gsw), transpiration (E) and leaf temperature (Tf) were measured and the metabolomic profile of leaves harvested on day 21 was carried out. The aqueous phases of each sample were injected in positive and negative ionization mode into a high-performance liquid chromatograph coupled to a UV-visible detector and a high-resolution mass spectrometer (LC/MS-MS). Our results showed that all three physiological parameters measured were significantly affected by the treatments. Water stress lasting 21 days down-regulated primary and secondary metabolite production, but none of the results were significant ( $p < 0.05$ ). Heat stress and the combination of stresses significantly up-regulated metabolites. Water stress significantly

down-regulated metabolites compared to heat stress. The four grape varieties studied showed similar trends according to the different treatments applied. Our results showed the complexity of grape leaf responses to heat and water stress, alone or in combination, suggesting that viticultural practices should be adapted in response to the effects of climate change in order to maintain quality production.

## 2.4 Introduction

Le climat, évalué par des paramètres quantifiables tels que la température, est l'un des principaux facteurs influençant la phénologie et la production des métabolites primaires et secondaires chez les plantes. Il existe une relation intime entre la température et la physiologie végétale, notamment l'activité enzymatique et la flexibilité des membranes, soulignant la nécessité de comprendre ces dynamiques pour assurer la durabilité et la productivité des cultures (Nievola *et al.*, 2017; Barriault, 2013). Au Canada, un réchauffement de 1,5 °C à 2,3 °C est prévu d'ici 2050, atteignant 6 °C d'ici la fin du siècle, selon les scénarios d'émissions d'Environnement et Changements climatiques Canada (2019). Des changements dans les degrés-jour de croissance sont prévus, amplifiant la sévérité des vagues de chaleur et rendant impliquant aussi un adoucissement des températures hivernales. Les projections climatiques pour la région de Montérégie, importante pour la production viticole du Québec, indiquent une augmentation des températures et des vagues de chaleur, avec peu d'augmentation des précipitations au cours du prochain siècle. Ces projections soulignent la nécessité de considérer les stress environnementaux comme des composantes interdépendantes, mettant en lumière les défis anticipés pour les vignobles de cette région clé de la viticulture québécoise.

L'effet de la température, notamment de stress thermique sur la vigne, a largement été étudié sur les fruits, avec peu de considération pour la partie végétale de la plante. En outre, la majeure partie de ces études ont été conduites sur des plantes matures (plus de 3-4 ans d'âge). Typiquement en horticulture fruitière, on assume que les jeunes plants sont plus fragiles et moins résilients que les plantes matures face aux stress abiotiques, mais ceci n'est pas démontré. Enfin, de nombreux stress abiotiques sont étudiés chez les plantes, mais peu d'études incluent des combinaisons de stress. Or, les plantes rencontrent de nombreux stress, à la fois ou successivement, pendant la période de croissance. La culture de vignes en conditions expérimentales contrôlées telle qu'une serre

horticole permet de contrôler précisément la quantité d'eau reçue par les plants ainsi que la température. De plus, les plants placés en pots sont légers et facilement déplaçables. Les plants cultivés en serre sont également protégés des dommages causés par les conditions climatiques tels que le retour du gel au printemps, le vent et la pluie.

Chez la vigne, la température optimale pour la photosynthèse se situe entre 21 et 32 °C qui dépendent des régions. Des températures supérieures à 35 °C inhibent la photosynthèse de la vigne par la fermeture des stomates. L'impact de la température sur la vigne se manifeste à travers des réponses physiologiques et métaboliques à la température. L'avancée des cycles végétatifs, telle que la phénologie, est observée avec l'augmentation des températures, notamment dans les régions d'Alsace et Bordeaux (Van Leeuwen *et al.*, 2016). La photosynthèse de la vigne est sensible à la température, avec une plage optimale entre 21 et 32 °C, mais des températures extrêmes peuvent inhiber ce processus (Lebon, 2005). Les acides aminés dans les baies réagissent différemment à l'augmentation de température, influençant la qualité des raisins (Lecourieux *et al.*, 2017). De même, les polyphénols, tels que les tanins et les anthocyanes, ainsi que les composés volatils, réagissent aux variations de température, affectant la composition chimique des raisins et des vins produits (Jing, 2018; Goicoechea *et al.*, 2021; Van Leeuwen *et al.*, 2016). La température affecte également les conditions environnantes, influant sur le statut hydrique du sol et la disponibilité de l'eau. Le régime hydrique influence les réponses physiologiques et métaboliques de la vigne. En cas de stress hydrique, la fermeture des stomates entraîne une diminution de la photosynthèse, affectant la croissance des rameaux et des feuilles (Ju *et al.*, 2018). Le potentiel hydrique foliaire de tige ( $\Psi_{MD}$ ) est une mesure fiable de l'état hydrique des plants, indiquant leur capacité à conduire l'eau du sol à l'atmosphère (Choné *et al.*, 2001). Le **Tableau 2.1** illustre des niveaux de déficits hydriques de la vigne mesurés par le potentiel hydrique des feuilles à la mi-journée (Smith et Prichard, 2002). Les valeurs négatives de  $\Psi_{MD}$  reflètent une meilleure rétention d'eau dans la plante. En termes de métabolisme, le stress hydrique conduit à une concentration accrue de l'acide aminé proline, avec une corrélation négative entre l'échange gazeux des feuilles et la concentration de proline (Ju *et al.*, 2018; Lher *et al.*, 2021).

Tableau 2.1. Niveaux de déficits hydriques de la vigne mesurés par le potentiel hydrique des feuilles à la mi-journée (Smith et Prichard, 2002).

Potentiel hydrique des feuilles à la mi-journée	Niveau de déficit hydrique
moins de -10 Bars	pas de stress
-10 to -12 Bars	stress léger
-12 to -14 Bars	stress modéré
-14 to -16 Bars	stress élevé
au-dessus de -16 Bars	stress sévère

L'étude des stress abiotiques chez la vigne présente des défis majeurs en raison de sa nature pérenne et du temps nécessaire pour atteindre la maturité. Cultiver la vigne en pot à long terme ou en champ sans contrôle sur les paramètres météorologiques est difficile pour induire des stress abiotiques. Les conditions expérimentales contrôlées, comme une serre horticole, offrent un environnement propice pour étudier le stress hydrique, avec un contrôle précis de l'eau et de la température. Cette approche protège également les plants des dommages causés par les conditions climatiques. Les études antérieures se sont principalement concentrées sur les fruits et les plantes matures, négligeant la partie végétale de la vigne, en particulier chez les jeunes plants. De plus, peu d'études ont examiné les combinaisons de stress, bien que les plantes soient souvent exposées à plusieurs stress pendant leur période de croissance.

La littérature actuelle présente une lacune significative en ce qui concerne l'effet combiné de stress thermique et hydrique sur la métabolomique des feuilles de *Vitis* sp. Alors que des études antérieures se sont principalement concentrées sur les fruits et les stress thermiques individuels, peu d'attention a été accordée à la partie végétative de la plante, en particulier les feuilles, et à l'interaction potentielle entre ces deux stress majeurs. Cette brèche dans la connaissance crée une niche que nous cherchons à occuper, en détaillant les réponses métaboliques spécifiques des feuilles de *Vitis* sp. sous l'influence de stress thermique, hydrique, et de leur combinaison.

Ainsi, notre étude se positionne comme une contribution novatrice visant à combler ce manque dans la littérature. En déployant une approche intégrée, nous chercherons à déchiffrer les mécanismes métaboliques impliqués dans la réponse des feuilles de *Vitis* sp. à ces stress environnementaux, jetant ainsi les bases d'une viticulture adaptative et résiliente. Dans la section

suivante, nous détaillerons les objectifs spécifiques de notre recherche, les méthodes employées, ainsi que la structure globale de notre approche méthodologique.

En ce sens, notre étude vise à évaluer les impacts du stress thermique et du stress hydrique, individuellement et combinés, sur le métabolisme des feuilles de quatre cépages *Vitis* cultivés au Canada : Cabernet franc, Riesling, Marquette et Vidal. L'expérimentation, réalisée à l'Institut de recherche en biologie végétale, utilisera un dispositif expérimental factoriel avec huit blocs aléatoires. Les échantillons de feuilles seront prélevés avant et après l'imposition des stress, avec une analyse métabolomique ultérieure à l'Institut des sciences de la forêt tempérée. Les analyses statistiques seront effectuées pour comparer les traitements et évaluer les modifications dans les concentrations d'acides aminés, de polyphénols et d'arômes. Les résultats attendus pourraient orienter les vignerons dans l'adaptation de leurs pratiques culturales au réchauffement climatique, en vue de maintenir une production de qualité.

## 2.5 Matériel et Méthode

### 2.5.1 Matériel végétal et dispositif expérimental

Une expérience en serre a été conduite de juillet à août 2022 dans les serres expérimentales du Jardin botanique de Montréal. Des plants âgés d'un an, greffés sur le porte-greffe 3309C, ont été utilisés : *V. vinifera* L. cv. Cabernet franc, *V. vinifera* L. cv. Riesling ainsi que les *Vitis* hybrides Vidal blanc (50% *V. vinifera* L. cv. Ugni blanc X 50% Rayon d'Or) et Marquette (MN 1094 X Ravat 262). Les vignes ont été plantées dans des pots de 10 litres en plastique, remplis avec un mélange de 15% perlite ainsi que des parties égales de substrat de culture (Pro-Mix BX, Québec, Canada) et de sable tout usage (Charbonneau Floral, Québec, Canada). Des soucoupes en plastique ont été placées en dessous des pots afin de minimiser les pertes d'eau. Les vignes ont été palissées sur des tuteurs en bambou de 1,5 mètre et placées par blocs randomisés.

Une expérience factorielle impliquant deux traitements de stress hydrique et deux traitements de stress thermique puis répété sur huit plants par traitement et combinaison de traitements a été mise en place (**Figure 2.1**). Les traitements ont été appliqués de la façon suivante :

- 1) Contrôle (**CTRL**) : les plants ont été arrosés à chaque trois jours jusqu'à saturation du sol et maintenus à une température normale (**Annexe A**) sous un tunnel de culture avec ouverture latérale, à l'abri des précipitations ;
- 2) Stress hydrique (**SH**) : une quantité d'eau minimale a été donnée à chaque trois jours, de façon graduelle, deux semaines avant le début de l'expérience jusqu'au jour 21 (**SH**) ;
- 3) Stress thermique (**ST**) : Une température contrôlé de 38 °C le jour et 35 °C la nuit à partir du jour 1, pendant 21 jours consécutifs (**ST**) dans une serre expérimentale ;
- 4) Stress combinés (**SH X ST**) : une quantité d'eau minimale a été donnée à chaque trois jours, de façon graduelle, deux semaines avant le début de l'expérience jusqu'au jour 21 (**SH**) avec une température de 38 °C le jour et 35 °C la nuit à partir du jour 1, pendant 21 jours consécutifs (**ST**) dans une serre expérimentale.

Des feuilles récoltées de huit plantes par variété, chacune sous stress hydrique, stress thermique, combinaison des stress ou contrôle, ont été récoltées à chacun des cinq jours d'échantillonnage (jours 0, 1, 7, 14 et 21) de l'expérience. Le potentiel hydrique foliaire de tige ( $\Psi_{MD}$ ), la conductance stomatique à l'eau ( $g_{sw}$ ), la transpiration (E) et la température de la feuille ont été mesurés et le profil métabolomique des feuilles récoltées à J1 et J21 a été réalisé.

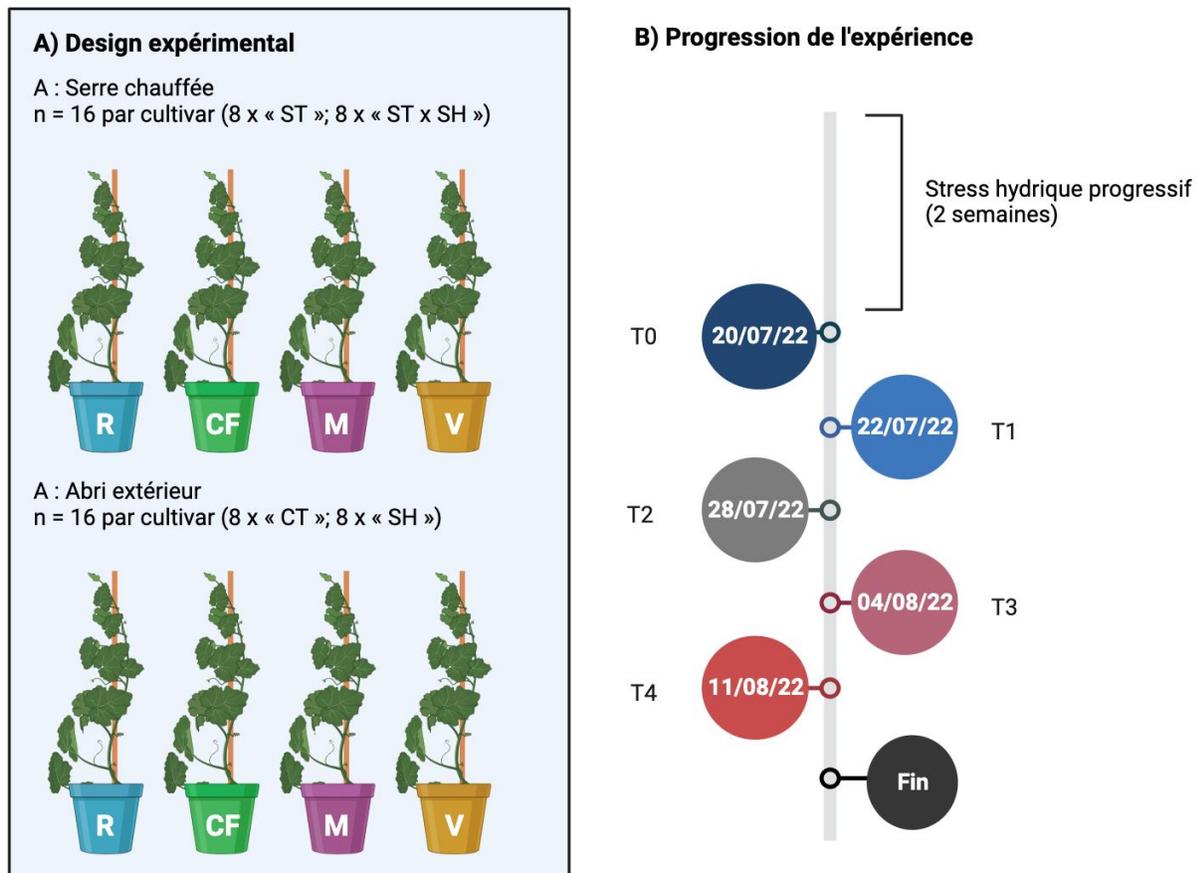


Figure 2.1 Design expérimental et dates des mesures effectuées sur les plants de vigne. Les plants « ST » et « ST x SH » ont reçu une quantité minimale d'eau 2 semaines avant le début des traitements, de façon à induire un stress hydrique progressif. R, Riesling ; M, Marquette ; CF, Cabernet franc ; V, Vidal ; ST, stress thermique ; SH, stress hydrique ; ST x SH, stress combinés ; CT, contrôle.

### 2.5.2 Potentiel hydrique foliaire de tige ( $\Psi_{MD}$ ) et mesure des échanges gazeux

Le potentiel hydrique foliaire de tige ( $\Psi_{MD}$ , bars) a été mesuré à l'aide de chambre à pression (PMS Instrument, modèle 615) autour du midi solaire. Des feuilles matures vert foncé, entièrement déployées, exposées au soleil, situées sur la plus longue tige, ont été sélectionnées. Les mesures ont été effectuées sur 2 feuilles par combinaison de traitement (une feuille par plant) aux jours 1, 4, 7, 11, 14 et 21 de l'expérience. Immédiatement avant l'excision, un sac en plastique a été placé sur le limbe foliaire. Chaque feuille a été sectionnée à l'aide d'un sécateur et ensuite placée dans la chambre à pression, de sorte que le pétiole dépasse du couvercle de la chambre. La chambre a

été pressurisée à l'aide d'un réservoir d'azote et le  $\Psi_{MD}$  a été enregistré sur le manomètre dès qu'un ménisque de sève apparaissait sur l'extrémité coupé du pétiole.

Les mesures d'échanges gazeux ont été prises en journée, sur une feuille mature verte foncée, entièrement déployée, exposée au soleil et située sur la plus longue tige. Les mesures ont été effectuées soit dans l'abri extérieur, pour les traitements de stress hydrique et le contrôle, soit dans la serre, pour les traitements de stress thermique et de combinaison des stress. Les mesures ont eu lieu aux jours 0, 1, 7, 14 et 21 de l'expérience. L'appareil LI-600 (Licor, Nebraska, USA) a été utilisé pour mesurer la conductance stomatique à la vapeur d'eau ( $\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), la transpiration ( $\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) et la température de la feuille ( $^{\circ}\text{C}$ ).

### 2.5.3 Profilage des métabolites

#### 2.5.3.1 Prélèvement et extraction des feuilles

À la suite des mesures d'échanges gazeux, cette même feuille a immédiatement été emballée dans du papier d'aluminium, refroidie sur de la glace sèche, puis conservée à  $-80^{\circ}\text{C}$  jusqu'aux extractions, pour l'analyse du profil métabolique. Les échantillons de feuille ont été extraits selon le protocole de Salem *et al.* (2016), avec modifications. Brièvement, le tissu foliaire a été broyé sous azote liquide à l'aide d'un broyeur à billes (Mixer Mill Retsch MM 400, Düsseldorf, Allemagne), de supports pré-refroidis à  $-80^{\circ}\text{C}$  et de billes de broyage. La poudre congelée a été pesée (100 mg) puis les métabolites ont été extraits dans 2 mL d'un mélange MTBE : Méthanol (3:1 v/v) préalablement refroidi à  $-20^{\circ}\text{C}$  pendant une heure, auquel un standard interne (citrulline, 0,5 ppm dans l'eau) a préalablement été ajouté. Les tubes ont été mélangés sur un vortex, incubés sur un thermomélangeur à 200 rpm pendant 45 minutes à  $4^{\circ}\text{C}$ , puis placés dans un bain à ultrasons refroidi avec de la glace pilée dans l'eau pendant 15 minutes. Par la suite, 1,3 mL d'un mélange de séparation de phases  $\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH}$  (3 :1 vol/vol) a été ajouté à l'extrait. Les tubes ont été nouveau mélangés au vortex une minute puis centrifugés 10 minutes à  $20,000 \times g$ , à  $4^{\circ}\text{C}$ . La phase organique (surnageant), a été retirée à l'aide d'une pipette, puis 800  $\mu\text{L}$  de la phase aqueuse (inférieure) ont été transférés dans un nouveau tube, concentrés dans une centrifugeuse sous vide, sans chauffage, pendant 3h, resuspendus dans 400  $\mu\text{L}$  d'un mélange  $\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$  (1:1 vol/vol), filtrés sur 0,45  $\mu\text{m}$  puis mis dans une vial et conservé à  $-80^{\circ}\text{C}$  jusqu'aux analyses LC-MS/MS.

### 2.5.3.2 Analyses métabolomiques non ciblées

Les phases aqueuses de chaque échantillon (5 µL) ont été injectées en mode d'ionisation positif et négatif selon deux méthodes chromatographiques différentes (décrites plus bas). Les analyses ont été réalisées sur un chromatographe en phase liquide à haute performance (Vanquish, Thermo Scientific, Waltham, États-Unis) attaché à un détecteur UV-visible (Variable Wavelength Detector F, VF-D40-A, Thermo Scientific, Waltham, États-Unis) et à un spectromètre de masse à haute résolution (Q Exactive – Orbitrap MS, Thermo Fisher Scientific, Waltham, États-Unis) et connectées sur un ordinateur équipé du logiciel Chroméléon (Thermo Scientific, Waltham, États-Unis). La séparation chromatographique a été réalisée sur une colonne Luna Reverse Phase (RP) C<sub>18</sub> (2) (150 mm x 2 mm, 3 µm; Phenomenex, Torrance, États-Unis).

#### 2.5.3.2.1 Analyses en mode positif

Pour l'analyse non ciblée des métabolites de la phase aqueuse, la colonne et l'échantillonneur étaient maintenus à 40 °C et 4 °C, respectivement. Le débit a été fixé à 0,4 mL · min<sup>-1</sup>. La phase mobile consistait en un gradient d'une solution aqueuse contenant 0,1% d'acide formique (A) et d'acétonitrile contenant 0,1% d'acide formique (B), selon le programme suivant : 0 min, 2% B ; 0–3 min, 5% B ; 3–12 min, 55% B ; 12–14 min, 95% B ; 14–16 min, 95% B ; 16,0–16,1 min, 5% B ; 16,1–18,0 min, 5% B. Les composés ont été ionisés par électrospray (ESI) en mode positif, selon les conditions suivantes : *Sheath gas flow rate* : 10 ; *Aux gas flow rate* : 0 ; *Sweep gas flow rate* : 0 ; *Spray voltage* (kV) : 4,00 ; *Capillary temp* (°C) : 320 ; *S-lens RF level* : 50,0.

Les données ont été acquises en mode MS/MS-dd<sub>2</sub>. La source CID a été réglée à 5,0 eV et l'état de charge par défaut à 1, idéal pour les petites molécules. Les paramètres d'acquisition des données en full MS (scan complet) ont été réglés comme suit : résolution : 70,000 ; cible AGC : 1e6 ; plage du scan : 80 to 1200 m/z. Les paramètres d'acquisition en dd-MS<sup>2</sup> (fragmentation des principaux précurseurs/ions mère), c'est-à-dire les conditions d'isolation des précurseurs, ont été réglés comme suit : résolution : 17,500 ; cible AGC : 2e5 ; temps d'injection maximum : 55 ms ; nombre de boucles : 5 ; fenêtre d'isolement : 1,2 m/z ; énergie de collision pour la fragmentation (N)CE : 20,35,60. Finalement, les paramètres dépendants des données (dd) ont été réglés comme suit : cible minimum AGC : 8.00e3 ; exclusion dynamique : 4,5 s.

#### 2.5.3.2.2 Analyses en mode négatif

Les conditions d'analyses utilisées en mode négatif ont été similaires à celle utilisée en mode positif, à l'exception du gradient d'élution, conduit comme suit : 0 min, 2% B ; 0–3 min, 5% B ; 3–20 min, 95% B ; 20–25, 95% B ; 25,00–25,10, 5% B ; 25,1–30,0, 5% B.

Pour la méthode instrumentale, les propriétés générales du MS ont été réglées comme suit : source CID : 10,0 eV. Les paramètres du full MS ont été réglés comme suit : résolution : 70,000 ; cible AGC : 1e6 ; plage du scan : 80 to 1200 m/z. Les propriétés du dd-MS<sup>2</sup> ont été réglées comme suit : résolution : 17,500 ; cible AGC : 2e5 ; temps d'injection maximum : 55 ms ; nombre de boucles : 5 ; fenêtre d'isolement : 1,2 m/z ; énergie de collision pour la fragmentation (N)CE : 20,35,60. Les propriétés du dd ont été réglées comme suit : cible minimum AGC : 8.00e3 ; exclusion dynamique : 4.5 s.

#### 2.5.3.3 Traitement des données chromatographiques

Les données brutes ont été traitées à l'aide du logiciel Compound Discoverer (Thermo Fisher Scientific). Premièrement, les spectres ont été sélectionnés en tenant compte du temps de rétention (RT), puis alignés en respectant une tolérance d'une demi-minute et d'une précision de masse de 5 ppm. Les composés inconnus ont ensuite été détectés et regroupés en fonction d'un temps de rétention d'une tolérance de 0,2 minute et 5 ppm d'écart de masse. Les composés inconnus ont été identifiés avec différentes bases de données. La base mzCloud a été utilisée pour au niveau MS/MS avec une tolérance de masse de 10 ppm. Les bases de données Chempider et Metabolika ont également été utilisées pour identifier en fonction de la masse exacte avec une tolérance de 5 ppm lorsque nécessaire. Avec les données obtenues, une liste de composés potentiels a été générée en prenant en compte des niveaux de confiance des critères de Metabolomics Standards Initiative (MSI) de la Metabolomics Society (**Tableau 2.2**) (Blasenovic *et al.*, 2018).

Tableau 2.2 Critères d'évaluation fournis par Metabolomics Society (Blaženovic *et al.*, 2018) et leur application dans cette étude.

Niveau de confiance	Description	Exigences en matière de données	Certitude
4	Fonctionnalité inconnue	Fonctionnalité reconnue avec CD et détectée avec LDA	—
3	Structure possible correspondant à une seule information, par exemple, base de données	Adapté à la masse exacte (5 ppm) dans une base de données MS 1 (Chempidder)	MAUVAIS
2	Au moins deux sources d'informations pour correspondre à la structure 2D, par exemple, masse exacte et score MS/MS	Correspondance de la masse exacte (10 ppm) avec un score de fragmentation supérieur à 80 de la base de données mzcloud	BON
1	Structure 2D adaptée en toute confiance avec deux techniques, par exemple MS/MS et RT	Masse exacte (5 ppm) et informations expérimentales MS/MS et informations RT de l'étalon pur	TRÈS BON
0	Composé avec détermination de la structure 3D	Pas possible avec cette méthode	MEILLEUR

Tout d'abord, seuls les composés avec un score MZ cloud (MS/MS) supérieur à 80% ont été exportés. Pour les composés qui ne respectaient pas le niveau de confiance de niveau 2, le fish coverage a été inclus pour combler le manque de confiance lors de l'identification.

#### 2.5.4 Analyses statistiques

Les données physiologiques ont été analysées à l'aide du logiciel JMP (version 11.0.0, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) en utilisant une analyse de variance (ANOVA). Les principaux effets des facteurs et de leurs interactions ont été étudiés à un seuil de signification de  $P \leq 0,05$ . Ensuite, la personnalité Standard Least Squares dans la plateforme Fit Model a été utilisée ainsi que des comparaisons par paires des moyennes des moindres carrés à l'aide du test de Tukey HSD ( $\alpha = 0,05$ ). Ce test a permis de trouver des différences significatives entre les traitements, les cultivars et les temps ( $t_0$  vs  $t_1$ ).

Les données métabolomiques ont été analysées dans le logiciel Compounds Discoverer (Thermo Fisher Scientific). Les données ont été traitées par cultivar et les  $\log_2$  *fold change* calculés pour les ratios suivants : SH/CT ; ST/CT ; ST x SH/CT ; SH/ST ; ST x SH/ST. La valeur *p* du ratio par groupe a été calculée à l'aide d'un modèle d'ANOVA à un facteur avec le test post-hoc de Tukey.

## 2.6 Résultats

### 2.6.1 Potentiel hydrique foliaire de tige

Le **Tableau 2.3** illustre les valeurs de potentiel hydrique foliaire de tige ( $\Psi_{MD}$ , bars) mesurés des cépages Cabernet franc, Marquette, Riesling et Vidal soumis à un stress thermique (ST), hydrique (SH) ou combiné (ST X SH) et comparés à un contrôle (CTRL) pendant 21 jours. Selon le **Tableau 2.3**, le traitement stress thermique (ST) est celui démontrant les plus grandes valeurs de potentiel hydrique foliaire de tige (T1 :  $-8 \pm 0$  ; T2 :  $-5 \pm 0$  ; T3 :  $-6 \pm 2$  ; T4 :  $-6 \pm 1$  bars), correspondant à un niveau de déficit hydrique « pas de stress » (**Tableau 2.1**). À l’opposé, les traitements stress hydrique (SH) et stress combinés (ST X SH) démontrent les plus faibles valeurs de potentiel hydrique foliaire de tige, équivalent à des niveaux de déficit hydrique « stress léger » et « stress élevé » (**Tableau 2.1** ; **Tableau 2.3**).

Tableau 2.3 Potentiel hydrique foliaire de tige ( $\Psi_{MD}$ , bars) des cépages Cabernet franc, Marquette, Riesling et Vidal soumis à un stress thermique (ST), hydrique (SH) ou combiné (ST X SH) et comparés à un contrôle (CTRL) pendant 21 jours. Les valeurs représentent la moyennes de 2 réplicats biologiques (plants)  $\pm$  l’écart-type.

Temps	Contrôle (CTRL) - Moyenne ( $\Psi_{MD}$ , bars)	Stress hydrique (SH) - Moyenne ( $\Psi_{MD}$ , bars)	Stress thermique (ST) - Moyenne ( $\Psi_{MD}$ , bars)	Stress combinés (ST X SH) - Moyenne ( $\Psi_{MD}$ , bars)
22-07-2022 (T1)	$-9 \pm 0$	$-12 \pm 1$	$-8 \pm 0$	$-11 \pm 0$
25-07-2022	$-8 \pm 1$	$-13 \pm 2$	$-6 \pm 1$	$-10 \pm 0$
28-07-2022 (T2)	$-8 \pm 0$	$-11 \pm 1$	$-5 \pm 0$	$-12 \pm 2$
01-08-2022	$-7 \pm 1$	$-14 \pm 2$	$-11 \pm 0$	$-13 \pm 1$
04-08-2022 (T3)	$-5 \pm 1$	$-16 \pm 0$	$-6 \pm 2$	$-14 \pm 1$
11-08-2022 (T4)	$-5 \pm 1$	$-14 \pm 1$	$-6 \pm 1$	$-14 \pm 1$

## 2.6.2 Physiologie

Pour les quatre cépages, le traitement thermique (**ST**) est celui ayant engendré la plus grande augmentation de la conductance stomatique et de la transpiration des feuilles après 21 jours d'expérience active ( $T_{+21}$ ) (**Figures 2.2 et 2.3**). Le **Riesling** est celui ayant atteint les plus grandes valeurs de conductance stomatique et de transpiration : 0,20 et 7,32 mol · m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>; respectivement, contrairement au **Cabernet franc**, qui a montré les plus petites valeurs : 0,10 et 4,29 mol · m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>; respectivement.

Le stress hydrique (**SH**) a engendré une baisse des échanges gazeux par rapport aux plants contrôles. Tout comme pour le stress thermique, le **Riesling** a montré les plus grandes valeurs de conductance stomatique et de transpiration pour le stress hydrique comparé aux autres cépages : 0,03 et 0,71 mol · m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>; respectivement. À l'opposé, le cépage hybride **Vidal** a montré les plus petites valeurs : 0,01 et 0,14 mol · m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>; respectivement (**Figures 2.2 et 2.3**).

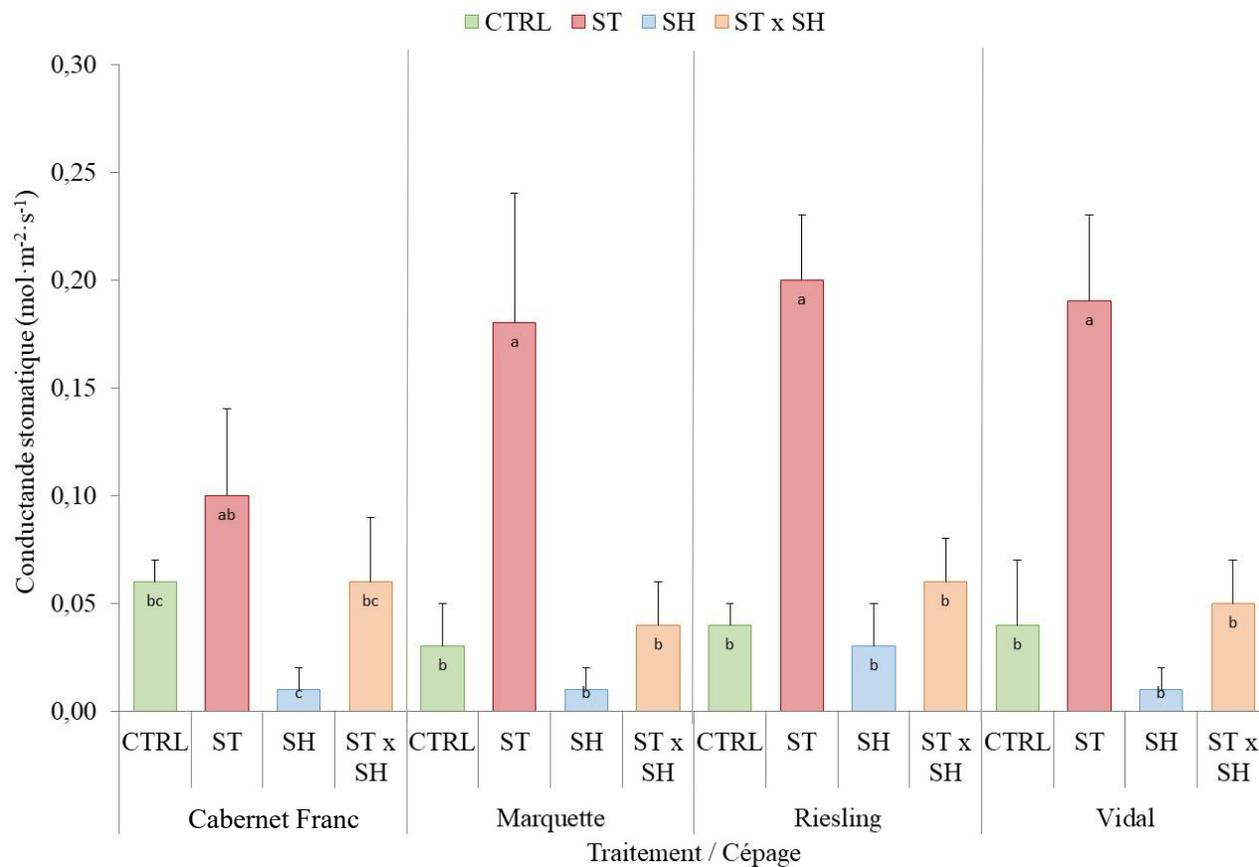


Figure 2.2 Conductance stomatique ( $\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) des cépages Cabernet franc, Marquette, Riesling et Vidal soumis à un stress thermique (ST), hydrique (SH) ou combiné (ST X SH) pendant 21 jours et comparés à un contrôle (CTRL). Les valeurs représentent la moyennes de 8 réplicats biologiques (plants)  $\pm$  l'écart-type. Les valeurs avec des lettres différentes indiquent une différence significative entre les traitements pour un même cépage (Test de Tukey à  $P\leq 0,05$ ).

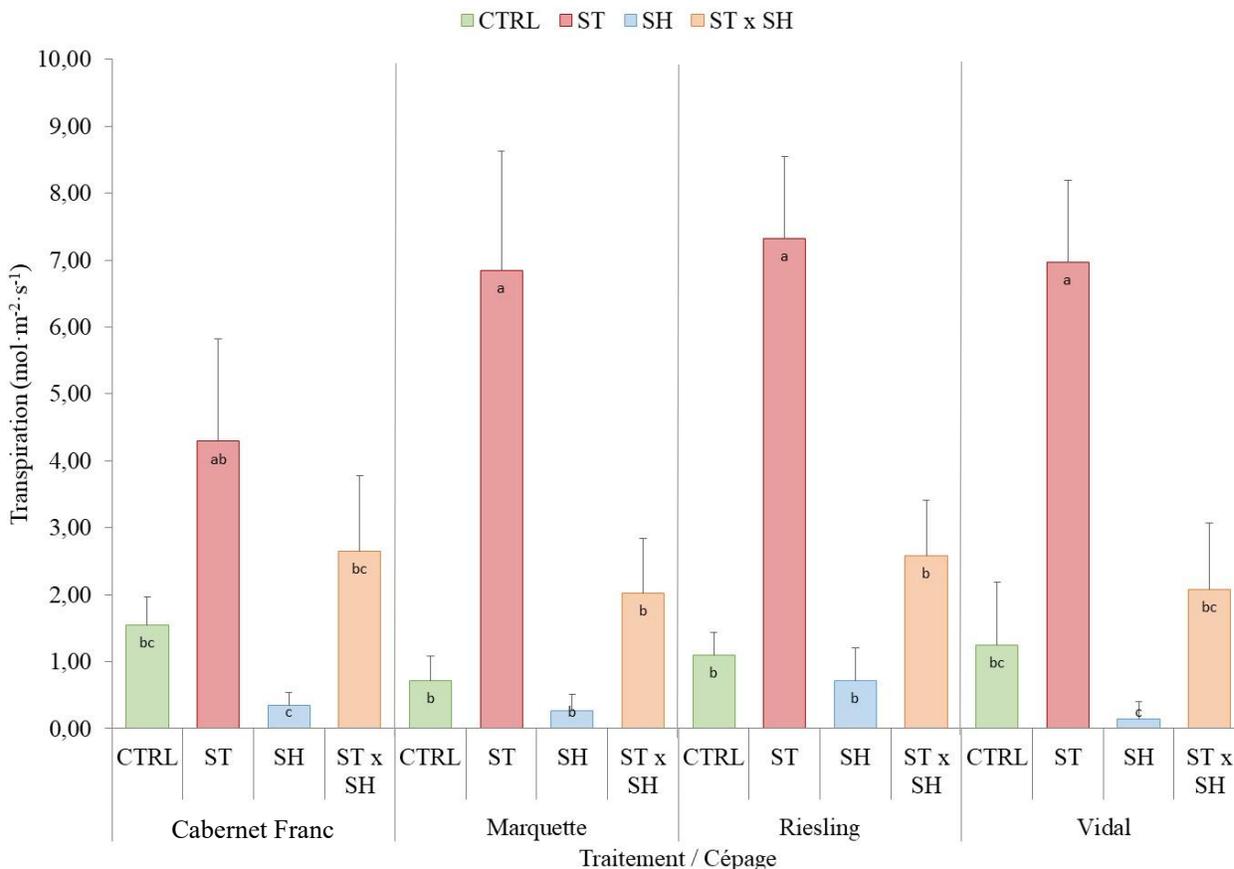


Figure 2.3 Transpiration ( $\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) des cépages Cabernet franc, Marquette, Riesling et Vidal soumis à un stress thermique (ST), hydrique (SH) ou combiné (ST X SH) pendant 21 jours et comparés à un contrôle (CTRL). Les valeurs représentent la moyennes de 8 réplicats biologiques (plants)  $\pm$  l'écart-type. Les valeurs avec des lettres différentes indiquent une différence significative entre les traitements pour un même cépage (Test de Tukey à  $P \leq 0,05$ ).

L'effet des traitements sur la conductance stomatique ( $\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) et la transpiration ( $\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) du début à la fin de l'expérience (0 à 21 jrs) a été examiné pour les quatre cépages à l'étude (**Figures 2.4 à 2.7**). Avant le début de l'expérience active ( $T_{-1}$ ) et pour l'ensemble des cépages, le taux de conductance stomatique était significativement inférieur aux données prises entre le jour 1 et le jour 21 pour les traitements **SH** (CF : 0,05; M : 0,06; R : 0,04  $\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) et **ST X SH** (CF : 0,04; M : 0,04; R : 0,04  $\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) comparé au **CTRL** (CF : 0,19; M : 0,019; R : 0,21  $\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) (**Figures 2.6–2.9 A**). Pour ce qui est du taux de transpiration, les valeurs étaient non significatives sauf pour le cépage **Vidal**, où la transpiration est significativement supérieure pour les traitement **SH** (3,79  $\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) et **ST X SH** (3,43  $\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) comparé au **CTRL** (1,00  $\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) (**figure 2.9 B**).

Pour chacun des cépages et pour les traitements impliquant un **stress thermique**, les niveaux de conductance stomatique et de transpiration les plus élevés ont été atteints un jour après le début de l'expérience active ( $T_{+1}$ ) (**Figures 2.6–2.9**). Ces taux étaient également significativement supérieurs au **CTRL**. Pour ce même moment, le cépage Riesling est celui ayant atteint les plus hautes valeurs de conductance stomatique (ST : 0,51; ST X SH : 0,49) et de transpiration (ST : 19,93; ST X SH : 20,20) (**figure 2.8 A, B**). Au contraire, le cépage Cabernet franc est celui avec les plus petites valeurs de conductance stomatique (ST : 0,31; ST X SH : 0,37) et de transpiration (ST : 15,25; ST X SH : 16,7) (**figure 2.6 A, B**). Pour l'ensemble des cépages et pour tous les traitements, les valeurs de conductances stomatiques et de transpirations étaient très similaires pour les temps 14 et 21 jours (**Figures 2.6–2.9**).

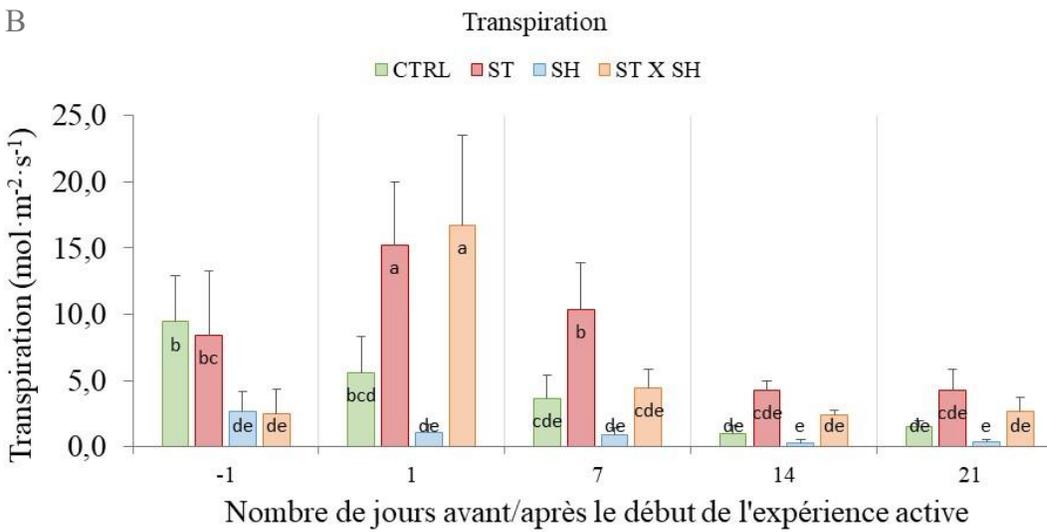
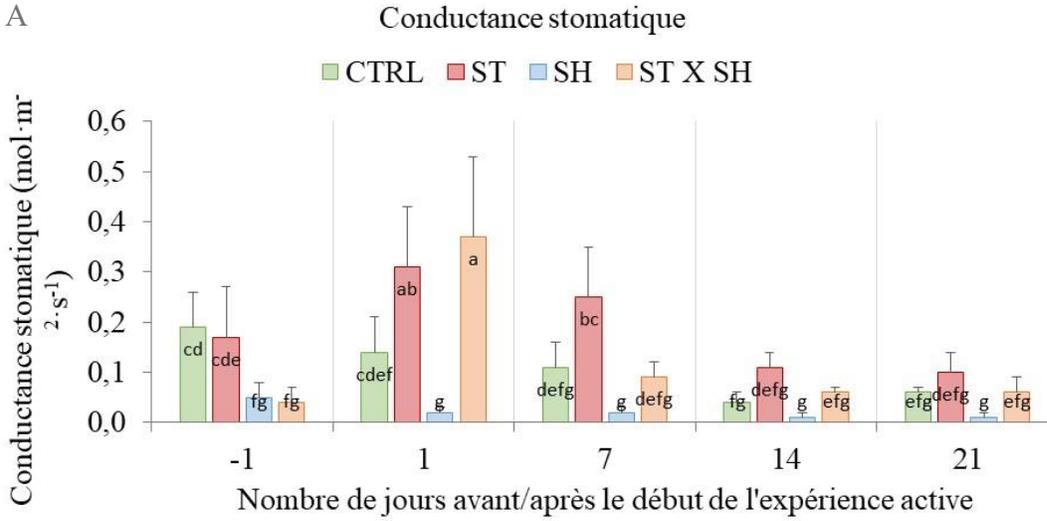


Figure 2.4 Conductance stomatique ( $\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) et transpiration ( $\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) du cépage Cabernet franc soumis à un stress thermique (ST), hydrique (SH) ou combiné (ST X SH) pendant 21 jours et comparé à un contrôle (CTRL). Les valeurs représentent la moyenne de 8 réplicats biologiques (plants)  $\pm$  l'écart-type. Les valeurs avec des lettres différentes indiquent une différence significative (Test de Tukey à  $P \leq 0,05$ ).

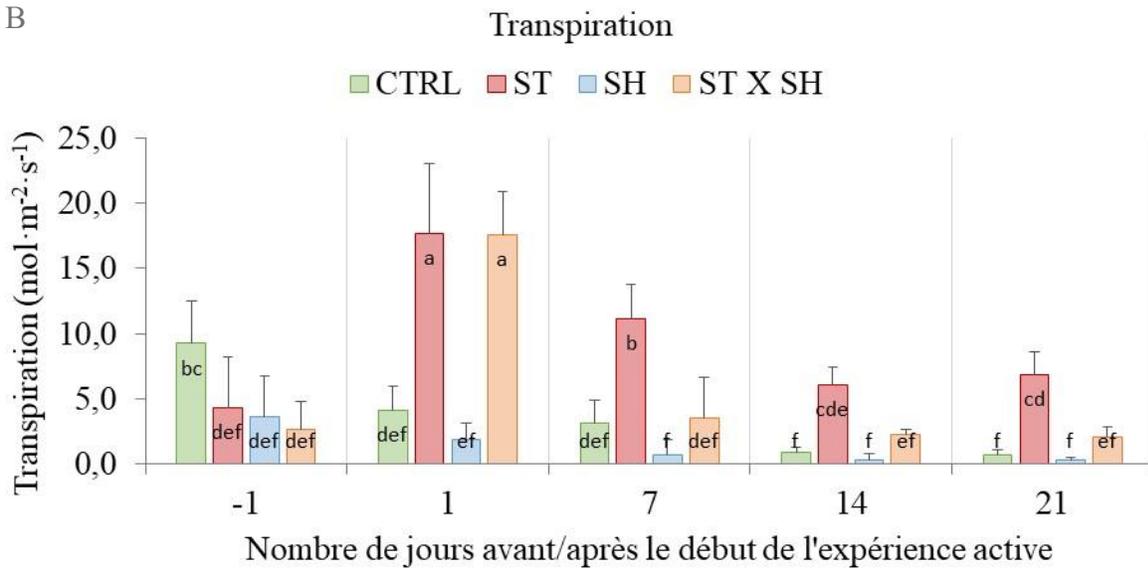
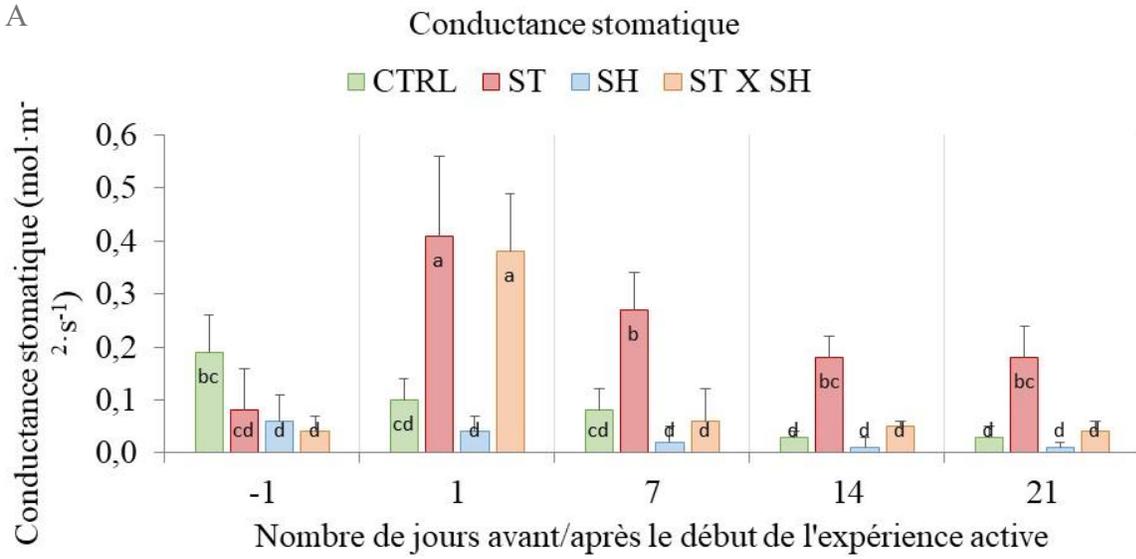


Figure 2.5 Conductance stomatique ( $\text{mmol}^{-1}$ ) et transpiration ( $\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) du cépage Marquette soumis à un stress thermique (ST), hydrique (SH) ou combiné (ST X SH) pendant 21 jours et comparé à un contrôle (CTRL). Les valeurs représentent la moyenne de 8 réplicats biologiques (plants)  $\pm$  l'écart-type. Les valeurs avec des lettres différentes indiquent une différence significative (Test de Tukey à  $P \leq 0,05$ ).

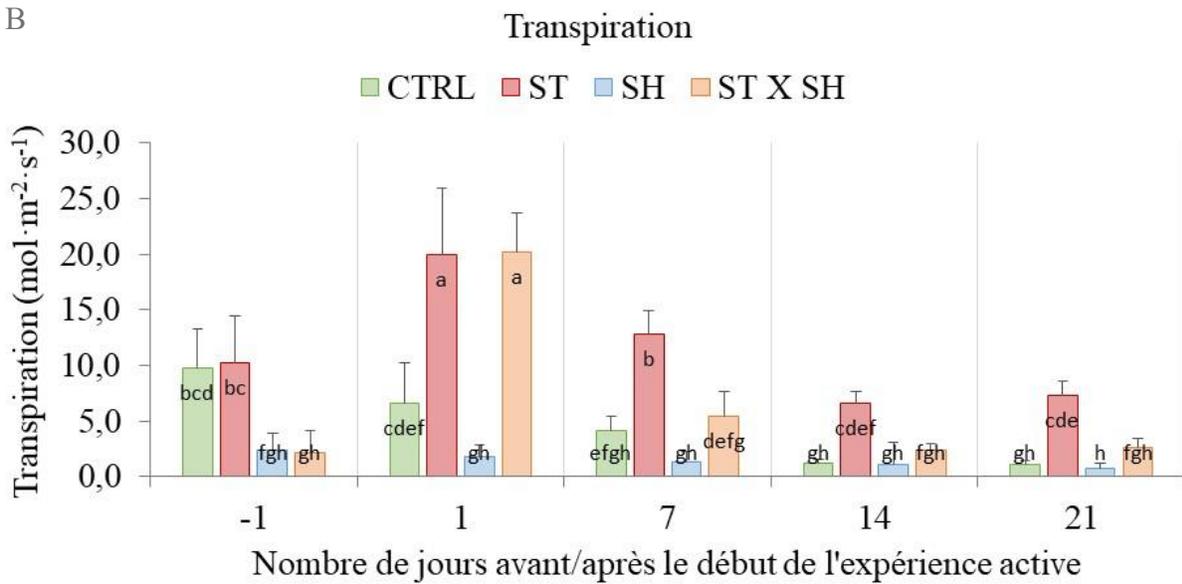
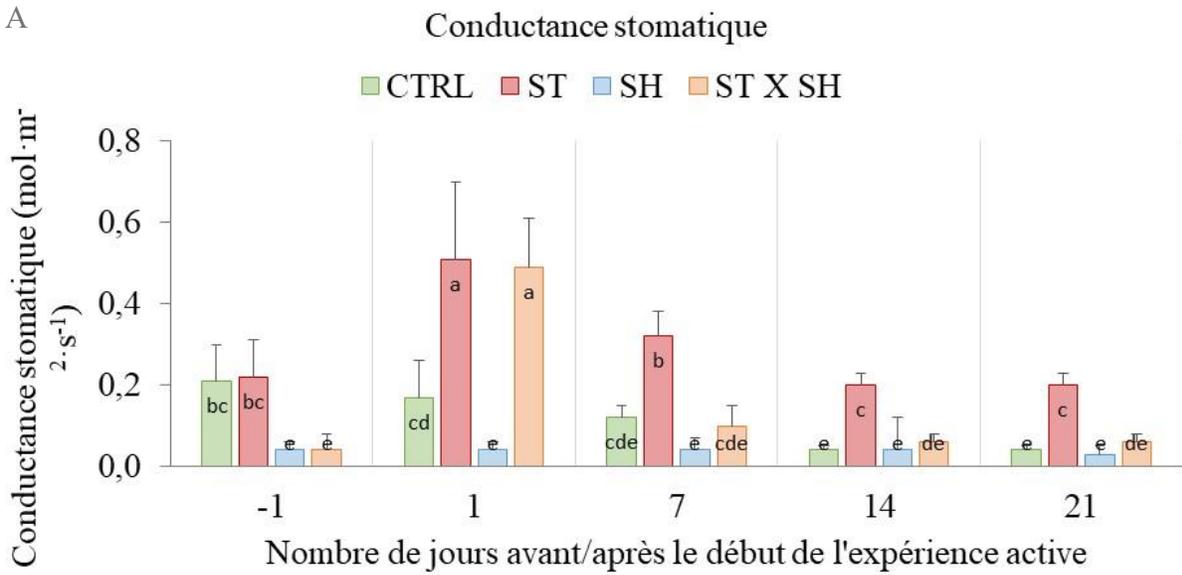


Figure 2.6 Conductance stomatique ( $\text{mmol}^{-1}$ ) et transpiration ( $\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) du cépage Riesling soumis à un stress thermique (ST), hydrique (SH) ou combiné (ST X SH) pendant 21 jours et comparé à un contrôle (CTRL). Les valeurs représentent la moyenne de 8 réplicats biologiques (plants)  $\pm$  l'écart-type. Les valeurs avec des lettres différentes indiquent une différence significative (Test de Tukey à  $P \leq 0,05$ ).

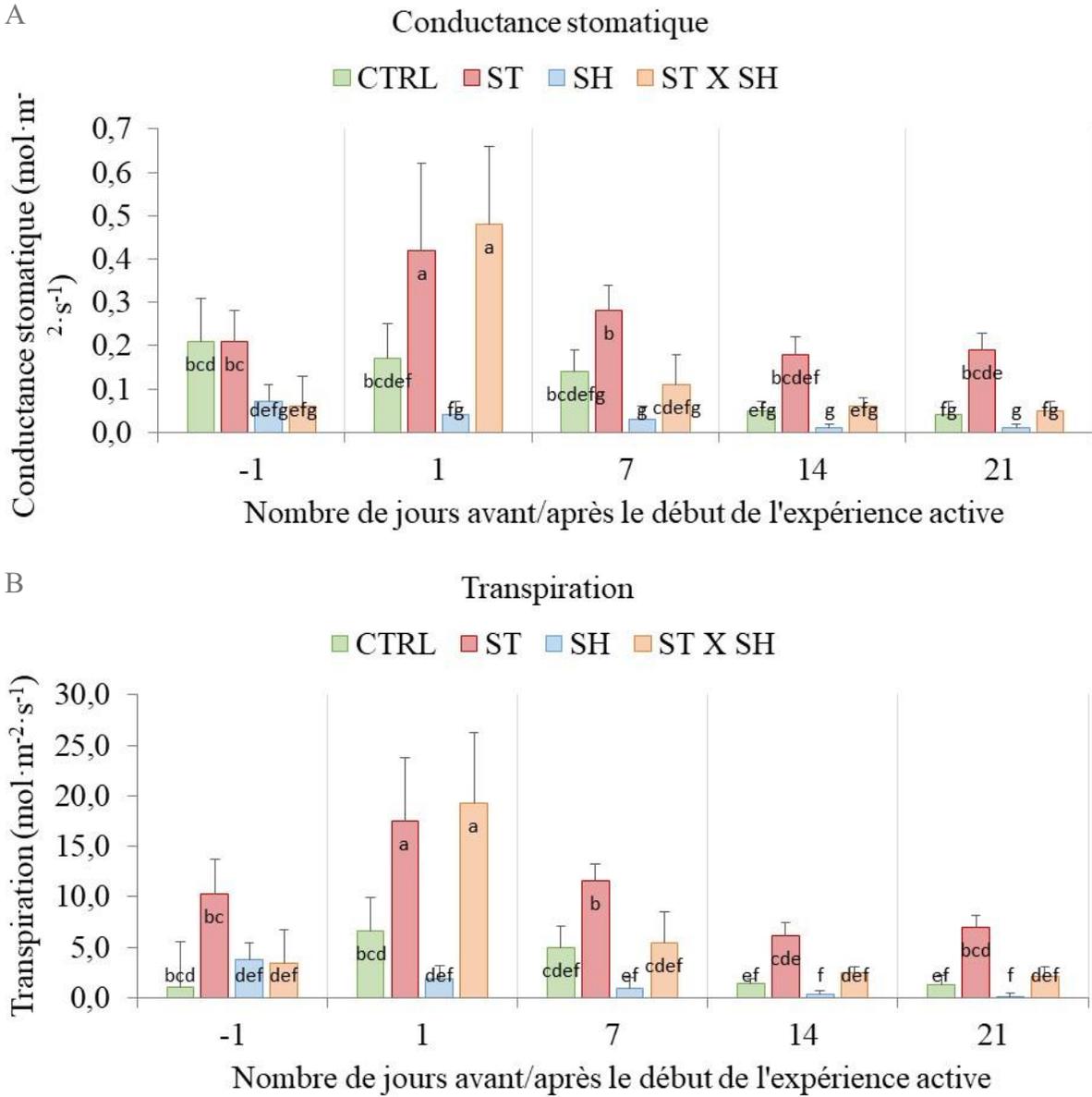


Figure 2.7 Conductance stomatique ( $\text{mmol}^{-1}$ ) et transpiration ( $\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) du cépage Vidal soumis à un stress thermique (ST), hydrique (SH) ou combiné (ST X SH) pendant 21 jours et comparé à un contrôle (CTRL). Les valeurs représentent la moyenne de 8 réplicats biologiques (plants)  $\pm$  l'écart-type. Les valeurs avec des lettres différentes indiquent une différence significative (Test de Tukey à  $P \leq 0,05$ ).

### 2.6.3 Produits métaboliques

En ce qui concerne les données métabolomiques, des valeurs de  $\log_2 \text{fold change}$  ont été calculées afin d'évaluer les variations des réponses métabolomiques entre les différents traitements pour chaque cépage (**Figure 2.8; Figure 2.9; Figure 2.10; Figure 2.11**).

Plusieurs acides aminés et organiques, composés phénoliques et sucres ont été significativement augmentés dans tous les cépages pour les traitements **ST** et **ST X SH** par rapport au **CTRL**. À l'inverse, ces mêmes groupes de molécules ont été significativement diminués pour le traitement **SH** par rapport aux **CTRL** et **SH** par rapport à **ST**. Comparativement aux contrôles, le traitement **SH** est celui ayant le moins influencé le profil métabolique des feuilles de vigne, tous cépages confondus (**Figure 2.8; Figure 2.9; Figure 2.10; Figure 2.11**).

#### 2.6.3.1 Acides organiques

Parmi les acides organiques (**Figure 2.8; Figure 2.9; Figure 2.10; Figure 2.11**), neuf ont été régulés à la hausse sous l'effet du traitement **ST** comparé au **CTRL**, puis huit ont été régulés à la hausse sous l'effet du traitement **ST X SH**. Les composés acide 2-furoïque, acide 3-phosphoglycérique, acide citrique, acide gluconique, acide malique, acide maléique et acide pyruvique dans les feuilles sous l'effet du traitement **ST** étaient significativement régulés à la hausse ( $P \leq 0,05$ ) par rapport au **CTRL**. Les acide 2-furoïque, citrique et *trans*-indole-3-acrylique dans les feuilles sous l'effet du traitement **ST X SH** ont été significativement régulés à la hausse ( $P \leq 0,05$ ) dans les feuilles par rapport au **CTRL**.

À l'opposé, neuf acides organiques ont significativement ( $P \leq 0,05$ ) été régulés à la baisse sous l'effet du traitement **SH** comparé au **ST** : les acides 2-furoïque, 3-phosphoglycérique, citrique, gluconique, tartrique, pyruvique, *trans*-3-indoleacrylique, malique et maléique.

#### 2.6.3.2 Acides aminés

Parmi les acides aminés (**Figure 2.8; Figure 2.9; Figure 2.10; Figure 2.11**), acide glutamique, acide thréonique, tyrosine, O-ureido-D-serine et phénylalanine ont été significativement régulés à la hausse ( $P \leq 0,05$ ) sous l'effet du traitement **ST** par rapport au **CTRL**. De plus, les molécules acide aspartique, glutamine, proline, acide glutamique, histidine, isoleucine, acide pyroglutamique,

thréonine, tyrosine, leucylproline, N-Éthylglycine, *O*-ureido-D-serine, trigonelline, acide pipecolique, tryptophane et serine ont été significativement régulés à la hausse ( $P \leq 0,05$ ) sous l'effet du traitement **ST X SH** comparé au **CTRL**.

À l'opposé, les acides aminés acide aspartique, glutamine, acide quinique, serine, isoleucine, acide aspartique, acide glutamique, acide pyroglutamique, acide thréonique, thréonine, tyrosine, leucylproline, N-Éthylglycine, *O*-ureido-D-serine, trigonelline, acide pipecolique, N-méthylproline ont été significativement régulés à la baisse ( $P \leq 0,05$ ) sous l'effet du traitement **SH** par rapport au **ST**.

### 2.6.3.3 Composés phénoliques

Les composés phénoliques (**Figure 2.8; Figure 2.9; Figure 2.10; Figure 2.11**) acide 4-coumarique, épicatechine, acide gentistique, naringénine chalcone, phloretin, acide phosphoénolpyruvique, dopamine, catéchine, épigallocatechine gallate, acide férulique, lariciresinol 4-*O*-glucoside, quercétine, quercétine-3 $\beta$ -D-glucoside, rutine, trifoline, 3,4-Dihydroxybenzaldehyde, acide 3,4-Dihydroxyphenylacétique, acide isoférulique, acide caféique, acide ellagique, myricétine et phlorétine ont été significativement régulés à la hausse ( $P \leq 0,05$ ) sous l'effet du traitement **ST** par rapport au **CTRL**. De plus, les molécules acide gentistique, dopamine, acide caféique, *cis*-Resvératrol, phlorétine, quercétine, quercétine-3 $\beta$ -D-glucoside et rutine ont significativement été régulés à la hausse ( $P \leq 0,05$ ) sous l'effet du traitement **ST X SH** par rapport au **CTRL**.

À l'opposé, les composés phénoliques 2,4,6-trihydroxyacétophénone, 3,4-dihydroxybenzaldéhyde, acide 4-coumarique, acide caféique, catéchine, acide chlorogénique, *cis*-Resvératrol, épicatechine, acide férulique, fisétine, acide gentistique, lariciresinol 4-*O*-glucoside, myricétine, naringénine chalcone, phlorétine, acide phosphoénolpyruvique, quercétine, rutine, dopamine, épigallocatechine gallate, resvératrol, taxifoline, kaempferol-3-*O*-*B*-galactoside, acide isoférulique, phénylaldéhyde, acide ellagique, myricétine et naringénine ont été significativement régulés à la baisse ( $P \leq 0,05$ ) sous l'effet du traitement **SH** par rapport au **ST**.

#### 2.6.3.4 Sucres

Les sucres (**Figure 2.8; Figure 2.9; Figure 2.10; Figure 2.11**) galactose, uridine 5'-diphosphogalactose, tréhalose, fructose,  $\alpha$ -D-mannose-1-phosphate et lyxose ont été significativement régulés à la hausse ( $P \leq 0,05$ ) sous l'effet du traitement **ST** par rapport au **CTRL**. De plus, les sucres maltose, glucose 1-phosphate et uridine 5'-diphosphogalactose ont significativement été régulés à la hausse ( $P \leq 0,05$ ) sous l'effet du traitement **ST X SH** par rapport au **CTRL**.

À l'opposé, les sucres galactose, maltose, sédoheptulose 7-phosphate, glucose 1-phosphate, uridine 5'-diphosphogalactose,  $\alpha, \alpha$ -trehalose, fructose,  $\alpha$ -D-Mannose 1-phosphate, lyxose ont été significativement régulé à la baisse ( $P \leq 0,05$ ) sous l'effet du traitement **SH** par rapport au **ST**.

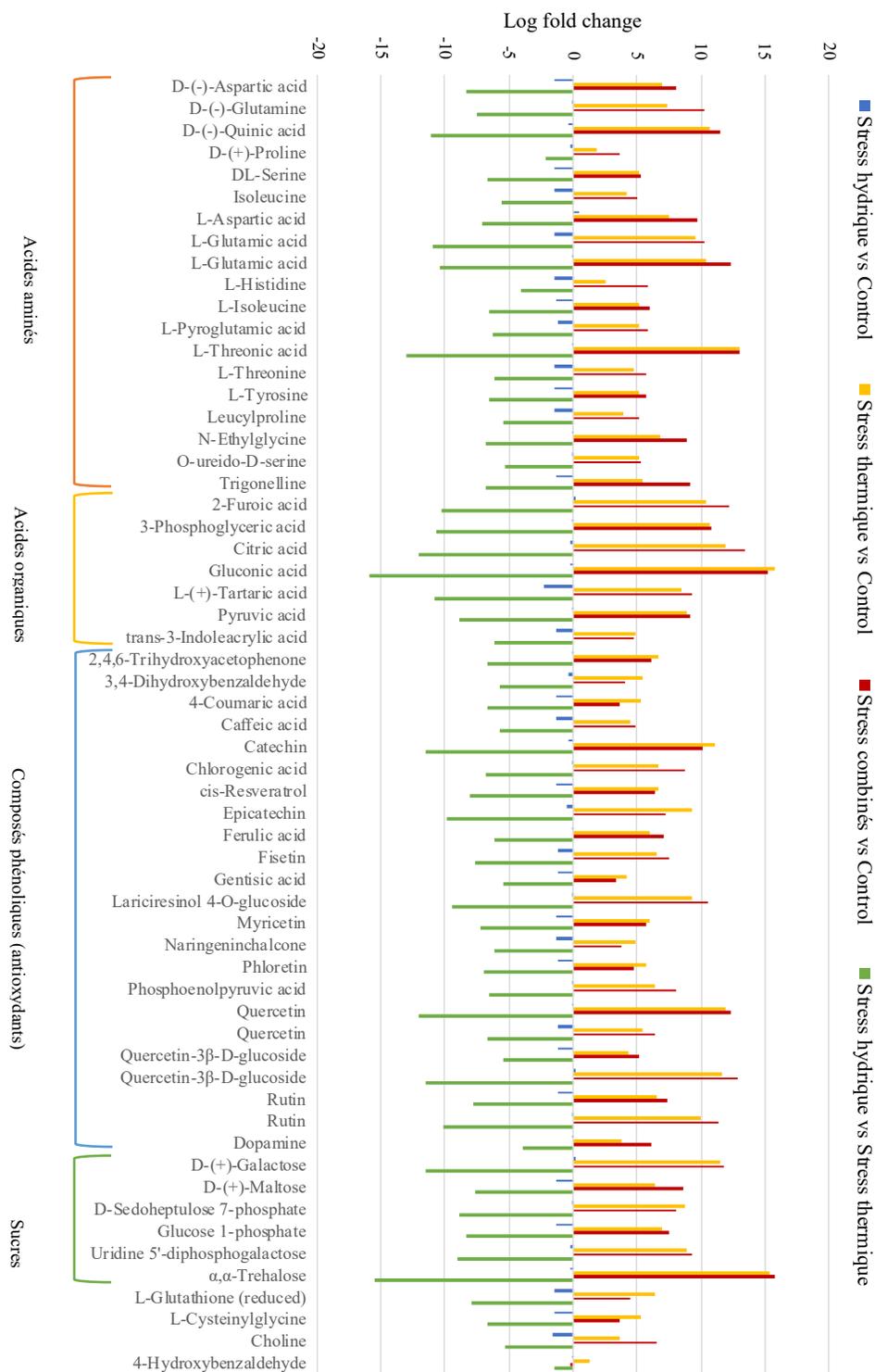


Figure 2.8 Effet des traitements, i.e. stress hydrique vs contrôle, stress thermique vs contrôle, stress combinés vs contrôle, stress hydrique vs stress thermique, sur le profil métabolique des feuilles (niveau de confiance 2) de Cabernet franc 21 jours suivant le début des traitements.

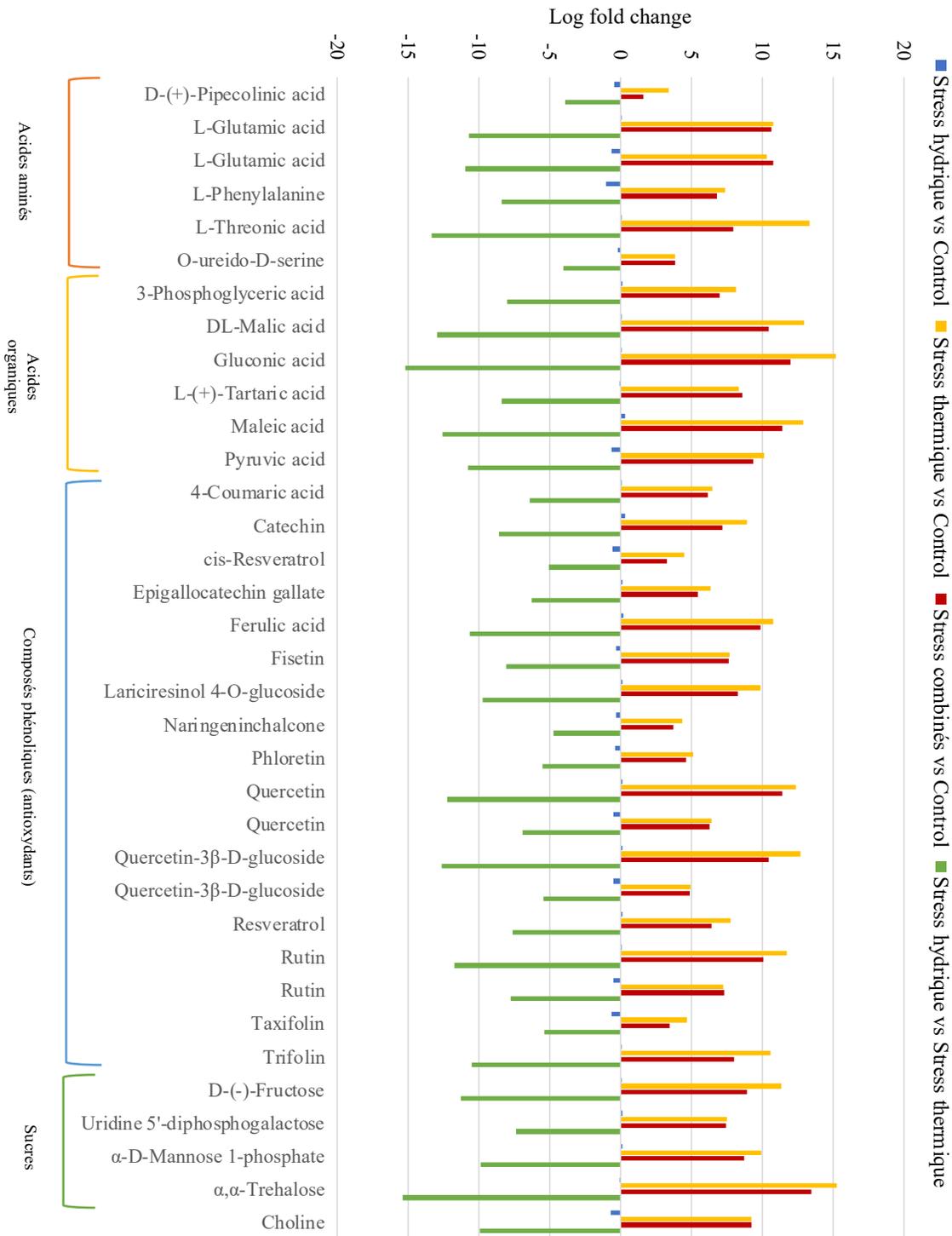


Figure 2.9 Effets des traitements, i.e. stress hydrique vs contrôle, stress thermique vs contrôle, stress combinés vs contrôle, stress hydrique vs stress thermique, sur le profil métabolique des feuilles (niveau de confiance 2) de Marquette 21 jours suivants le début des traitements.

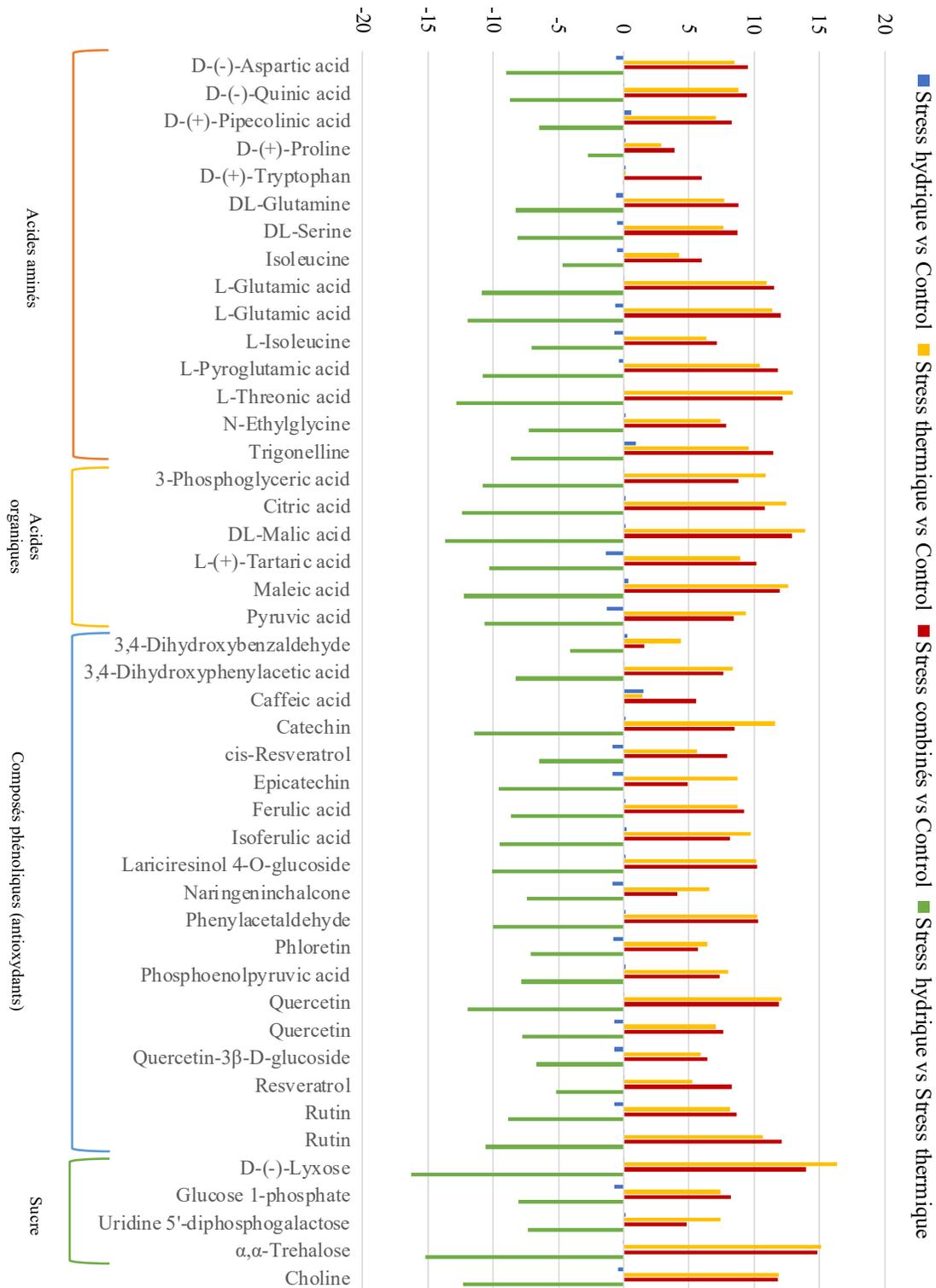


Figure 2.10 Effets des traitements, i.e. stress hydrique vs contrôle, stress thermique vs contrôle, stress combinés vs contrôle, stress hydrique vs stress thermique, sur le profil métabolique des feuilles (niveau de confiance 2) de Riesling 21 jours suivant le début des traitements.

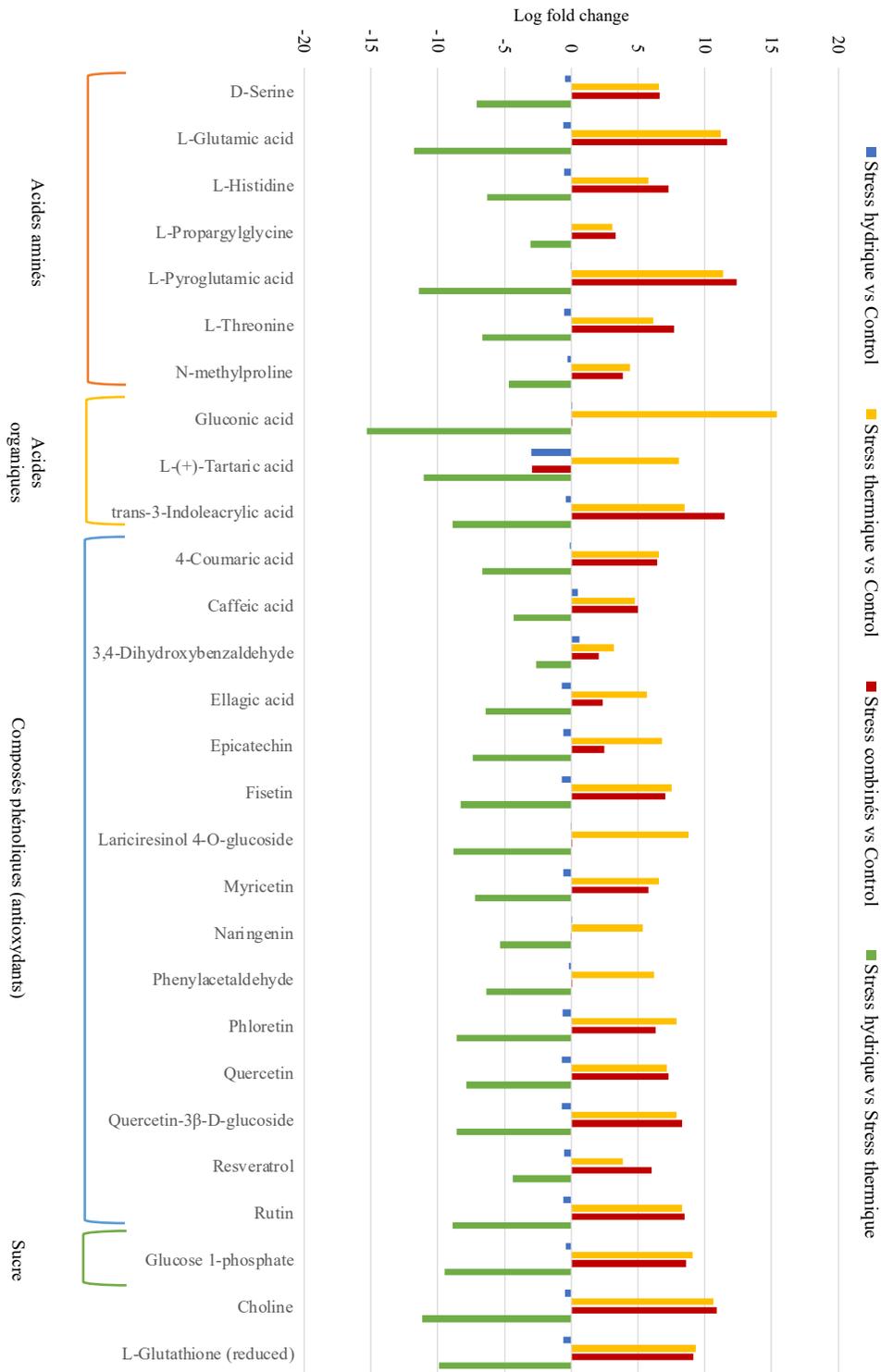


Figure 2.11 Effets des traitements, i.e. stress hydrique vs contrôle, stress thermique vs contrôle, stress combinés vs contrôle, stress hydrique vs stress thermique, sur le profil métabolique des feuilles (niveau de confiance 2) de Vidal 21 jours suivant le début des traitements.

## 2.7 Discussion

### 2.7.1 Impact des stress sur la physiologie

Pour survivre dans des conditions de stress, les plantes doivent activer des voies de signalisation spécifiques au stress, qui conduisent à des changements morphologiques, physiologiques et biochimiques qui leur permettent de s'adapter à l'environnement défavorable. Dans le cadre de notre expérience, le traitement **ST** a induit une réponse significativement plus élevée chez les cépages Marquette, Riesling et Vidal par rapport au **CTRL**. Au niveau de la réponse physiologique, les taux de conductance stomatique ( $g_{sw}$ ) et de transpiration ( $E$ ) étaient largement supérieurs aux trois autres traitements (**Figure 2.2**; **Figure 2.3**). La transpiration, conduite via la conductance de l'eau via les stomates, se définit comme la différence de pression de vapeur d'eau intercellulaire et atmosphérique divisée par la pression atmosphérique totale (Venios *et al.*, 2020). Celle-ci constitue le principal processus de contrôle de la température (rafraîchissement dans le cas présent) des feuilles ; elle vise à maintenir la température des feuilles en dessous d'une limite maximale d'environ 35 à 40 °C, température à laquelle le processus de photosynthèse considérablement entravé. La réponse observée dans nos plantes expérimentales est en accord avec celle observée par Keenan *et al.* (2010) chez des vignes Sémillon, où le taux de transpiration a augmenté significativement avec l'augmentation de la température des feuilles, en particulier dans des conditions de stress thermique élevé (température ambiante supérieure à 35°C).

La vigne, comme d'autres plantes, a développé une variété de réponses coordonnées afin de maintenir l'homéostasie et faire face aux stress abiotiques tels que le stress hydrique et le stress thermique (Zhou *et al.* 2017). La fermeture des stomates et, par conséquent, une diminution de la conductance stomatique et de la transpiration de la feuille sont des réponses connues aux stress et servent donc d'indicateurs de la présence d'un stress hydrique ou thermique (Venios *et al.* 2020). Tous cépages confondus, le traitement **ST** est celui ayant engendré la plus grande augmentation de la conductance stomatique ( $\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) et de la transpiration ( $\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) des feuilles après 21 jours d'expérience active ( $T_{+21}$ ) (**Figure 2.2**; **Figure 2.3**). Ces résultats confirment que, tel qu'anticipé, la serre expérimentale chauffée a augmenté significativement la conductance stomatique et la transpiration chez les cépages Marquette, Riesling et Vidal soumis à un stress thermique (**ST**) par rapport aux plants contrôle (**CTRL**). Par contre, les taux de conductance

stomatique ( $\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) et de transpiration ( $\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) pour le traitement **ST X SH** était égal à celui des plantes contrôles (**CTRL**). Ces résultats démontrent que le stress thermique seul provoque un niveau de stress significativement plus élevé que le traitement **CTRL**, engendrant un taux de transport plus élevé de l'eau dans la plante et de son évaporation par les feuilles.

### 2.7.2 Impacts des stress sur le métabolisme

Les perturbations physiologiques causées par les stress abiotiques induisent un débalancement des processus métaboliques qui résulte en une modification de l'équilibre rédox des cellules (Kumar *et al.*, 2021). En situation d'équilibre, les effets des radicaux libres générés par l'activité cellulaire sont neutralisés efficacement par les processus cellulaires normaux (Kumar *et al.*, 2021). Lorsque la plante est en situation de stress, on assiste à une augmentation de la quantité d'espèces réactives de l'oxygène (radicaux libres ; ROS) par rapport à la capacité antioxydante des cellules. La plante doit donc produire davantage de molécules antioxydantes pour neutraliser ces radicaux libres additionnels (Kumar *et al.*, 2021). Ces différences dans l'état rédox des cellules sont observables par métabolomique non ciblée (Kumar *et al.*, 2021).

Les stress étudiés dans le cadre de ce projet, principalement les stress thermique (**ST**) et combinés (**ST X SH**), ont tous engendré une production significativement plus élevée de plusieurs métabolites indicateurs de stress chez les plantes expérimentales, incluant un grand nombre d'antioxydants et certains osmolytes de différentes classes, incluant : proline, quercétine, rutin, acide férulique et acide chlorogénique. Parmi ceux-ci, l'acide férulique est un puissant antioxydant pouvant améliorer l'intégrité des membranes cellulaires sous divers stress abiotiques (Kumar *et al.*, 2021).

#### 2.7.2.1 Stress hydrique

Bien que relativement léger, le stress hydrique (**SH**) a tout de même conduit à une régulation à la hausse de plusieurs composés phénoliques tels que l'acide 4-coumarique chez les cépages Cabernet franc (+5.3  $\log_2$  FC), Marquette (+6.5  $\log_2$  FC) et Vidal (+6.6  $\log_2$  FC). Une tendance similaire a été observée pour l'acide malique, l'acide glutamique, l'acide férulique, la quercétine et la rutine pour le cépage Marquette. De façon similaire, Griesser *et al.* (2015) a observé une régulation à la

hausse de composés phénoliques chez *Vitis vinifera* cv. Pinot noir sous l'effet d'un traitement de sécheresse, incluant plusieurs acides phénoliques (acide férulique, acide 4-coumarique, acide caféique, acide caftarique), des flavan-3-ols (catéchine, épicatechine, epicatechin gallate), des stilbènes (*cis*-resvératrol-3-*O*-glucoside, *trans*-resvératrol-3-*O*-glucoside), des flavonoïdes (quercetin-3-*O*-glucuronide, kaempferol-3-*O*-glucoside, quercetin-3-*O*-glucoside) et des anthocyanines (cyanidin-3-*O*-glucoside). Les composés phénoliques figurent parmi les principaux antioxydants retrouvés dans les végétaux où ils forment un groupe très diversifié (Kumar *et al.*, 2021). Les plantes qui produisent plus d'acides phénoliques en réponse aux stress abiotiques ont tendance à être plus adaptables aux contraintes environnementales (Riaz *et al.*, 2023).

#### 2.7.2.2 Impacts des stress thermique et combinés sur le métabolisme

Selon l'analyse des profils métaboliques, le cépage *V. vinifera* Cabernet franc est celui ayant démontré le moins de tolérance aux stress imposés, surtout lorsque ces stress se sont additionnés (**SH X ST**). Ce cépage a notamment montré une réponse métabolique plus forte au stress combiné (**ST X SH**) comparativement au traitement **ST**, notamment par l'augmentation significative des composés suivants : acide glutamique (ST : +10,4 ; ST X SH : +12,3 Log<sub>2</sub> FC), acide furoïque (ST : +10,5 ; ST X SH : +12,2 Log<sub>2</sub> FC), acide citrique (ST : +11,9 ; ST X SH : +13,4 Log<sub>2</sub> FC), dopamine (ST : +3,8 ; ST X SH : +6,2 Log<sub>2</sub> FC) (**Figure 2.10**). À noter que ces augmentations sont majeures en comparaison avec d'autres études similaires (Savoi *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2022).

Les cépages Marquette et Vidal n'ont pas montré une réaction accrue lorsqu'ils ont été soumis à une combinaison de stress (**ST X SH**) comparativement au stress thermique (**ST**) pour les composés suivants : Marquette : acide thréonique (ST : +13,4 ; ST X SH : +8,0 Log<sub>2</sub> FC), acide malique (ST : +13,0 ; ST X SH : +10,5 Log<sub>2</sub> FC), acide gluconique (ST : +15,2 ; ST X SH : +12,0 Log<sub>2</sub> FC), quercétine (ST : +12,4 ; ST X SH : +11,4 Log<sub>2</sub> FC), fructose (ST : +11,4 ; ST X SH : +8,9 Log<sub>2</sub> FC), ; Vidal : acide gluconique (ST : +15,4 ; ST X SH : +0,1 Log<sub>2</sub> FC), acide tartarique (ST : +8,1 ; ST X SH : -3,0 Log<sub>2</sub> FC), acide éllagique (ST : +5,7 ; ST X SH : +2,3 Log<sub>2</sub> FC), épicatechine (ST : +6,8 ; ST X SH : +2,5 Log<sub>2</sub> FC) (**Figures 2.9 et 2.11**).

Cela suggère qu'en situation de combinaison de stress (**ST X SH**), le cépage Cabernet franc produit davantage d'antioxydants afin de tenter d'enrayer le stress oxydatif (**Figure 2.10**). Au niveau

métabolique, les cépages hybrides ont montré globalement une réponse similaire entre les stress thermique et combinés, ce qui pourrait indiquer une plus grande stabilité de l'appareil cellulaire face aux stress oxydatifs et, conséquemment, une plus grande résistance chez ces cépages.

Le tréhalose a été régulé à la hausse de façon importante chez les plantes soumises à un stress thermique (ST) et à un stress combinés (ST X SH), chez tous les cépages (+15,1 à 15,3 Log<sub>2</sub> FC), excepté le cépage hybride Vidal (Figures 2.10, 2.11 et 2.12). Le tréhalose contribue à en protéger les membranes et les macromolécules (Luo *et al.*, 2008). Il a en outre montré une activité antioxydante dans le blé (*Triticum aestivum* L.) soumis à un stress thermique (ST), où il a éliminé les radicaux libres issus du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) et de l'oxygène (O<sub>2</sub>) (Luo *et al.* 2008).

L'acide glutamique, un acide aminé jouant un rôle central dans le métabolisme des acides aminés en tant que précurseur d'autres acides aminés comme la proline, a été significativement régulée à la hausse pour les cépages Cabernet franc (+10.4 log<sub>2</sub> FC), Marquette (+10.3 log<sub>2</sub> FC) et Vidal (+11.2 log<sub>2</sub> FC) soumis à un stress thermique (ST) (Figures 2.10, 2.11, 2.13). Il a été démontré que l'application externe d'acide glutamique peut atténuer les dommages causés par le stress thermique chez les plantes en plus d'améliorer la croissance et les caractéristiques physiologiques (Quan *et al.*, 2022). L'acide glutamique, en plus d'être impliqué dans l'assimilation de l'azote et les réactions des amino transférases chez les plantes, est aussi le précurseur de l'acide 5-aminolévulinique dans la synthèse de la chlorophylle des feuilles en développement (Quan *et al.*, 2022).

D'autres molécules antioxydantes telles que la dopamine, une amine naturellement présente chez les plantes et les animaux possédant une forte capacité antioxydante (Ahammed et Li, 2023), la trigonelline, un alcaloïde connu pour son rôle d'inducteur du métabolisme défensif chez les plantes (Tramontano et Jouve, 1997), y compris du métabolisme du glutathion et sur l'accumulation de composés de défense secondaire (Minorsky, 2002), ont été régulés à la hausse chez les cépages étudiés, en réponse aux stress imposés. Ainsi, la dopamine a été régulée à la hausse chez le cépage *V. vinifera* Cabernet franc soumis aux stress thermiques (ST) (+3,8 Log<sub>2</sub> FC) et combinés (ST X SH) (+6,2 Log<sub>2</sub> FC). La dopamine atténue le stress oxydatif engendré par les stress abiotiques en améliorant la défense antioxydante par l'élimination d'espèces réactives à l'oxygène (Ahammed

& Li, 2023). L'alcaloïde trigonelline a été régulé à la hausse chez les cépages *V. vinifera* Cabernet franc (+9,1 Log<sub>2</sub> FC) et Riesling (+11,5 Log<sub>2</sub> FC) pour le traitement **ST X SH**. Ce métabolite est connu pour son rôle d'inducteur du métabolisme défensif chez les plantes, y compris du métabolisme du glutathion et sur l'accumulation de composés de défense secondaire (Minorsky, 2002).

Les stress abiotiques sont les principaux responsables des pertes de productivité de la vigne. À l'heure actuelle, les changements climatiques exercent une pression grandissante sur la viticulture, notamment par la fréquence plus élevée de vagues de chaleur et d'épisodes de sécheresse plus sévères. Par conséquent, le développement de nouvelles pratiques viticoles et l'identification de cépages présentant une résilience accrue sont essentiels. Dans cette expérience soumettant deux cépages européens et deux cépages hybrides à l'effet combiné ou individuel d'un stress hydrique et thermique, il a été possible de comparer les réponses physiologiques et métabolomique des différents cépages, d'identifier plusieurs réponses physiologiques et métaboliques aux stress abiotiques telles que :

- (1) Le stress thermique est celui qui a engendré la réponse physiologique la plus forte chez tous les cépages au niveau physiologique, avec les plus hauts taux de conductance stomatique et de transpiration.
- (2) les régulations métaboliques à la hausse et à la baisse de différents groupes de molécules, le cépage Cabernet franc est celui ayant démontré le moins de tolérance aux stress imposés. À l'opposé, les cépages Marquette et Vidal ont été davantage résistants.

## CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES

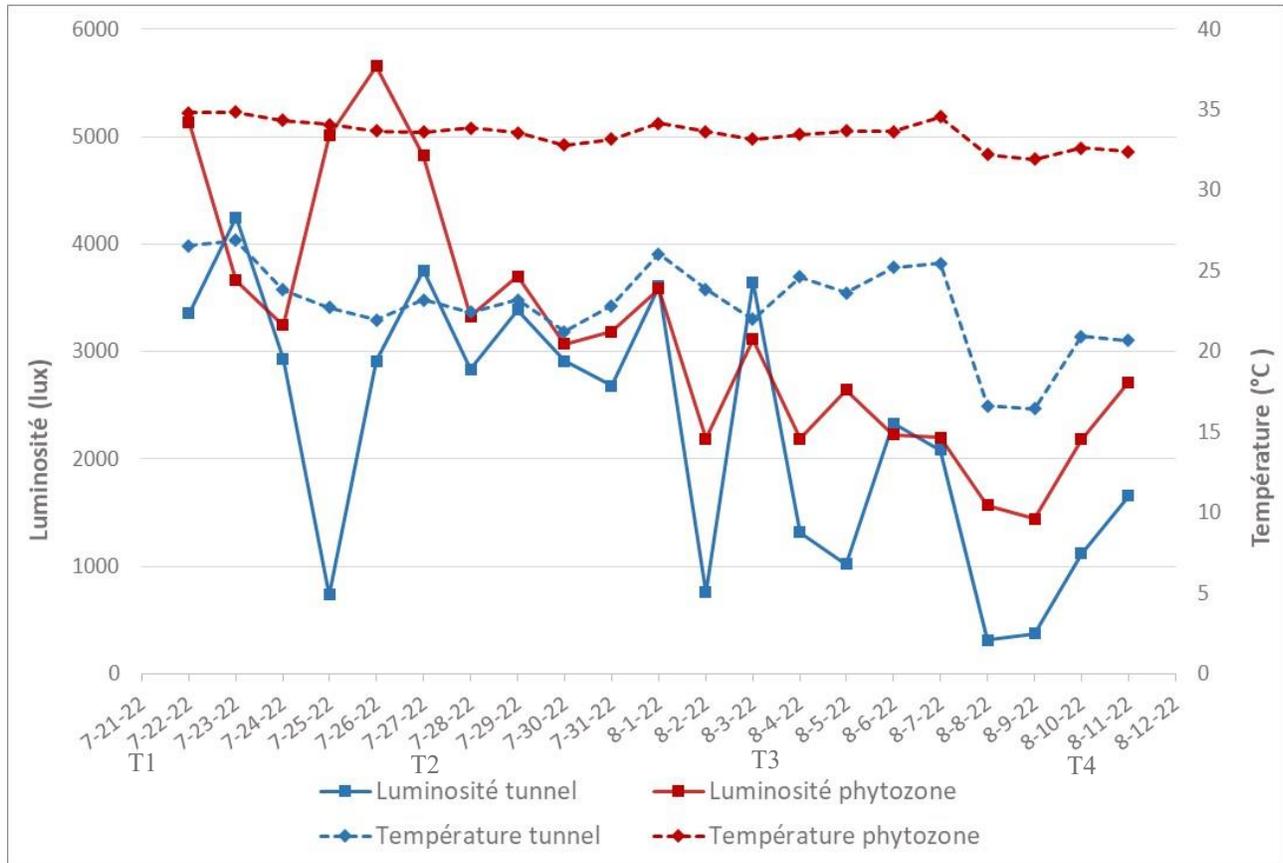
Cette étude avait pour but de tester l'hypothèse selon laquelle le stress thermique et le stress hydrique, seuls ou combinés, peuvent modifier (a) la phénologie des plants, (b) la physiologie et (c) le profil métabolique des feuilles de vigne de *Vitis* sp. Cabernet franc, Marquette, Riesling et Vidal. Pour ce faire, nous avons étudié les changements physiologiques et métaboliques des feuilles de vigne, suite à un stress hydrique, à un stress thermique et à une combinaison des deux, pendant 21 jours.

Les résultats obtenus dans ce projet de recherche ont permis de valider l'hypothèse établie et de montrer l'impact de ces stress sur les taux d'échanges gazeux, la température des feuilles ainsi que la réponse métabolique. Selon nos résultats, la réponse de différents cépages à l'augmentation des températures causées par les changements climatiques pourrait modifier de façon significative la production des métabolites associés au métabolisme primaire et secondaire de *Vitis* sp. Cabernet franc, Marquette, Riesling et Vidal. Côté métabolique, les cépages européens, Cabernet franc et Riesling, ont été plus affectés par le stress thermique seul ou combinés au stress hydrique. De manière générale, le stress ayant le plus affecté les plantes est le stress thermique (ST).

Les changements climatiques menacent nos écosystèmes et l'agriculture mondiale et nous manquons encore de connaissances pour prédire de façon précise comment les cultures répondront à ces nouveaux défis. Au niveau de la viticulture, une compréhension claire des réponses de la vigne au déficit hydrique est cruciale pour répondre aux préoccupations des vignerons. Les variétés plus résilientes aux stress abiotiques tels que la sécheresse et la chaleur intense devront être prioritaires afin de conserver de bons rendements.

## ANNEXE A

### Température et luminosité journalières moyennes dans le tunnel et le phytozone durant l'expérience active



## ANNEXE B

**Effets des traitements sur la température (°C), la longueur (cm), la transpiration ( $\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) et la conductance stomatique ( $\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) des feuilles de *Vitis* sp. aux temps d'échantillonnage -1 et 21 jours**

			Temp. extérieure (°C)				Temp. feuille (°C)				Long. feuille (cm)				Transpiration ( $\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )				Cond. stomatique ( $\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )			
<b>Effets simples</b>																						
<b>Temps (n=8)</b>																						
-1			36,1	±	1,8	A	34,2	±	2,4	A	10,0	±	1,0	B	5,9	±	4,5	A	0,1	±	0,1	A
21			28,6	±	4,1	B	28,7	±	4,9	B	10,2	±	1,1	A	2,6	±	2,6	B	0,1	±	0,1	B
<i>Pr &gt; F</i>			<,0001				<,0001				0,0177				<,0001				<,0001			
<b>Cépage</b>																						
Cabernet franc			32,4	±	4,9		31,6	±	4,8		9,8	±	0,8	B	4,0	±	3,8		0,1	±	0,1	B
Marquette			32,3	±	4,9		31,6	±	4,8		10,7	±	1,0	A	3,7	±	3,6		0,1	±	0,1	B
Riesling			32,2	±	5,0		31,2	±	4,7		9,2	±	0,7	C	4,5	±	4,3		0,1	±	0,1	A
Vidal			32,4	±	5,0		31,4	±	4,7		10,7	±	1,0	A	4,7	±	4,4		0,1	±	0,1	A
<i>Pr &gt; F</i>			0,8490				0,3317				<,0001				0,0575				0,0085			
<b>Stress hydrique</b>																						
non			32,4	±	4,9		30,7	±	4,2	B	10,1	±	1,0		6,3	±	4,4	A	0,1	±	0,1	A
oui			32,3	±	4,9		32,2	±	5,2	A	10,2	±	1,1		2,1	±	1,9	B	0,0	±	0,0	B
<i>Pr &gt; F</i>			0,8519				<,0001				0,2445				<,0001				<,0001			
<b>Stress thermique</b>																						
non			30,4	±	6,0	B	29,1	±	5,5	B	10,2	±	1,1		3,6	±	4,2	B	0,1	±	0,1	B
oui			34,2	±	2,3	A	33,8	±	1,9	A	10,0	±	1,0		4,9	±	3,7	A	0,1	±	0,1	A
<i>Pr &gt; F</i>			<,0001				<,0001				0,1676				<,0001				<,0001			
<b>Interactions</b>																						

<b>Cépage</b>	<b>Stress hydrique</b>																					
Cabernet franc	non		32,3	±	5,0		30,9	±	4,4		9,8	±	0,8		5,9	±	4,4		0,1	±	0,1	B
Cabernet franc	oui		32,4	±	4,9		32,3	±	5,2		9,8	±	0,7		2,1	±	1,6		0,0	±	0,0	C
Marquette	non		32,4	±	4,8		30,8	±	4,2		10,5	±	0,8		5,2	±	4,1		0,1	±	0,1	B
Marquette	oui		32,3	±	5,0		32,5	±	5,3		10,9	±	1,1		2,1	±	2,2		0,0	±	0,0	C
Riesling	non		32,1	±	5,1		30,2	±	4,0		9,2	±	0,7		7,1	±	4,6		0,2	±	0,1	A
Riesling	oui		32,2	±	4,9		32,1	±	5,2		9,2	±	0,7		2,0	±	1,5		0,0	±	0,0	C
Vidal	non		32,6	±	5,0		30,8	±	4,1		10,7	±	0,8		7,1	±	4,6		0,2	±	0,1	A
Vidal	oui		32,2	±	5,0		32,1	±	5,2		10,7	±	1,1		2,4	±	2,3		0,0	±	0,0	C
<i>Pr &gt; F</i>			0,8015				0,5970				0,5546				0,0781				<b>0,0308</b>			
<b>Temps</b>	<b>Stress hydrique</b>																					
-1	non		36,1	±	1,9		33,1	±	1,6	B	10,0	±	0,9		8,9	±	4,2	A	0,2	±	0,1	A
-1	oui		36,0	±	1,8		35,4	±	2,4	A	10,0	±	1,0		2,9	±	2,2	B	0,0	±	0,0	C
21	non		28,6	±	4,1		28,3	±	4,6	D	10,2	±	1,0		3,8	±	3,0	B	0,1	±	0,1	B
21	oui		28,6	±	4,1		29,1	±	5,2	C	10,3	±	1,2		1,3	±	1,2	C	0,0	±	0,0	C
<i>Pr &gt; F</i>			0,8793				<b>0,0003</b>				0,6273				<b>&lt;,0001</b>				<b>&lt;,0001</b>			
<b>Temps</b>	<b>Stress thermique</b>																					
-1	non		36,3	±	1,5	A	34,3	±	2,4	A	10,1	±	1,0		6,4	±	4,4	A	0,1	±	0,1	A
-1	oui		35,9	±	2,1	A	34,1	±	2,3	AB	9,9	±	1,0		5,5	±	4,6	A	0,1	±	0,1	A
21	non		24,6	±	1,1	C	23,9	±	1,2	C	10,3	±	1,2		0,8	±	0,6	C	0,0	±	0,0	B
21	oui		32,5	±	0,9	B	33,4	±	1,2	B	10,2	±	1,1		4,3	±	2,5	B	0,1	±	0,1	A
<i>Pr &gt; F</i>			<b>&lt;,0001</b>				<b>&lt;,0001</b>				0,8227				<b>&lt;,0001</b>				<b>&lt;,0001</b>			
<b>Stress hydrique</b>	<b>Stress thermique</b>																					
non	non		30,5	±	6,0		28,4	±	4,8		10,1	±	1,0		5,4	±	5,0	B	0,1	±	0,1	B
non	oui		34,2	±	2,4		32,9	±	1,4		10,0	±	0,9		7,3	±	3,7	A	0,2	±	0,1	A
oui	non		30,3	±	6,0		29,7	±	6,1		10,2	±	1,1		1,7	±	2,0	C	0,0	±	0,0	C
oui	oui		34,2	±	2,3		34,7	±	1,9		10,1	±	1,1		2,5	±	1,8	C	0,0	±	0,0	C

<i>Pr &gt; F</i>			0,9052				0,2816				0,9510				<b>0,0454</b>				<b>0,0082</b>			
<b>Temps</b>	<b>Stress hydrique</b>	<b>Stress thermique</b>																				
-1	non	non	36,3	±	1,4		33,0	±	1,5	CD	10,1	±	1,0		9,6	±	3,6	A	0,2	±	0,1	A
-1	non	oui	35,9	±	2,3		33,1	±	1,7	CD	9,9	±	0,9		8,2	±	4,7	A	0,2	±	0,1	A
-1	oui	non	36,2	±	1,5		35,6	±	2,4	A	10,1	±	1,1		3,1	±	2,0	C	0,1	±	0,0	B
-1	oui	oui	35,9	±	2,0		35,2	±	2,5	AB	10,0	±	1,0		2,7	±	2,3	CD	0,0	±	0,0	BC
21	non	non	24,6	±	1,1		23,9	±	1,4	E	10,2	±	1,1		1,1	±	0,6	DE	0,0	±	0,0	BC
21	non	oui	32,5	±	1,0		32,6	±	0,9	D	10,1	±	0,9		6,4	±	1,8	B	0,2	±	0,1	A
21	oui	non	24,6	±	1,0		24,0	±	1,1	E	10,4	±	1,2		0,4	±	0,4	E	0,0	±	0,0	C
21	oui	oui	32,5	±	0,9		34,2	±	0,8	BC	10,2	±	1,2		2,3	±	0,9	CD	0,1	±	0,0	BC
<i>Pr &gt; F</i>			0,9663				<b>0,0180</b>				0,7308				<b>0,0007</b>				<b>&lt;,0001</b>			

<sup>1</sup>Pour une variable donnée, des lettres différentes représentent une différence significative à  $P \leq 0.05$ .

## ANNEXE C

### Liste des composés inclus dans la méthode instrumentale LC-MS/MS (liste des inclusions)

Masse [m/z]	Formule	Mode(s) d'injection(s)	Masse M+H	Masse M-H	Nom du composé
90.05495	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub>	Positif et négatif	90.05495	90.05495	B-Alanine
90.05495	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub>	Positif et négatif	90.05495	90.05495	Sarcosine
104.07060	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>	Positif et négatif	104.07060	102.05605	γ-Aminobutyric acid
106.04987	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>3</sub>	Positif et négatif	106,04987	104,03532	Serine
116.07060	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>	Positif et négatif	116.07060	114.05605	L-proline
118.08626	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	Positif et négatif	118.08626	116.07170	L-valine
119.03389	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	Positif et négatif	119.03389	117.01933	Acide succinique
120.06552	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>3</sub>	Positif et négatif	120,06552	118,05097	L-thréonine
132.06552	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>3</sub>	Positif et négatif	132.06552	130.05097	Hydroxyproline
132.10191	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>	Positif et négatif	132.10191	130.08735	L-isoleucine
132.10191	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>	Positif et négatif	132.10191	130.08735	L-leucine
133.06077	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Positif et négatif	133,06077	131,04622	L-(+)-asparagine
134.04478	C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>4</sub>	Positif et négatif	134.04478	132.03023	Acide DL-aspartique
135.02880	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	Positif et négatif	135,0288	133,01425	Acide DL-malique
139.03897	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	Positif et négatif	139.03897	137.02442	Acide salicylique
147.07642	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Positif et négatif	147,07642	145,06187	L-glutamine
147.11280	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Positif et négatif	147,1128	145,09825	L-lysine
148.06043	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>4</sub>	Positif et négatif	148.06043	146.04588	Acide L-glutamique
149.05971	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	Positif et négatif	149,05971	147,04515	Acide cinnamique
150.05833	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub> S	Positif et négatif	150.05833	148.04377	L-méthionine
151.02371	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>6</sub>	Positif et négatif	151,02371	149,00916	L-(+)-tartarique
151.06010	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	Positif et négatif	151,0601	149,04555	D-apiose
156.07675	C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	Positif et négatif	156,07675	154,0622	L-histidine
165.05462	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	Positif et négatif	165,05462	163,04007	Acide <i>p</i> -coumaric
166.08626	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	Positif et négatif	166.08626	164.07170	L-phénylalanine
171.02880	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	Positif et négatif	171,0288	169,01425	Acide gallique
175.11895	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	Positif et négatif	175,11895	173,1044	L-arginine
176.07060	C <sub>10</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>	Positif et négatif	176,0706	174,05605	Acide indole 3-acétique
181.07066	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	Positif et négatif	181,07066	179,05611	D-(-)-fructose
181.07066	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	Positif et négatif	181,07066	179,05611	Mannose
182.08117	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>3</sub>	Positif et négatif	182.08117	180.06662	L-tyrosine
205.09715	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Positif et négatif	205,09715	203,0826	L-tryptophane
241.03113	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> S <sub>2</sub>	Positif et négatif	241,03113	239,01657	L-cystine
343.12349	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	Positif et négatif	343,12349	341,10894	Tréhalose
269.04555	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	Négatif	271,0601	269,04555	Baicaline
205.15979	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O	Négatif	207,17434	205,15979	2,4-Di-tert-butylphénol
289.07176	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	Négatif	291,08631	289,07176	Catéchin

227.07137	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>	Négatif	229,08592	227,07137	Resvératrol
301.03538	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>	Négatif	303,04993	301,03538	Quercétine
609.14611	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	Négatif	611,16066	609,14611	Rutin
285.04046	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	Négatif	287,05501	285,04046	Kaempférol
577.13515	C <sub>30</sub> H <sub>26</sub> O <sub>12</sub>	Négatif	579,1497	577,13515	Procyanidine B2
441.08272	C <sub>22</sub> H <sub>18</sub> O <sub>10</sub>	Négatif	443,09727	441,08272	Épicatéchine gallate
289.07176	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	Négatif	291,08631	289,07176	Épicatéchine
311.04086	C <sub>13</sub> H <sub>12</sub> O <sub>9</sub>	Négatif	313,05541	311,04086	Acide trans-caftarique
295.04594	C <sub>13</sub> H <sub>12</sub> O <sub>8</sub>	Négatif	297,06049	295,04594	Acide trans-coutarique
179.03498	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	Négatif	181,04954	179,03498	Acide Cafféique
353.08781	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	Négatif	355,10236	353,08781	Acide chlorogénique
193.05063	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	Négatif	195,06519	193,05063	Acide férulique
389.12419	C <sub>20</sub> H <sub>22</sub> O <sub>8</sub>	Négatif	391,13874	389,12419	Trans-picéide
227.07137	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>	Négatif	229,08592	227,07137	Trans-resvératrol
453.13436	C <sub>28</sub> H <sub>22</sub> O <sub>6</sub>	Négatif	455,14891	453,13436	Trans-e-viniférine
463.08820	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	Négatif	465,10275	463,0882	Quercétine-galactoside
462.08037	C <sub>21</sub> H <sub>19</sub> O <sub>12</sub>	Négatif	464,09493	462,08037	Quercétine-glucoside
447.09329	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	Négatif	449,10784	447,09329	Lutéoline-glucoside
479.08311	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>13</sub>	Négatif	481,09767	479,08311	Myricétine-glucoside
447.09329	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	Négatif	449,10784	447,09329	Kaempférol-glucoside

## ANNEXE D

**Réponses métaboliques au stress hydrique et thermique, seul ou combiné, dans les feuilles de Cabernet franc. Les valeurs correspondent aux logarithmiques en base 2 transformés des facteurs multiplicatifs ( $\log_2$  *fold change* ; stress hydrique/contrôle ; stress thermique/contrôle (ST/CTRL); stress combinés/contrôle (ST X SH/CTRL); stress hydrique/stress thermique (SH/ST); stress combinés/stress thermique (ST X SH/ST)) 21 jours après le début de l'expérience active (T+21)**

	LC/MS-MS métabolites	Polarité	SH/C	ST/C	STXSH/C	SH/ST	STXSH/ST	Légende Log2 Fold Change
Acide aminé	Acide aspartique	ESI+	-1,4	7,0	8,1	-8,4	1,1	-3
Acide aminé	Glutamine	ESI-	-0,1	7,4	10,3	-7,5	2,9	-2 à -3
Acide aminé	Acide quinique	ESI-	-0,4	10,7	11,5	-11,1	0,8	-1 à -2
Acide aminé	Proline	ESI+	-0,2	1,9	3,6	-2,1	1,7	0 à -1
Acide aminé	Serine	ESI+	-1,4	5,2	5,3	-6,6	0,1	0 à 1
Acide aminé	Isoleucine	ESI+	-1,4	4,2	5,0	-5,6	0,8	1 à 2
Acide aminé	Acide aspartique	ESI-	0,4	7,5	9,7	-7,0	2,2	2 à 3
Acide aminé	Acide glutamique	ESI+	-1,4	9,5	10,3	-10,9	0,7	3 et +
Acide aminé	Acide glutamique	ESI-	-0,1	10,4	12,3	-10,4	2,0	
Acide aminé	Histidine	ESI+	-1,5	2,6	5,9	-4,0	3,4	
Acide aminé	Isoleucine	ESI+	-1,4	5,2	6,0	-6,6	0,8	
Acide aminé	Acide pyroglutamique	ESI+	-1,2	5,1	5,8	-6,3	0,7	
Acide aminé	Acide thréonique	ESI-	-0,1	13,0	13,0	-13,1	0,0	
Acide aminé	Thréonine	ESI+	-1,4	4,7	5,7	-6,2	0,9	
Acide aminé	Tyrosine	ESI+	-1,4	5,2	5,7	-6,6	0,6	
Acide aminé	Leucylproline	ESI+	-1,5	3,9	5,2	-5,4	1,2	
Acide aminé	N-Éthylglycine	ESI-	-0,1	6,8	8,9	-6,9	2,1	
Acide aminé	O-ureido-D-serine	ESI+	-0,1	5,2	5,3	-5,3	0,1	

Alcaloïde	Trigonelline	ESI+	-1,4	5,4	9,1	-6,8	3,7
Acide organique	Acide 2-furoïque	ESI-	0,1	10,5	12,2	-10,3	1,7
Acide organique	Acide 3-phosphoglycérique	ESI-	-0,1	10,7	10,8	-10,7	0,2
Acide organique	Acide citrique	ESI-	-0,2	11,9	13,4	-12,0	1,5
Acide organique	Acide gluconique	ESI-	-0,2	15,7	15,2	-15,9	-0,5
Acide organique	Acide tartarique	ESI-	-2,3	8,5	9,3	-10,8	0,7
Acide organique	Acide pyruvique	ESI-	0,0	8,8	9,1	-8,8	0,3
Acide organique	Acide <i>trans</i> -3-indoleacrylique	ESI+	-1,4	4,8	4,7	-6,2	-0,1
Acide phénolique	2,4,6-Trihydroxyacétophénone	ESI-	-0,1	6,6	6,2	-6,7	-0,4
Acide phénolique	3,4-Dihydroxybenzaldéhyde	ESI+	-0,3	5,5	4,0	-5,8	-1,5
Acide phénolique	Acide 4-coumarique	ESI+	-1,4	5,3	3,7	-6,7	-1,6
Acide phénolique	Acide caffeique	ESI+	-1,3	4,4	4,9	-5,7	0,5
Acide phénolique	Catéchine	ESI-	-0,3	11,2	10,1	-11,5	-1,1
Acide phénolique	Acide chlorogénique	ESI-	-0,1	6,8	8,7	-6,8	1,9
Acide phénolique	<i>cis</i> -Resvératrol	ESI+	-1,4	6,7	6,4	-8,1	-0,3
Acide phénolique	Épicatéchine	ESI+	-0,5	9,3	7,3	-9,8	-2,1
Acide phénolique	Acide férulique	ESI-	-0,1	6,1	7,1	-6,1	1,0
Acide phénolique	Fiséatine	ESI+	-1,2	6,5	7,5	-7,7	1,0
Acide phénolique	Acide gentisique	ESI+	-1,2	4,2	3,4	-5,4	-0,8
Acide phénolique	Lariciresinol 4- <i>O</i> -glucoside	ESI-	-0,1	9,3	10,5	-9,4	1,2
Acide phénolique	Myricétine	ESI+	-1,3	6,0	5,7	-7,3	-0,3
Acide phénolique	Chalconenaringénine	ESI+	-1,3	4,9	3,7	-6,2	-1,2
Acide phénolique	Phlorétine	ESI+	-1,2	5,7	4,7	-6,9	-0,9
Acide phénolique	Acide phosphoénolpyruvique	ESI-	-0,1	6,4	8,0	-6,5	1,7
Acide phénolique	Quercétine	ESI-	-0,1	11,9	12,3	-12,0	0,4
Acide phénolique	Quercétine	ESI+	-1,2	5,5	6,4	-6,7	0,9
Acide phénolique	Quercétine-3 $\beta$ -D-glucoside	ESI+	-1,2	4,3	5,1	-5,5	0,8
Acide phénolique	Quercétine-3 $\beta$ -D-glucoside	ESI-	0,0	11,6	12,8	-11,6	1,2

Acide phénolique	Rutin	ESI+	-1,2	6,5	7,4	-7,7	0,9
Acide phénolique	Rutin	ESI-	-0,1	10,1	11,4	-10,2	1,3
Amine	Dopamine	ESI-	-0,1	3,8	6,2	-3,9	2,4
Sucre	Galactose	ESI-	0,1	11,5	11,8	-11,5	0,3
Sucre	Maltose	ESI+	-1,3	6,4	8,6	-7,7	2,2
Sucre	Sédoheptulose-7-phosphate	ESI-	-0,1	8,8	8,1	-8,9	-0,7
Sucre	Glucose 1-phosphate	ESI+	-1,4	7,0	7,6	-8,4	0,6
Sucre	Uridine 5'-diphosphogalactose	ESI-	-0,2	8,9	9,3	-9,1	0,4
Sucre	Trehalose	ESI-	-0,2	15,3	15,7	-15,5	0,4
Thiol	Glutathion (réduit)	ESI+	-1,5	6,4	4,4	-7,9	-2,0
	L-Cysteinylglycine	ESI+	-1,4	5,3	3,6	-6,7	-1,7
Osmolye	Choline	ESI+	-1,6	3,7	6,5	-5,3	2,8
Phyto	4-Hydroxybenzaldehyde	ESI+	-0,1	1,3	-0,2	-1,4	-1,5

## ANNEXE E

**Réponses métaboliques au stress hydrique et thermique, seul ou combinés, dans les feuilles de Marquette. Les valeurs correspondent aux logarithme en base 2 transformé des facteurs multiplicatifs ( $\log_2$  *fold change* ; stress hydrique/contrôle (SH/CTRL); stress thermique/contrôle (ST/CTRL); stress combinés/contrôle (ST X SH/CTRL); stress hydrique/stress thermique (SH/ST) ; stress combinés/stress thermique (ST X SH/ST)) 21 jours après le début de l'expérience active (T+21)**

	LC/MS-MS métabolites	Polarité	SH/C	ST/C	STXSH/C	SH/ST	STXSH/ST	Légende Log2 Fold Change
Acide aminé	Acide 2-pipéridinecarboxylique	ESI+	-0,5	3,5	1,7	-3,9	-1,8	-3
Acide aminé	Acide glutamique	ESI-	0,1	10,8	10,7	-10,7	-0,1	-2 à -3
Acide aminé	Acide glutamique	ESI+	-0,6	10,3	10,8	-10,9	0,5	-1 à -2
Acide aminé	Phénylalanine	ESI+	-1,0	7,4	6,8	-8,4	-0,6	0 à -1
Acide aminé	Acide thréonique	ESI-	0,1	13,4	8,0	-13,3	-5,4	0 à 1
Acide aminé	O-ureido-D-serine	ESI+	-0,1	3,9	3,9	-4,0	0,0	1 à 2
Acide organique	Acide 3-phosphoglycérique	ESI-	0,2	8,2	7,0	-8,0	-1,2	2 à 3
Acide organique	Acide malique	ESI-	0,1	13,0	10,5	-12,9	-2,5	3 et +
Acide organique	Acide gluconique	ESI-	0,1	15,2	12,0	-15,1	-3,2	
Acide organique	Acide tartarique	ESI-	0,0	8,4	8,6	-8,4	0,3	
Acide organique	Acide maléique	ESI-	0,4	12,9	11,4	-12,6	-1,5	
Acide organique	Acide pyruvique	ESI-	-0,6	10,1	9,4	-10,7	-0,8	
Acide phénolique	Acide 4-coumarique	ESI+	0,1	6,5	6,2	-6,4	-0,3	
Acide phénolique	Catéchine	ESI-	0,4	8,9	7,2	-8,6	-1,7	
Acide phénolique	cis-resvératrol	ESI+	-0,6	4,5	3,3	-5,1	-1,2	
Acide phénolique	Épigallocatechine gallate	ESI-	0,1	6,4	5,5	-6,2	-0,9	
Acide phénolique	Acide férulique	ESI-	0,2	10,8	9,9	-10,6	-0,9	

Acide phénolique	Fiséatine	ESI+	-0,3	7,7	7,6	-8,0	-0,1
Acide phénolique	Lariciresinol 4-O-glucoside	ESI-	0,2	9,9	8,3	-9,7	-1,6
Acide phénolique	Chalconenaringénine	ESI+	-0,3	4,4	3,7	-4,7	-0,6
Acide phénolique	Phlorétine	ESI+	-0,3	5,2	4,6	-5,5	-0,6
Acide phénolique	Quercétine	ESI-	0,2	12,4	11,4	-12,2	-1,0
Acide phénolique	Quercétine	ESI+	-0,5	6,4	6,3	-6,9	-0,1
Acide phénolique	Quercétine-3 $\beta$ -D-glucoside	ESI-	0,2	12,7	10,5	-12,6	-2,2
Acide phénolique	Quercétine-3 $\beta$ -D-glucoside	ESI+	-0,5	5,0	4,9	-5,5	-0,1
Acide phénolique	Resvératrol	ESI-	0,2	7,8	6,5	-7,6	-1,3
Acide phénolique	Rutin	ESI-	0,1	11,7	10,1	-11,7	-1,7
Acide phénolique	Rutin	ESI+	-0,5	7,3	7,3	-7,7	0,0
Acide phénolique	Taxifoline	ESI+	-0,6	4,7	3,5	-5,3	-1,2
Acide phénolique	Trifoline	ESI-	0,1	10,6	8,1	-10,5	-2,6
Sucre	Fructose	ESI-	0,1	11,4	8,9	-11,3	-2,5
Sucre	Uridine 5'-diphosphogalactose	ESI-	0,2	7,5	7,5	-7,4	-0,1
Sucre	Mannose 1-phosphate	ESI-	0,2	10,0	8,8	-9,8	-1,2
Sucre	Tréhalose	ESI-	-0,1	15,3	13,5	-15,4	-1,8
Osmolyte	Choline	ESI+	-0,7	9,3	9,3	-9,9	0,0

## ANNEXE F

**Réponses métaboliques au stress hydrique et thermique, seul ou combiné, dans les feuilles de Riesling. Les valeurs correspondent aux logarithmiques en base 2 transformés des facteurs multiplicatifs ( $\log_2$  *fold change* ; stress hydrique/contrôle (SH/CTRL); stress thermique/contrôle (ST/CTRL); stress combinés/contrôle (ST X SH/CTRL); stress hydrique/stress thermique (SH/ST) ; stress combinés/stress thermique (ST X SH/ST)) 21 jours après le début de l'expérience active (T+21)**

	LC/MS-MS métabolites	Polarité	SH/C	ST/C	STXSH/C	SH/ST	STXSH/ST	Légende Log2 Fold Change
Acide aminé	Acide aspartique	ESI+	-0,6	8,5	9,5	-9,0	1,0	-3
Acide aminé	Acide quinique	ESI-	0,1	8,8	9,5	-8,7	0,7	-2 à -3
Acide aminé	Acide pipécolique	ESI+	0,6	7,1	8,3	-6,5	1,2	-1 à -2
Acide aminé	Proline	ESI+	0,2	2,9	3,9	-2,7	1,0	0 à -1
Acide aminé	Tryptophane	ESI-	0,1	0,2	6,0	0,0	5,9	0 à 1
Acide aminé	Glutamine	ESI+	-0,6	7,7	8,8	-8,3	1,1	1 à 2
Acide aminé	Sérine	ESI+	-0,5	7,6	8,7	-8,1	1,1	2 à 3
Acide aminé	Isoleucine	ESI+	-0,5	4,2	6,0	-4,7	1,7	3 et +
Acide aminé	Acide glutamique	ESI-	0,1	11,0	11,6	-10,9	0,6	
Acide aminé	Acide glutamique	ESI+	-0,6	11,4	12,0	-12,0	0,6	
Acide aminé	Isoleucine	ESI+	-0,7	6,3	7,2	-7,1	0,8	
Acide aminé	Acide pyroglutamique	ESI+	-0,3	10,5	11,8	-10,8	1,4	
Acide aminé	Acide thréonique	ESI-	0,1	12,9	12,2	-12,9	-0,8	
Acide aminé	Éthylglycine	ESI-	0,1	7,4	7,8	-7,3	0,4	
Acide aminé	Trigonelline	ESI+	0,9	9,6	11,5	-8,6	1,9	
Acide organique	Acide 3-Phosphoglycérique	ESI-	0,1	10,9	8,8	-10,8	-2,1	
Acide organique	Acide citrique	ESI-	0,1	12,5	10,8	-12,4	-1,7	
Acide organique	Acide malique	ESI-	0,2	13,9	12,9	-13,7	-1,0	

Acide organique	Acide tartarique	ESI-	-1,3	9,0	10,1	-10,3	1,2
Acide organique	Acide maléique	ESI-	0,3	12,6	11,9	-12,3	-0,6
Acide organique	Acide pyruvique	ESI-	-1,3	9,4	8,4	-10,7	-0,9
Acide phénolique	3,4-Dihydroxybenzaldéhyde	ESI+	0,3	4,4	1,6	-4,1	-2,8
Acide phénolique	Acide 3,4-dihydroxyphénylacétique	ESI-	0,1	8,3	7,7	-8,3	-0,7
Acide phénolique	Acide caffeique	ESI+	1,5	1,4	5,5	0,1	4,1
Acide phénolique	Catéchine	ESI-	0,2	11,6	8,5	-11,5	-3,1
Acide phénolique	cis-resvératrol	ESI+	-0,9	5,6	8,0	-6,5	2,3
Acide phénolique	Épicatéchine	ESI+	-0,8	8,7	4,9	-9,6	-3,9
Acide phénolique	Acide férulique	ESI-	0,1	8,8	9,2	-8,6	0,5
Acide phénolique	Acide isoférulique	ESI-	0,2	9,7	8,2	-9,5	-1,6
Acide phénolique	Laricirésinol 4-O-glucoside	ESI-	0,1	10,2	10,2	-10,1	0,0
Acide phénolique	Chalconenaringénine	ESI+	-0,9	6,6	4,1	-7,4	-2,4
Acide phénolique	Phénylacétaldéhyde	ESI-	0,2	10,2	10,3	-10,1	0,1
Acide phénolique	Phlorétine	ESI+	-0,8	6,4	5,7	-7,2	-0,7
Acide phénolique	Acide phosphoénolpyruvic	ESI-	0,1	8,0	7,4	-7,9	-0,6
Acide phénolique	Quercétine	ESI-	0,1	12,1	11,9	-12,0	-0,2
Acide phénolique	Quercétine	ESI+	-0,8	7,1	7,7	-7,8	0,6
Acide phénolique	Quercétine-3β-D-glucoside	ESI+	-0,8	5,9	6,4	-6,7	0,5
Acide phénolique	Resvératrol	ESI-	0,1	5,3	8,3	-5,2	3,0
Acide phénolique	Rutin	ESI+	-0,8	8,1	8,6	-8,9	0,5
Acide phénolique	Rutin	ESI-	0,1	10,7	12,1	-10,6	1,4
Sucre	Lyxose	ESI-	0,1	16,4	14,0	-16,3	-2,4
Sucre	Glucose 1-phosphate	ESI+	-0,7	7,4	8,2	-8,1	0,8
Sucre	Uridine 5'-diphosphogalactose	ESI-	0,1	7,4	4,9	-7,3	-2,6
Sucre	Trehalose	ESI-	-0,1	15,1	14,8	-15,2	-0,3
Osmolyte	Choline	ESI+	-0,5	11,9	11,8	-12,3	-0,1

## ANNEXE G

Réponses métaboliques au stress hydrique et thermique, seul ou combiné, dans les feuilles de Vidal. Les valeurs correspondent aux logarithme en base 2 transformé des facteurs multiplicatifs ( $\log_2$  fold change ; stress hydrique/contrôle (SH/CTRL); stress thermique/contrôle (ST/CTRL); stress combinés/contrôle (ST X SH/CTRL); stress hydrique/stress thermique (SH/ST); stress combinés/stress thermique (ST X SH/ST)) 21 jours après le début de l'expérience active (T+21)

	LC/MS-MS métabolites	Polarité	SH/C	ST/C	STXSH/C	SH/ST	STXSH/ST	Légende Log2 Fold Change
Acide aminé	Serine	ESI+	-0,5	6,6	6,6	-7,1	0,1	-3
Acide aminé	Acide glutamique	ESI+	-0,6	11,2	11,7	-11,8	0,5	-2 à -3
Acide aminé	Histidine	ESI+	-0,5	5,8	7,3	-6,3	1,5	-1 à -2
Acide aminé	Propargylglycine	ESI+	0,0	3,1	3,3	-3,1	0,3	0 à -1
Acide aminé	Acide pyroglutamique	ESI+	-0,1	11,4	12,4	-11,4	1,0	0 à 1
Acide aminé	Thréonine	ESI+	-0,5	6,1	7,7	-6,6	1,6	1 à 2
Acide aminé	Méthylproline	ESI+	-0,3	4,4	3,9	-4,7	-0,5	2 à 3
Acide organique	Acide gluconique	ESI-	0,1	15,4	0,1	-15,3	-15,3	3 et +
Acide organique	Acide tartarique	ESI-	-3,0	8,1	-3,0	-11,1	-11,0	3 et +
Acide organique	trans-3-indoléacrylique	ESI+	-0,4	8,5	11,5	-8,9	3,0	3 et +
Acide phénolique	Acide 4-coumarique	ESI+	-0,1	6,6	6,5	-6,7	-0,1	3 et +
Acide phénolique	Acide caffeique	ESI+	0,5	4,8	5,0	-4,3	0,3	3 et +
Acide phénolique	3,4-Dihydroxybenzaldéhyde	ESI+	0,6	3,2	2,1	-2,6	-1,2	3 et +
Acide phénolique	Acide éllagique	ESI+	-0,7	5,7	2,3	-6,4	-3,4	3 et +
Acide phénolique	Épicatchine	ESI+	-0,6	6,8	2,5	-7,4	-4,3	3 et +
Acide phénolique	Fisétine	ESI+	-0,7	7,6	7,0	-8,3	-0,5	3 et +
Acide phénolique	Lariciresinol 4-O-glucoside	ESI-	0,0	8,8	0,1	-8,8	-8,7	3 et +
Acide phénolique	Myricétine	ESI+	-0,6	6,6	5,8	-7,2	-0,8	3 et +

Acide phénolique	Naringénine	ESI-	0,0	5,4	0,0	-5,3	-5,4
Acide phénolique	Phénylacétaldehyde	ESI-	-0,2	6,2	0,1	-6,3	-6,1
Acide phénolique	Phlorétine	ESI+	-0,7	7,9	6,3	-8,6	-1,6
Acide phénolique	Quercétine	ESI+	-0,7	7,2	7,3	-7,9	0,1
Acide phénolique	Quercétine-3 $\beta$ -D-glucoside	ESI+	-0,7	7,9	8,3	-8,6	0,4
Acide phénolique	Resvératrol	ESI+	-0,5	3,8	6,0	-4,4	2,2
Acide phénolique	Rutin	ESI+	-0,6	8,3	8,5	-8,9	0,2
Sucre	Glucose 1-phosphate	ESI+	-0,4	9,1	8,6	-9,5	-0,5
Osmolyte	Choline	ESI+	-0,5	10,7	10,9	-11,2	0,2
Thiol	Glutathione (réduit)	ESI+	-0,6	9,3	9,1	-9,9	-0,2

## RÉFÉRENCES

- Ahammed, G.J. & Li, X. (2023). Dopamine-induced abiotic stress tolerance in horticultural plants. *Scientia Horticulturae*, 307, 111506.  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304423822006264>
- Barriault, E. (2013) Évaluation du potentiel viticole d'un site. *Revue de littérature*. Ministère de l'Agriculture des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec.  
<https://www.agrireseau.net/Vigne-vin/documents/Revue%20de%20litt%C3%A9rature%20potentiel%20viticoleVF.pdf>
- Blažević, I., Kind, T., Ji, J., Fiehn, O. (2018). Software Tools and Approaches for Compound Identification of LC-MS/MS Data in Metabolomics. *Metabolites*, 8(2), 31.  
<https://doi.org/10.3390/metabo8020031>
- Bush, E., & Lemmen, D.S. (2019). Rapport sur le climat changeant du Canada, Gouvernement du Canada, Ottawa, Ontario, 446 p.
- Nievola, C. C., Carvalho, C. P., Carvalho, V., & Rodrigues, E. (2017). Rapid responses of plants to temperature changes, *Temperature*, 4, 371-405.  
<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/23328940.2017.1377812>
- Chen, Q., Wang, B., Ding, H., Zhang, J., & Li., S. (2019). Review : the role of NADP-malic enzyme in plants under stress, *Plant Science*, 281. 206-212.
- Choisnel, E. & Cloppet, E. (2021). Agrométéorologie.  
<https://www.universalis.fr/encyclopedie/agrometeorologie/1-influence-du-climat-sur-la-production-agricole/>
- Choné, X., Van Leeuwen, C., Dubourdieu, D., & Gaudillères, J. P. (2001). Stem water potential is a sensitive indicator of grapevine water status, *Annals of botany*, 87. 477-483.  
[doi:10.1006/anbo.2000.1361](https://doi.org/10.1006/anbo.2000.1361)
- Cui, Q., Lewis, I A., Hegeman, A D., Anderson, M E., Li, J., Schulte, C F., ... Markley, J L. (2008). Metabolite identification via the Madison Metabolomics Consortium Database, *26*(2).
- Degu, A., Hochberg, U., Wong, D. C. J., Alberti, G., Lazarovitch, N., Peterlunger, E., ... Fait, A. (2019). Swift metabolite changes and leaf shedding are milestones in the acclimation process of grapevine under prolonged water stress, *BMC Plant Biology*, 19(69).  
<https://link.springer.com/article/10.1186/s12870-019-1652-y>

- Duchêne, E. & Schneider, C. (2005). Grapevine and climatic changes : a glance at the situation in Alsace, HAL open science, 25(1), 93-99. <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00886271/document>
- Environnement Canada. (2016). *Climate data and scenarios for Canada : Synthesis of recent observation and modelling results*. Gouvernement du Canada. [https://climate-scenarios.canada.ca/files/Climate%20data%20and%20scenarios%20for%20Canada\\_EN\\_2016.pdf](https://climate-scenarios.canada.ca/files/Climate%20data%20and%20scenarios%20for%20Canada_EN_2016.pdf)
- Feller, U., Vaseva, I. I. (2014). Extreme climatic events: impacts of drought and high temperature on physiological processes in agronomically important plants. *Frontiers*, 2, <https://doi.org/10.3389/fenvs.2014.00039>
- Gladstones, J. S. (2007). *Wine, terroir and climate change*. Wakefield Press. Retrieved 2021. <https://web-a-ebshost-com.proxybiblio.uqo.ca/ehost/detail/detail?vid=0&sid=d0d53462-a4ea-46b9-be09-ae0dd58ed4fc%40sdc-v-sessmgr02&bdata=Jmxhbm9ZnImc2l0ZT1laG9zdC1saXZl#AN=438609&db=nlebk>
- Goicoechea, N., Jiménez, L., Prieto, E., Gogorcena, Y., Pascual, I., Irigoyen, J. J., & Antolin, M. C. (2021). Assessment of nutritional and quality properties of leaves and musts in three local spanish grapevine varieties undergoing controlled climate change scenarios, *plants (basel)*, 10(6). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34208410/>
- Greer, D.H. & Weedon, M. M. (2011). Modelling photosynthetic responses to temperature of grapevine (*Vitis vinifera* cv. Semillon) leaves on vines grown in a hot climate. *Plant, Cell & Environment*, 35(6), 1050-1064. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2011.02471.x>
- Greer, D.H. & Weedon, M. M. (2013). The impact of high temperatures on *Vitis vinifera* cv. Semillon grapevine performance and berry ripening, *frontiers in Plant Science*.
- Griesser, M., Weingart, G., Schoedl-Hummel, K., Neumann, N., Becker, M., Varmuza, K., ... Forneck, A. (2015). Severe drought stress is affecting selected primary metabolites, polyphenols, and volatile metabolites in grapevine leaves (*Vitis vinifera* cv. Pinot noir). *Plant physiology and biochemistry*, 88, 17-26. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0981942815000145?via%3Dihub>
- Hermes, D.A. (2004). Using degree-days and plant phenology to predict pest activity. *IPM (Integrated Pest Management) of Midwest Landscapes*, chapitre 11. p. 49-59. <http://www.nurserycropsscience.info/ipm/scouting-monitoring/technical-pubs/herms-2004-using-degree-days-plant-phenology-to.pdf>
- Islam, S., Yoshimoto, M., Ishiguro, K., Okuno, S., Yamakawa, O. (2003). Effect of artificial shading and temperature on radical scavenging activity and polyphenolic composition in sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) leaves. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 128(2), 182-187. [https://www.researchgate.net/profile/Shahidul-Islam-9/publication/286953717\\_Effect\\_of\\_Artificial\\_Shading\\_and\\_Temperature\\_on\\_Radical\\_Sc](https://www.researchgate.net/profile/Shahidul-Islam-9/publication/286953717_Effect_of_Artificial_Shading_and_Temperature_on_Radical_Sc)

avenging\_Activity\_and\_Polyphenolic\_Composition\_in\_Sweetpotato\_Ipomoea\_batatas\_L\_Leaves/links/58249ed808aeebc4f89e4793/Effect-of-Artificial-Shading-and-Temperature-on-Radical-Scavenging-Activity-and-Polyphenolic-Composition-in-Sweetpotato-Ipomoea-batatas-L-Leaves.pdf

- Jing, W. (2018). Effects of moderately elevated temperature on grape berry at metabolic and transcriptomic levels. *Vegetal Biology*. Université de Bordeaux. English. ffnNT : 2018BORD0013ff. fftel02018637f
- Jolivet, Y. & Dubois, J.-M. (2006). Essais de protection hivernale de la vigne hybride au moyen d'une toile isolante avec un fil chauffant. [https://www.usherbrooke.ca/geomatique/fileadmin/sites/flsh/geomatique/bulletin\\_180.pdf](https://www.usherbrooke.ca/geomatique/fileadmin/sites/flsh/geomatique/bulletin_180.pdf)
- Ju, Y.-L., Yue, X.-F., Zhao, X.-F., Zhao, H., & Fang, Y.-L. (2018). Physiological, micro-morphological and metabolomic analysis of grapevine (*Vitis vinifera* L.) leaf of plants under water stress, *Plant Physiology and Biochemistry*, 130. 501-510. <https://www-sciencedirect-com.proxybiblio.uqo.ca/science/article/pii/S098194281830336X>
- Kappel, C, D. (2010). Biologie intégrative du métabolisme de la baie de raisin. *Thèse pour le doctorat de l'Université Victor Segalen bordeaux*.
- Keenan, T., Sabate, S. & Gracia, C. (2010). Soil water stress and coupled photosynthesis-conductance models : Bridging the gap between conflicting reports on the relative roles of stomatal, mesophyll conductance and biochemical limitations to photosynthesis. *Agricultural and Forest Meteorology*, 150(3), 443-453. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168192310000110>
- Khan, N., Bano, A., Rahman, M.A. & Rathinasabapathi, B. (2019). UPLC-HRMS-based untargeted metabolic profiling reveals changes in chickpea (*Cicer arietinum*) metabolome following long-term drought stress. *Plant Cell Environ*, 42, 115–132. <https://doi.org/10.1111/pce.13195>
- Kumar, M., Kumar Patel, M., Kumar, N., Bajpai, A.B. & Siddique, K.H.M. (2021). Metabolomics and molecular approaches reveal drought stress tolerance. *Plants. Int. J. Mol. Sci.*, 22(17), 9108. <https://doi.org/10.3390/ijms22179108>
- Lasserre, F. & Dorval, G. (2020). Le développement des vignobles canadiens et l'impact des changements climatiques. <https://corpus.ulaval.ca/jspui/bitstream/20.500.11794/67177/1/Lasserre%20Dorval%20Vignoble%20et%20CC%20Clos%20Vougeot%202020.pdf>
- Lebon, G. (2005). Importance des glucides lors de la floraison chez la vigne (*Vitis vinifera* L.). Exemples de cépages présentant une sensibilité différente à la coulure. Physiologie [q-bio.TO]. Université de Reims - Champagne Ardenne, Français. Récupéré de [https://tel.archives-ouvertes.fr/file/index/docid/59655/filename/these\\_G\\_LEBON.pdf](https://tel.archives-ouvertes.fr/file/index/docid/59655/filename/these_G_LEBON.pdf)

- Lecourieux, F., Kappel, C., Pieri, P., Charon, J., Pillet, J., Hilbert, G., Renaud, C., Gomès, E., Delrot, S., and Lecourieux, D. (2017). Dissecting the Biochemical and Transcriptomic Effects of a Locally Applied Heat Treatment on Developing Cabernet Sauvignon Grape Berries. *Frontiers in plant science* 8.
- Lher, P.P., Hernandez-Montes, E., Ludwig-Müller, J., Keller, M. & Zörb, C. (2021). Abscisic acid and proline are not equivalent markers for heat, drought and combined stress in grapevines. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 28. 119-130. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ajgw.12523>
- Li, Y.-M., You, J.-L., Nie, W.-F., Sun, M.-H., & Xie, Z.-S. (2022). Transcription Profiles Reveal Age-Dependent Variations of Photosynthetic Properties and Sugar Metabolism in Grape Leaves (*Vitis vinifera* L.). *International Journal of Molecular Sciences*, 23(4), 2243. <https://doi.org/10.3390/ijms23042243>
- Luo, Y., Li, W.-M. & Wang, W. (2008). Trehalose : Protector of antioxydant enzymes or reactive oxygen species scavenger under heat stress ? *Environmental and Experimental Botany*, 63(1-3), 378-384. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0098847207002535>
- MAPAQ. (2022). Culture du raisin (viticulture). <https://www.quebec.ca/agriculture-environnement-et-ressources-naturelles/agriculture/industrie-agricole-au-quebec/productions-agricoles/culture-raisin-viticulture>
- Marcek, T., Hamow, K.Á., Végh, B., Janda, T. & Darko, E. (2019). Metabolic response to drought in six winter wheat genotypes. *PLoS ONE*, 14. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0212411>
- MELCC. (2022). Normales climatiques du Québec 1981-2010. <https://www.environnement.gouv.qc.ca/climat/normales/sommaire.asp?cle=7024100>
- Michaletti, A., Naghavi, M.R., Toorchi, M. *et al.* (2018). Metabolomics and proteomics reveal drought-stress responses of leaf tissues from spring-wheat. *Sci Rep*, 8(5710). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-24012-y>
- Miele, A. & Carbonneau, A. & Bouard, J. (2000). Composition en acides aminés libres des feuilles et des baies du cépage cabernet sauvignon. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, 2000, 34, n°1, 19-26. Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France).
- Minorsky, P. V. (2002). The hot and the classic : trigonelline : a diverse regulator in plants. *Plant Physiology*, 128(1), 7. <https://www.proquest.com/openview/070346e9c21ac81234901ed015bf2b51/1?pq-origsite=gscholar&cbl=40931>
- Mori, K., Sugaya, S., & Gemma, H. (2005). Decreased anthocyanin biosynthesis in grape berries grown under elevated night temperature condition, *scientia horticultrae*, 105(3). 319-330. Récupéré de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304423805000622>

- Murcia, G., Fontana, A., Pontin, M., Baraldi, R., Bertazza, G., & Piccoli, P. N. (2017). ABA and GA<sub>3</sub> regulate the synthesis of primary and secondary metabolites related to alleviation from biotic and abiotic stresses in grapevine. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27998613/>
- Neethling, E., Barbeau, G., Quenol, H. & Bonnefoy, C. (2015). Évolution du climat et de la composition des raisins des principaux cépages cultivés dans le Val de Loire, *8*(2011), 79-92. [https://climatology.edpsciences.org/articles/climat/full\\_html/2011/01/climat20118p79/climat20118p79.html](https://climatology.edpsciences.org/articles/climat/full_html/2011/01/climat20118p79/climat20118p79.html)
- Organisation Internationale de la vigne et du vin (OIV). (2016). Statistiques. <https://www.oiv.int/fr/statistiques/recherche>
- Ouranos. (2021). Montérégie. Récupéré de <https://www.ouranos.ca/climate-portraits/#/regions/27>
- Pérard, J., & Wolikow, C. (2020). Fluctuations climatiques et vignobles : du Néolithique à l'actuel, impacts résilience et perspectives. 155-169. Récupéré de [https://corpus.ulaval.ca/jspui/bitstream/20.500.11794/67177/4/Tire-a-part\\_Lasserre.pdf](https://corpus.ulaval.ca/jspui/bitstream/20.500.11794/67177/4/Tire-a-part_Lasserre.pdf)
- Pearcy, R. W., & Ehleringer. (1984). Comparative ecophysiology of C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> plants, *Plant, Cell & Environment*, *7*(1), 1-13.
- Quan, J., Zheng, W., Tan, J., Li, Z., Wu, M., Hong, S.-B., Zhao, Y., Zhu, Z. & Zang, Y. (2022). Glutamic acid and poly-γ-glutamic acid enhanced the heat resistance of chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *Pekinensis*) by improving carotenoid biosynthesis, photosynthesis, and ROS signaling. *International journal of molecular sciences*, *23*(19). 11671. <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/19/11671>
- Rafi, M., Karomah, A. H., Heryanto, R., Septaningsih, D. A., Kusuma, W.A., ... Prajogo, B. (2020). Metabolite profiling of *Andrographis paniculata* leaves and stem extract using UHPLC-Orbitrap-MS/MS, *36*(2), 625-629.
- Riaz, U., Hassan, A., Fatima, M., Aziz, H., Rasool, M. & Murtaza, G. (2023). Plant secondary metabolites and environmental stress : an overview. *Biology and biotechnology of environmental stress tolerance in plants*. [https://www.researchgate.net/publication/369742126\\_plant\\_secondary\\_metabolites\\_and\\_environmental\\_stress\\_An\\_overview\\_In\\_book\\_Biology\\_and\\_biotechnology\\_of\\_environmental\\_stress\\_tolerance\\_in\\_plants](https://www.researchgate.net/publication/369742126_plant_secondary_metabolites_and_environmental_stress_An_overview_In_book_Biology_and_biotechnology_of_environmental_stress_tolerance_in_plants)
- Savoi, S., C J Wong, D., Arapitsas, P., Miculan, M., Bucchetti, B., Peterlunger, E., Fait, A. & D Castellarin, S. (2016). Transcriptome and metabolite profiling reveals that prolonged drought modulates the phenylpropanoid and terpenoid pathway in white grapes (*Vitis vinifera* L.). *BMC Plant Biology*, *16*(67). <https://doi.org/10.1186/s12870-016-0760-1>

- Salem, M. A., Jüppner, J., Bajdzienko, K. & Giavalisco, P. (2016). Protocol : a fast, comprehensive and reproducible one-step extraction method for the rapid preparation of polar and semi-polar metabolites, lipids, proteins, starch and cell wall polymers from a single sample. *Plant Methods*, 12, 45.  
<https://plantmethods.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13007-016-0146-2>
- Simonneau, T., Ollat, N., Pellegrino, A., Lebon, E. (2014). Contrôle de l'état hydrique dans la plante et réponses physiologiques de la vigne à la contrainte hydrique. *Innovations Agronomiques*, INRAE, 38, 13-32
- Smith, C. A., O'Maille, G., Want, E. J., Qin, C., Trauger, S. A., Brandon, T. R., ... Siuzdak, G. (2005). METLIN : a metabolite mass spectral database, 27(6).
- Smith, R., Prichard, T. (2002). Using a pressure chamber in winegrapes. *UC Cooperative Extension*. <https://ucanr.edu/sites/SoCo/files/27409.pdf>
- Sun, X., Han, G., Meng, Z., Lin, L., & Sui, N. (2019). Roles of malic enzymes in plant development and stress responses, *Plant signaling & behavior*, 14(10). Récupéré de <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/15592324.2019.1644596>
- Tramontano, W. A., Jouve, D. (1997). Trigonelline accumulation in salt-stressed legumes and the role of other osmoregulators as cell cycle control agents. *Elsevier*, 44(6), 1037-1040.  
[https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(96\)00715-7](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(96)00715-7)
- Van Leeuwen, C., Darriet, P., Pons, A., & Dubernet, M. (2016). Effet du changement climatique sur le comportement de la vigne et la qualité du vin.
- Van Leeuwen, C., & Darriet, P. (2018) Le changement climatique en viticulture : les leviers d'adaptation au vignoble. Récupéré de <https://www.vignevin-occitanie.com/wp-content/uploads/2018/11/Leviers-dadaptation-au-changement-climatique-Van-Leeuwen.pdf>
- Venios, X., Korkas, E., Nisiotou, A. & Banilas, G. (2020). Grapevine responses to heat stress ans global warming. *Plants*, 9(12), 1754. <https://www.mdpi.com/2223-7747/9/12/1754>
- Verbruggen, N., and Hermans, C. (2008). Proline accumulation in plants: a review. *Amino Acids*, 35, 753–759. 10.1007/s00726-008-0061-6
- Yang, H., Wang, S., Jin, Y., Zhang, J., Hao, D., Li, J., Pang, T., Gong, M. (2015). Effects of different growth temperature on polyphenols metabolism in tobacco (*Nicotiana tobacum* L.) leaves at different growth stages. *Genomics and Applied Biology*, 34(9), 1957–1974.  
<https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20153395129>
- Zhou, R., Yu, X., Ottosen, C.-O., Rosenqvist, E., Zhao, L., Wang, Y., Yu, W., Zhao, T. & Wu, Z. (2017). Drought stress had a predominant effect over heat stress on three tomato cultivars

subjected to combined stress. *BMC Plant Biology*, 17(24).  
<https://bmcpantbiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12870-017-0974-x>

Zufferey, V., Murisier, F., Vivin, P., Belcher, S., Lorenzini, F., Spring, J.-L., & Viret, O. (2012). Réerves en glucides de la vigne (cv. Chasselas) : influence du rapport feuille-fruit. *Revue Suisse Viticulture*, 44(4), 216-22.