



Année 2013

N° d'ordre : 2096

THESE

PRESENTEE A

L'UNIVERSITE BORDEAUX SEGALEN

ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTE

PAR

Julien Lecourt

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR

SPECIALITE : BIOLOGIE VEGETALE

**Rôle de la nutrition azotée dans le contrôle de l'allocation de la biomasse
d'une vigne greffée : validation par marquage isotopique et modélisation.**

Soutenue publiquement le 9 Décembre 2013

Devant le jury composé de :

Christophe SALON	Directeur de Recherche, INRA Dijon	Rapporteur
Christian GARY	Directeur de Recherche, INRA Montpellier	Rapporteur
Jean-Christophe AVICE	Professeur, Université de Caen Basse-Normandie	Examinateur
Martine DIEUAIDE-NOUBHANI	Maître de conférences, Université de Bordeaux	Examinateur
Serge DELROT	Professeur, Université de Bordeaux	Président
Philippe VIVIN	Chargé de Recherche, INRA Bordeaux	Directeur de thèse

REMERCIEMENTS

Au cours de ma thèse, j'ai appris énormément de choses mais j'ai surtout eu la chance d'être entouré d'une équipe technique, scientifique et administrative qui m'ont encadré, soutenu et aidé pendant ces trois années. Je tiens à les en remercier.

Tout d'abord, je voudrais remercier les membres du jury qui ont accepté de participer à la soutenance et en particulier les rapporteurs qui ont bien voulu relire ce manuscrit.

Je souhaite aussi remercier toutes les personnes du laboratoire EGFV grâce à qui cette thèse a pu se dérouler dans d'excellentes conditions. Je remercie notre directeur, Serge Delrot qui a soutenu ce projet et a toujours fait son possible pour faciliter mon travail. Je remercie Philippe Vivin, qui a assuré la direction scientifique de cette thèse, pour la confiance qu'il m'a accordée et la grande liberté qu'il m'a laissée dans la conduite de mes recherches tout en balisant le chemin.

Je tiens à remercier chaleureusement l'équipe scientifique qui m'a entouré pendant trois ans : Elisa, Louis, Pierre-François, les Jean-Pascal mais surtout Nathalie, Sarah et Virginie qui ont particulièrement veillé à ce travail. Je remercie l'équipe technique pour son aide : Claude, Martine, Cyril, Jean-Paul, Jean-Pierre mais surtout Thierry et Guillaume qui ont toujours répondu présent et en qui j'ai pu avoir une confiance aveugle pendant les expérimentations.

Comme tous les doctorants de l'unité, un grand merci à ZhanWu de m'avoir si souvent débloqué sur R mais aussi pour sa gentillesse, sa simplicité et ses conseils toujours pertinents.

Un grand merci aux membres du laboratoire EVA de Caen, qui ont été d'une aide précieuse à la mise en œuvre des nombreuses analyses isotopiques. Un grand merci à Erwan, premièrement de m'avoir fait découvrir et aimer la recherche mais aussi pour ses conseils, sa disponibilité et son amitié.

Merci à tous les stagiaires qui ont participé à ce travail : bien sûr à Elodie, pour son implication lors de son Master 2, à Cyril, pour ses leçons de viticulture et son aide lors des récoltes nocturnes.

Je tiens à remercier ceux qui m'ont entouré de leur bienveillance et qui sont à mes yeux bien plus des amis que des collègues : Justine, Mariam, Johan, Maria-José, Chachou, Cyril (bis !), Pancha, Pierrot et bien sûr -gardons le meilleur pour la fin- mon Riko.

J'ai dans la vie, la chance d'être entouré de personnes formidables, sans qui je ne serai jamais arrivé en thèse, je tiens à les remercier simplement d'avoir toujours su être là : merci donc à NicoTom, Paul-Emmanuel, Marie, Barry, Aymeric, Cécile, Charlotte, Steven, Claire, Camille, Putenf, Benoit, Philou, Nico, Sacha, P'tite Paule, Sylvain, Pierre, Porquette, Lionel, Sylvie, Julie, mes grands-parents et bien sûr et surtout à Elsa.

LISTE DES ABREVIATIONS

1103P : 1103 Paulsen

A : Activité photosynthétique

AA : acides aminés

ABA : Acide Abscissique

AGPase : ADP-glucose pyrophosphorylase

ANOVA : Analysis of Variance

CE : Efficience de carboxylation

CS : Cabernet Sauvignon

E : Transpiration

EtOH : Ethanol

FBPase : Fructose-1,6-BisPhosphatase

GAPDHase : NADP-glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase

Gs : Conductance stomatique

HATS : High Affinity Transport System

IRMS : Isotope Ratio Mass Spectrometry

LA : Leaf Area

LAR : Leaf Area Ratio

LATS : Low Affinity Transport System

LWR : Leaf Weight Ratio

MS : Matière sèche

NAE : Nitrogen Assimilation Efficiency

NiR : Nitrite reductase

NR : Nitrate Reductase

NRE : Nitrogen Remobilization Efficiency

NUE : Nitrogen Use Efficiency

NUpE : Nitrogen Uptake Efficiency

NUtE : Nitrogen Utilization Efficiency

RGM : Riparia Gloire de Montpellier

RGR : Relative Growth Rate

RLR : Root Length Ratio

RUBISCO : Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygénase

RWR : Root Weight Ratio

SLA : Specific Leaf Area

SLR : Stem Length Ratio

SRL : Specific Root Length

SSL : Specific Stem Length

SWR : Stem Weight Ratio

SPS : Sucrose Phosphate Synthase

LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES

TABLEAUX

Tableau 1 : Besoins annuels en azote (kg/ha) de 4 espèces de grande culture (vigne, blé, colza, pommier)

Tableau 2 : Classification des porte-greffes vis à vis de la vigueur conférée. D'après Keller 2010

Tableau 3 : Composition des trois solutions nutritives utilisées pendant cette étude

Tableau 1.1 : Influence du génotype du porte-greffe (RGM ou 1103P) et de la concentration externe en nitrate LN (0,8mM), MN (1,6mM) et HN (2,45mM) sur la biomasse de la plante (sans le tronc, g), des compartiments racine, tronc, tige, feuille (g), sur le ratio biomasse racinaire:biomasse aérienne (sans le tronc), sur le nombre de feuilles et sur la longueur totale des tiges (cm) à t0 et t30

Tableau 1.2 : Influence du génotype du porte-greffe (RGM ou 1103P) et de la concentration externe en nitrate LN (0,8mM), MN (1,6mM) et HN (2,45mM) sur la vitesse de croissance entre t0 et t30 (RGR), les ratios de biomasse (foliaire LWR, des tiges SWR et racinaire RWR), la surface foliaire spécifique SLA, la longueur de tige (SSL) et racinaire spécifique (SRL) et la surface foliaire LAR), la longueur racinaire (SLR) et la longueur racinaire (RLR)

Tableau 1.3 : Influence du génotype du porte-greffe (RGM et 1103P) et des traitements azotés (LN, MN et HN) sur le pourcentage de N exogène envoyé vers les parties aériennes (feuilles + tiges), l'efficacité d'utilisation et d'absorption de l'azote

Tableau 1.4 : Influence du génotype du porte-greffe (RGM et 1103P) et des traitements azotés (LN, MN et HN) sur la quantité relative de N dans chacun des compartiments (feuilles (LNR), tiges (SNR), racines (RNR) et tronc (TNR)) et sur la concentration en azote dans la plante (mg.g-1 de biomasse sèche)

Tableau 1.5 : Influence du génotype du porte-greffe (RGM ou 1103P) et de la concentration externe en nitrate LN (0,8mM), MN (1,6mM) et HN (2,45mM) sur la biomasse de la plante (sans le tronc, g), des compartiments racine, tronc, tige, feuille (g), sur le ratio biomasse racinaire:biomasse aérienne (sans le tronc), sur le nombre de feuilles et sur la longueur totale des tiges (cm) à t0 et t30

Tableau 1.6 : Influence du génotype du porte-greffe (RGM ou 1103P) et de la concentration externe en nitrate LN (0,8mM), MN (1,6mM) et HN (2,45mM) sur la vitesse de croissance entre t0 et t30 (RGR), les ratios de biomasse (foliaire LWR, des tiges SWR et racinaire RWR), la surface foliaire spécifique SLA, la longueur de tige (SSL) et racinaire spécifique (SRL) et la surface foliaire LAR), la longueur racinaire (SLR) et la longueur racinaire (RLR) par unité de biomasse de la plante

Tableau 1.7 : Influence du génotype du porte-greffe (RGM et 1103P) et des traitements azotés (LN, MN et HN) sur le pourcentage de N exogène envoyé vers les parties aériennes (feuilles + tiges), l'efficacité d'utilisation NUE (g/mg) et d'absorption NUpE (mg/g) de l'azote

Tableau 1.8 : Influence du génotype du porte-greffe (RGM et 1103P) et des traitements azotés (LN, MN et HN) sur la quantité relative de N dans chacun des compartiments (feuilles (LNR), tiges (SNR), racines (RNR) et tronc (TNR)) et sur la concentration en azote dans la plante

Tableau 2.1 : Concentration des différents métabolites dans mes racines, tronc, tiges et feuilles des plantes récoltées à t0, t15 et t60, en fonction du génotype du porte-greffe et des traitements azotés (LN et HN)

Table 3.1: Composition of the three nutrient solutions

Table 3.2: Rootstock and treatments effects on the biomass of the two scion/rootstock combinations compartments

Tableau 4.1 : Paramètres du modèle

FIGURES

Figure 1 : Evolution du prix (euros) de l'azote minéral et des produits de "grandes cultures" entre 1970 et 2008

Figure 2 : Absorption de l'azote et biomasse des différents compartiments en fonction du stade de développement de la vigne

Figure 3 : Effet de la nutrition azotée sur le phénotype foliaire de Cabernet Sauvignon

Figure 4 : Implication des différents systèmes de transport dans l'influx de nitrate en fonction de la concentration externe en nitrate

Figure 5 : Arbre phylogénétique et caractéristiques des séquences protéiques NRT d'*Arabidopsis thaliana* et les NRT putatives chez la vigne

Figure 6 : Schéma de l'assimilation de l'azote chez la vigne

Figure 7 : Coordination des métabolismes azoté et carboné

Figure 8 : Courbes de réponse de la fraction de biomasse représentée par les feuilles, tiges et racines à l'irradiance journalière et la disponibilité en nutriments

Figure 9 : Aires d'origine de repartition de *Vitis riparia*, *Vitis rupestris* et *Vitis berlandieri*

Figure 10 : Effet des deux porte-greffes 1103P et RGM sur la croissance végétative de Cabernet-Sauvignon

Figure 11 : Composition minérale des trois solutions nutritives utilisées pendant cette étude

Figure 12 : Schéma du plan d'expérimentation et des différents compartiments récoltés

Figure 13 : Schéma du plan d'expérimentation et des différents compartiments récoltés

Figure 1.1 : **A** et **B** Biomasse sèche totale des plantes (g) en fonction du temps ($^{\circ}\text{C}\cdot\text{jour}^{-1}$) et de la concentration externe en nitrate LN (0,8mM), MN (1,6mM), HN (2,45mM), n=5 ; **C** Biomasse sèche des tiges à t30 (g), tous traitements confondus, en fonction de la biomasse des troncs à t0 (g), n=5 ; **D** Prise de biomasse de la plante et **E** des tiges entre t0 et t30 (g) en fonction de la concentration en nitrate dans la solution nutritive (mM), n=5 ; **F** Allométrie entre la biomasse des tiges (g) et leur longueur (cm) à t30

Figure 1.2 : **A** Effet de la biomasse de la plante (g) sur le ratio biomasse racinaire:biomasse aérienne ; **B** et **C** quantité d'azote par plante en fonction du temps ($^{\circ}\text{C}\cdot\text{jour}^{-1}$) et des traitements azotés (LN, MN et HN)

Figure 1.3 : **A** Répartition de l'azote exogène (g) au sein de la plante en fonction des traitements azotés (LN, MN et HN) et du génotype du porte-greffe (RGM et 1103P) à t30, = feuilles, = tiges, =tronc, =racines, n=5 ; **B** Répartition de l'azote endogène (g) au sein de la plante en fonction des traitements azotés (LN, MN et HN) et du génotype du porte-greffe (RGM et 1103P) à t0 et à t30, même codification que pour **A**, n=5 ; **C** Quantité d'azote

absorbée au cours des 30 jours d'expérimentation en fonction des traitements azotés (LN, MN et HN) et du génotype du porte-greffe (RGM et 1103P), n=5 ; **D** Biomasse sèche des tiges (g) des plantes greffées sur RGM ou sur 1103P en fonction de leur contenu en azote (mg) ; **E** et **F** Quantité d'azote endogène et exogène (mg) contenu dans les tiges de CS/RGM (**E**) et CS/1103P (**F**) en fonction du temps (jours) et des traitements azotés (LN, MN et HN)

Figure 1.4 : **A** Quantité de N d'origine exogène et endogène dans les tiges de RGM et de 1103P à t15, n=5 ; **B** Quantité de N foliaire (mg) en fonction des traitements azotés (LN, MN et HN) et du génotype de porte-greffe (RGM et 1103P), n=5 ; **C** Quantité de N dans les feuilles (g) pour 100 grammes de biomasse sèche foliaire en fonction des traitements azotés (LN, MN et HN) et du génotype de porte-greffe (RGM et 1103P)

Figure 1.5 : **A** et **B** Quantité de carbone (g) par plante en fonction du temps ($^{\circ}\text{C}\cdot\text{jour}^{-1}$) et des traitements azotés (LN, MN et HN), n=5 ; **C** Accumulation de Carbone (g) entre t0 et t30 en fonction du porte-greffe (RGM et 1103P) et du traitement azoté (LN, MN et HN), n=5 ; **D** Répartition du carbone (g) au sein de la plante en fonction des traitements azotés (LN, MN et HN) et du génotype du porte-greffe (RGM et 1103P) à t0 et t30, =feuilles, = tiges, =tronc, =racines, n=5 ; **E** Ratio Carbone total dans la plante (g) : N total dans la plante (g) en fonction du génotype du porte greffe (RGM et 1103P) et des traitements azotés (LN, MN et HN), n=5 ; **F** Ratio N total dans le compartiment racinaire (g) : N total dans le compartiment aérien (feuilles + tiges) (g) en fonction du génotype du porte greffe (RGM et 1103P) et des traitements azotés (LN, MN et HN)

Figure 1.6 : **A** et **B** Biomasse sèche totale des plantes (g) en fonction du temps ($^{\circ}\text{C}\cdot\text{jour}^{-1}$) et de la concentration externe en nitrate LN (0,8mM), MN (1,6mM), HN (2,45mM), n=5 ; **C** Biomasse sèche des tiges à t60 (g), tous traitements confondus, en fonction de la biomasse des troncs à t0 (g), n=5 ; **D** Prise de biomasse de la plante et **E** des tiges entre t0 et t60 (g) en fonction de la concentration en nitrate dans la solution nutritive (mM), n=5 ; **F** Allométrie entre la biomasse des tiges (g) et leur longueur (cm) t60

Figure 1.7 : **A** et **B** quantité d'azote par plante en fonction du temps ($^{\circ}\text{C}\cdot\text{jour}^{-1}$) et des traitements azotés (LN, MN et HN), n=5 ; **C** (RGM) et **D** (1103P) quantité d'azote exogène accumulé en fonction du temps ($^{\circ}\text{C}\cdot\text{jour}^{-1}$) et des traitements azotés (LN, MN et HN)

Figure 1.8 : **A** (CS/RGM) et **B** (CS/1103P) Vitesse d'absorption de N ($\mu\text{g}\cdot^{\circ}\text{C}^{-1}\cdot\text{jour}^{-1}$) en fonction du temps ($^{\circ}\text{C}\cdot\text{jour}^{-1}$) et des traitements azotés (LN, MN et HN), n=5 ; **C** Azote absorbé (g) entre t0 et t60 en fonction du porte-greffe (RGM et 1103P) et du traitement azoté

(LN, MN et HN), n=5 ; **D** (CS/RGM) et **G** (CS/1103P) Allocation de N absorbé (%) au sein de la plante en fonction des traitements azotés (LN, MN et HN) à t15, t30, t45 et t60, =feuilles, = tiges, =tronc, =racines, n=5 ; **E** (CS/RGM) et **H** (CS/1103P) Pourcentage de N du compartiment néo Feuilles issu de la remobilisation du N endogène en fonction du temps (°C/jour) et des traitements azotés (LN, MN et HN), n=5 ; **F** (CS/RGM) et **I** (CS/1103P) Pourcentage de N du compartiment néo Tiges issu de la remobilisation du N endogène, en fonction du temps (°C/jour) et des traitements azotés (LN, MN et HN)

Figure 1.9 : A et B Quantité de carbone (g) par plante en fonction du temps (°C.jour⁻¹) et des traitements azotés (LN, MN et HN), n=5 ; **C** Vitesse d'accumulation du carbone de CS/RGM et CS/1103P en fonction du temps (°C.jour⁻¹) et du traitement azoté (LN, MN et HN)

Figure 1.10 : A Répartition du carbone (g) au sein de la plante en fonction des traitements azotés (LN, MN et HN) et du génotype du porte-greffe (RGM et 1103P) à t0 et t30 ; **B** Accumulation de Carbone (g) entre t0 et t60 en fonction du porte-greffe (RGM et 1103P) et du traitement azoté (LN, MN et HN), n=5 ; **C** Ratio N total dans le compartiment racinaire (g) : N total dans le compartiment aérien (feuilles + tiges) (g) en fonction du génotype du porte greffe (RGM et 1103P) et des traitements azotés (LN, MN et HN), n=5 ; **D** Ratio Carbone total dans la plante (g) : N total dans la plante (g) en fonction du génotype du porte greffe (RGM et 1103P) et des traitements azotés (LN, MN et HN)

Figure 2.1 : Concentration en nitrate dans les feuilles (**A, D**), tiges (**B, E**) et racines (**C, F**) de CS/RGM (**A,B,C**) et CS/1103P (**D,E,F**) en fonction du temps (°C.jour⁻¹) et des traitements azotés **LN** et **HN**

Figure 2.2 : Concentration en acides aminés dans les feuilles (**A, D**), tiges (**B, E**) et racines (**C, F**) de CS/RGM (**A,B,C**) et CS/1103P (**D,E,F**) en fonction du temps (°C.jour⁻¹) et des traitements azotés **LN** et **HN**

Figure 2.3 : Carte de chaleur de l'évolution de la concentration de 19 acides aminés dans les feuilles et les racines en fonction du génotype du porte-greffe (RGM et 1103P), du traitement azoté (LN, MN et HN) et de la durée des traitements (t0, t15 et t60)

Figure 2.5 : Concentration en Pi dans les feuilles, tiges et racines de CS/RGM et CS/1103P

Figure 2.4 : Concentration en azote contenu dans les acides aminés dans les feuilles (**A, D**), tiges (**B, E**) et racines (**C, F**) de CS/RGM (**A,B,C**) et CS/1103P (**D,E,F**) en fonction du temps ($^{\circ}\text{C}\cdot\text{jour}^{-1}$) et des traitements azotés **LN** et **HN**

Figure 2.6 : **A** et **B** Analyse par ACP des relations entre les différents métabolites (Amd=amidon, SS=sucres solubles, Sacch=saccharose, Glc=glucose, Fct=fructose, Pi=Phosphate inorganique, P=protéines, AM=acide malique, AT=acide tartrique, AA=acides aminés totaux) dans les racines (R), tronc (Tc), tiges (Tg) et feuilles (F) à t60 chez CS/RGM(**A**) et CS/1103P (**B**). **C** et **D** Réseaux de corrélations intermétabolites chez CS/RGM (**C**) et CS/1103P (**D**)

Figure 3.1: Concentration of each macro-nutrient for the three solutions

Figure 3.2: Root:shoot ratio of the CS/RGM and CS/1103P grown under three N treatments

Figure 3.3: Mineral concentration in leaves (a) and roots (b) of the two combinations (CS/RGM and CS/1103P) in response to three N treatments (0.8, 1.6 and 2.45mM KNO_3^-)

Figure 3.4: Correlation wheels of the mineral–mineral interactions in CS/RGM and CS/1103P

Figure 4.1: Représentation schématique du fonctionnement du modèle

Figure 4.2 : Expérimentation menée en Aout 2013 pour la calibration du modèle

Figure 4.3 : Evolution de la biomasse racinaire (A,B), des tiges feuillées (C,D) et du rapport root:shoot (E,F), chez CS/RGM (A,C,E) et CS/1103P (B,D,F) en fonction du temps et des traitements azotés LN et HN

Plan détaillé

Introduction	3
Contexte scientifique	7
A. L'azote chez la vigne.....	7
A.1. Données agronomiques.....	7
A.1.1. Dynamiques de N au vignoble	7
A.1.2. Effet de N sur la croissance de la vigne	9
A.1.3 Effet sur l'absorption des autres éléments minéraux	9
A.1.4. Effet sur la photosynthèse	9
A.1.5. Effet sur les maladies	11
A.1.6. Effet sur la production de baies de qualité	11
A.2 Métabolisme de N chez la vigne.....	13
A.2.1 Absorption du nitrate	13
A.2.2 Assimilation de l'azote.....	15
A.2.3 Régulation de l'absorption et de l'assimilation de N	19
B. Le greffage.....	23
B.1. Généralités	23
B.2. Greffage et porte-greffes chez la vigne.....	23
B.3. Le greffage outil en biologie végétale	25
C. Impact du porte-greffe sur la physiologie de la vigne greffée.....	27
C.1. Croissance végétative.....	27
C.2. Acquisition des minéraux et porte-greffes	29
C.2.1 Absorption minerale	29
C.2.2 Croissance et morphologie du système racinaire	31
C.2.3 Efficience d'Utilisation de l'Azote (NUE).....	33

C.3. Photosynthèse et porte-greffe	33
C.4. Impact du porte-greffe sur la baie	37
C.4.1 Sur le rendement.....	37
C.4.2 Sur la composition biochimique de la baie	37
D. Approche de biologie intégrative par modélisation	39
Conclusions et Objectifs de travail	43
Matériel et méthodes	49
1. Stratégie expérimentale	49
2. Solutions nutritives.....	49
3. Matériel végétal.....	51
4. Conditions de culture	53
4.1. Expérimentation 1.....	53
4.2. Expérimentation 2.....	53
5. Prélèvements et mesures effectuées	55
5.1 Expérimentation 1.....	55
5.2 Expérimentation 2.....	55
6. Calcul d'indices de croissance et d'allocation	57
7. Analyses élémentaires et isotopiques	59
8. Analyse des métabolites	61
8.1 Broyage et extractions	61
8.2 Dosage des métabolites	61
9. Analyses minérales de l'expérimentation 2	65
10. Analyses statistiques	65
11. Réseaux de corrélation	65
Chapitre 1.....	69
Objectifs et hypothèses de travail.....	69
Stratégies expérimentales et méthodologiques	69

Résultats	71
Expérimentation 1 :	71
Analyse de croissance.....	71
Dynamiques d'accumulation de biomasse	71
Analyses élémentaires et isotopiques.....	75
Expérimentation 2 :	83
Analyse de croissance.....	83
Analyse élémentaire et isotopique	85
Discussion	91
Chapitre 2	97
Objectifs et hypothèses de travail.....	97
Stratégies expérimentales et méthodologiques	97
Résultats	97
Discussion	103
Chapitre 3	111
Objectifs et hypothèses de travail.....	111
Stratégies expérimentales et méthodologiques	111
Article.....	111
Abstract.....	111
Introduction	113
Material and Methods	117
Plant material	117
Nutrient Solutions	117
Mineral analyses	119
Statistical analysis	119
Heatmap	119
Correlation wheels	119

Results	119
Discussion.....	123
Chapitre 4	131
Introduction et objectifs	131
Description du modèle	131
Cadre conceptuel et approche de modélisation	131
Formalismes mathématiques	135
Absorption de l'azote minéral.....	135
Fixation du carbone.....	135
Définition de la demande en N et C et répartition de l'offre	137
Paramétrisation et sorties du modèle.....	139
Conclusions - perspectives	141
Conclusion générale et perspectives	143
Bibliographie	153
Annexe 1 :	177
Impact de la source azotée, ammonium et nitrate, sur la croissance de CS/RGM et CS/1103P	177
Annexe 2	179
Communications orales et écrites	181
Communications orales	181
Posters	181

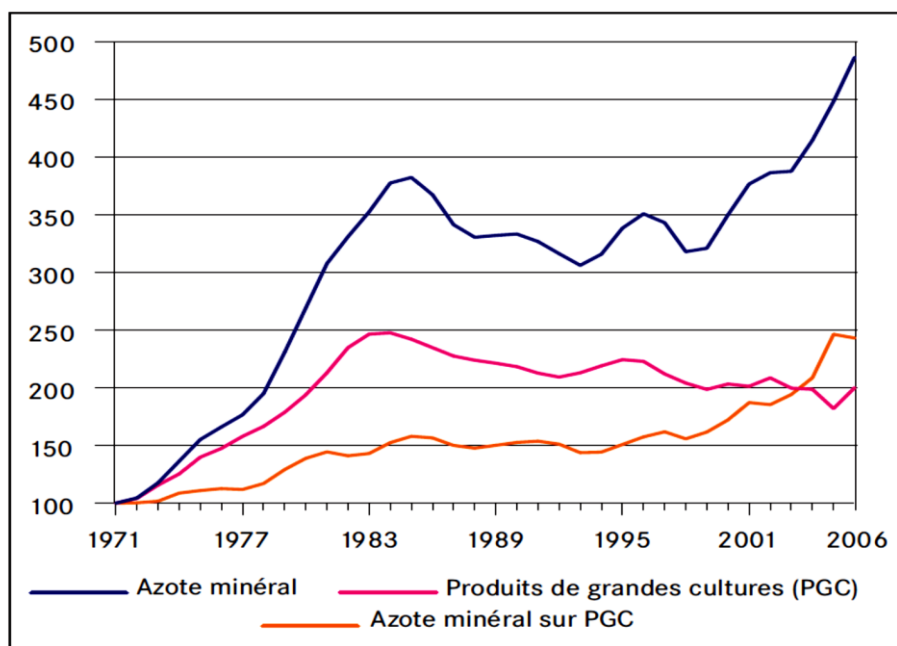
INTRODUCTION

La Vigne (*Vitis vinifera L.*) est cultivée en France sur 774000 ha répartis entre 35000 domaines. Cette culture permet la production d'environ 50 millions d'hectolitres de vin par an soit 20% de la production mondiale de vin, faisant de la France le premier producteur mondial. La filière viti-vinicole est un maillon essentiel de l'économie nationale qui représente 250000 emplois directs, dont le chiffre d'affaire est évalué à 11 Md d'euros et qui a exporté en 2011 pour 7,17 Md d'euros, ce qui en fait en valeur le 3^{ème} secteur économique exportateur derrière la parfumerie et l'aéronautique (Conseil Interprofessionnel des Vins de Bordeaux, 2010). Le vignoble bordelais s'étend sur 119000 ha dont 117500 classés en AOC. Le classement des vignobles en AOC traduit le fort ancrage du vin dans la région et la spécificité du terroir Bordelais. Le cadre réglementaire des AOC contraint l'utilisation d'outils de correction de défauts du vin (copeaux de bois, acidification, enrichissement en sucre...). L'élaboration d'un vin de qualité est donc directement liée à l'obtention de baies de qualité, qui nécessite une agronomie viticole de précision.

En Europe, la culture de la vigne a bien failli disparaître à la fin du XIX^{ème} siècle, avec l'invasion du vignoble par le phylloxera. La destruction du vignoble a été contrée en greffant les cépages d'origine sur des porte-greffes nord-américains tolérants à ce puceron (Howell *et al.*, 1987). Les porte-greffes peuvent aussi conférer à la plante greffée une certaine résistance à des stress biotiques et abiotiques tel que les fortes concentrations en calcaire du sol mais aussi la sécheresse édaphique (Gregory *et al.*, 2013; May, 1994; McCarthy and Cirami, 1990). Cette caractéristique est particulièrement intéressante dans le contexte du changement climatique qui devrait avoir pour conséquence de modifier la physiologie de la vigne et la qualité de la production (Duchêne *et al.*, 2010; Hall and Jones, 2009; Webb *et al.*, 2007). De plus, il est connu que les porte-greffes peuvent moduler la croissance végétative du greffon (ou vigueur) : on parle de « vigueur conférée » par le porte-greffe au greffon (Ollat *et al.*, 2003). Les viticulteurs utilisent cette propriété pour limiter la croissance végétative de la vigne qui, si elle est trop forte, est défavorable à l'élaboration de raisins de qualité. Les porte-greffes sont donc une opportunité pour le viticulteur d'adapter sa culture aux contraintes du terroir, faisant du porte-greffe un outil de gestion du vignoble à part entière. Cependant, malgré les nombreuses observations empiriques obtenues au vignoble, les relations entre le porte-greffe et le greffon et les déterminismes de la résistance aux stress abiotiques et de la

Table 1 : Besoins annuels en azote (kg/ha) de 4 espèces de grande culture (vigne, blé, colza, pommier).

Espèce	Besoins en N	Rendement	source
Vigne	30 kg/ha	40 à 60 hl/ha	<i>Delas, 2000</i>
Blé	168 kg/ha	70 q/ha	<i>Liu, 2003</i>
Colza	180 kg/ha	30 q/ha	<i>Leblanc, 2013</i>
Pommier	40 kg/ha		<i>Nielsen, 2009</i>



Source : INSEE (compte national de l'agriculture et IPAMPA)

Figure 1 : Evolution du prix (euros) de l'azote minéral et des produits de "grandes cultures" entre 1970 et 2008 (moyenne triennale glissante : base 100 en moyenne 1970-71-72).

vigueur conférée demeurent mal compris. Des études ont cependant mis en évidence que l'impact du génotype du porte-greffe sur la vigueur du greffon est d'autant plus important que la disponibilité minérale et particulièrement azotée est faible (Delas, 1992; Zerihun and Treeby, 2002).

La vigne consomme relativement peu d'azote en comparaison à d'autres espèces de grande culture (table 1). Dans les vignobles de cru, où la qualité est recherchée, la vigne est souvent cultivée sur des sols peu fertiles, peu profonds et parfois en pente (Delas, 2000). Ce n'est que dans ces sols, en limite de stress hydrique et de contrainte minérale que la vigne oriente son métabolisme vers la synthèse de composés phénoliques et aromatiques, et exprime ainsi pleinement son potentiel aromatique (Delas, 2000). Une fertilisation azotée trop importante a pour conséquence d'augmenter la vigueur de la vigne, dommageable pour l'élaboration de raisins de qualité (Delas, 2000). La difficulté pour le viticulteur réside dans la gestion raisonnée de la fertilisation azotée qui doit permettre une croissance végétative modérée sans pour autant induire de carence. L'Union Européenne s'est engagée dans la lutte contre la pollution des eaux par les intrants agricoles (engrais chimiques ou organiques). Par la directive 91/676/CEE, l'Union s'est dotée d'une législation qui contraint les états membres à réduire et prévenir la pollution des eaux par les nitrates. Même si la vigne est une faible consommatrice d'intrants azotés, l'interdiction des amendements sur les pentes de plus de 15% et leur limitation posent problème, particulièrement sur les parcelles enherbées. En plus de ces contraintes légales, des contraintes financières pèsent sur les intrants azotés. La synthèse d'azote minéral par réaction de Haber-Bosch nécessite pour la fixation de l'azote atmosphérique, une source d'hydrogène majoritairement issue du gaz (70%) et du charbon (25%) dont les prix sont voués à l'augmentation (figure 1) (GCL Développement Durable, 2010). Ces contraintes légales et financières vont probablement entraîner une diminution des intrants et les porte-greffes, par leurs capacités de captation de la ressource minérale contrastées, sont une des perspectives intéressantes pour la gestion de la nutrition azotée au vignoble.

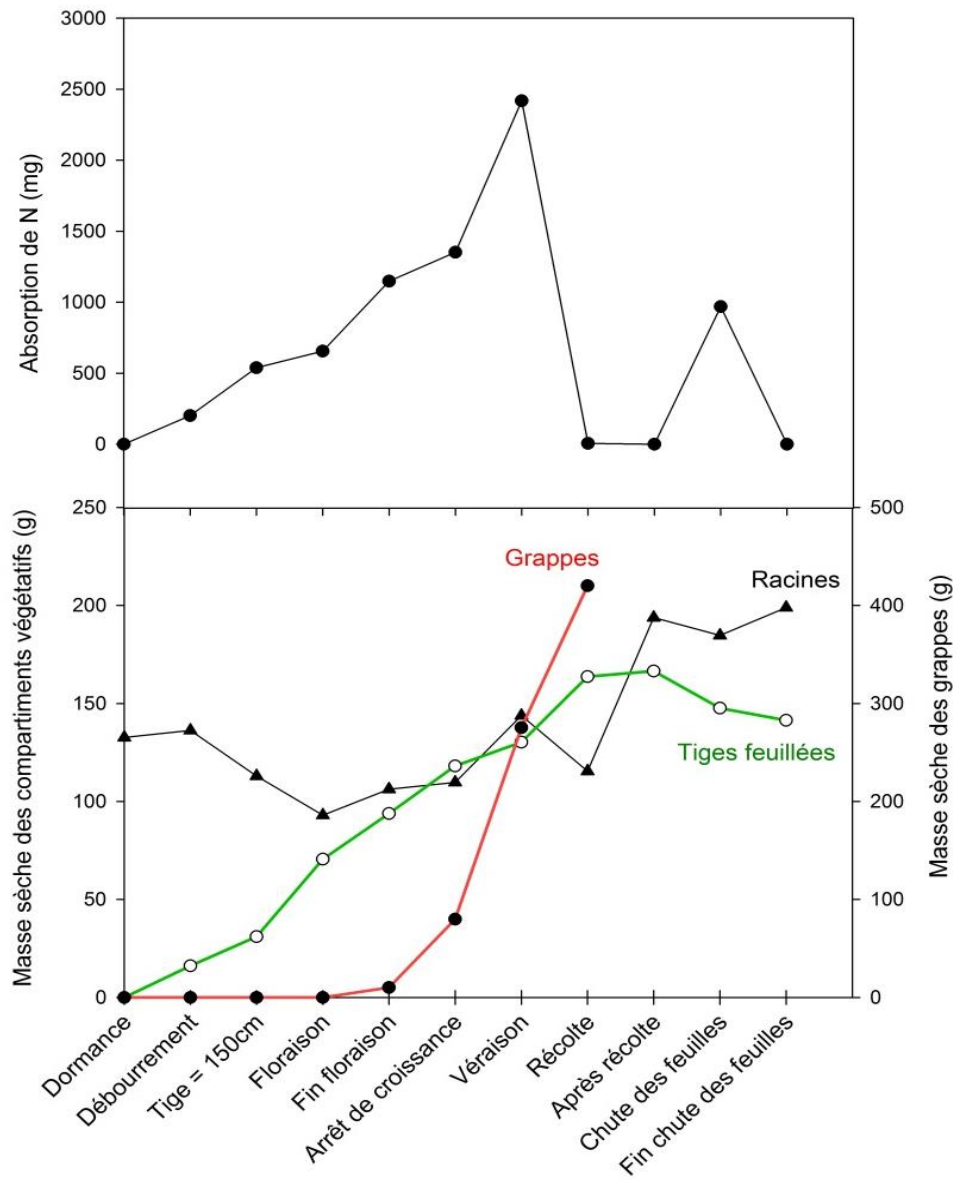


Figure 2 : Absorption de l'azote et biomasse des différents compartiments en fonction du stade de développement de la vigne. (D'après Conradie, 1980)

CONTEXTE SCIENTIFIQUE

A. L'AZOTE CHEZ LA VIGNE

A.1. DONNEES AGRONOMIQUES

A.1.1. DYNAMIQUES DE N AU VIGNOBLE

L'azote est l'un des principaux facteurs qui conditionne la production végétale. Chez la vigne, les effets de l'azote sur la physiologie de la plante ont été décrits dans de nombreuses revues et ouvrages (Bell and Henschke, 2005; Keller, 2010; Loulakakis *et al.*, 2009; Roubelakis-Angelakis and Kliewer, 1992; Stefanelli *et al.*, 2010), montrant que l'azote minéral est le principal facteur limitant la quantité et la qualité de la production. La disponibilité de l'azote dans le sol fluctue au cours de la saison et peut contraindre la croissance végétative et la fructification de la vigne (Christou *et al.*, 2006; Keller *et al.*, 1998). La vigne étant une plante pérenne, la source d'azote pour la croissance a pour origine i.) la mobilisation des réserves azotées et ii.) l'absorption racinaire. La dynamique des besoins azotés de la vigne suit les cinétiques de croissance des différents compartiments de la plante (figure 2). Après la période de repos hivernal, la vigne va assurer la croissance et le développement des compartiments végétatif (racines, tronc, tiges, feuilles) et reproducteur (inflorescence) du débourrement jusqu'à la floraison. Pendant cette période, la majorité de l'azote et du carbone utilisés pour la croissance provient de la mobilisation des réserves situées dans les parties pérennes de la plante (racines, tronc) (Conradie, 1992; Zapata *et al.*, 2004). Le caractère pérenne de la vigne la rend tributaire de ses réserves azotées, qui jouent un rôle crucial dans la croissance, particulièrement en début de cycle (Tromp, 1983). Selon les auteurs, le compartiment réserves des parties pérennes contribue pour 40 à 80% des besoins azotés annuels de la vigne (Bates *et al.*, 2002; Schreiner *et al.*, 2006; Wermelinger, 1991). La vigne n'absorbe l'azote qu'à partir du stade 5-6 feuilles (Keller, 2010) et, jusqu'à la floraison, l'absorption ne contribue que faiblement aux besoins azotés pour la croissance. En revanche, entre la floraison et la véraison, l'absorption azotée est importante et prend le relais des réserves pour alimenter les parties végétatives et les grappes en N. C'est à cette période réserves faibles/absorption forte qu'une déficience azotée dans le sol est la plus dommageable à la production. Durant la période véraison-maturité, l'absorption azotée décroît fortement par manque d'énergie et de substrats carbonés dans les racines, en particulier en raison de la compétition forte exercée par les baies pour les photoassimilats (Goutouly, 2011). A l'issu de

la récolte, qui voit la suppression des puits majeurs, l'absorption azotée connaît un regain qui permet la reconstitution des réserves azotées, essentielles pour assurer la pérennité de la plante (Conradie, 1992).

A.1.2. EFFET DE N SUR LA CROISSANCE DE LA VIGNE

De nombreuses études ont rapporté que les apports d'azote augmentent la croissance végétative de la vigne (Conradie, 2001a; Keller *et al.*, 1998; Zerihun and Treeby, 2002). Cette augmentation de croissance se traduit par une longueur des tiges (primaires et secondaires), une surface foliaire, et des poids de bois de taille plus importants. Seule une étude n'a constaté aucun effet de la nutrition azotée sur la vigueur de la plante (Martin *et al.*, 2003). La quantité d'azote apportée à la vigne modifie la répartition de la biomasse entre parties aériennes et racinaires. En réponse à une augmentation de la concentration en azote, la plante alloue moins de biomasse aux racines, avec plus ou moins d'amplitude selon le génotype du porte-greffe (Rodriguez-Lovelle and Gaudillere, 2002; Zerihun and Treeby, 2002).

A.1.3 EFFET SUR L'ABSORPTION DES AUTRES ELEMENTS MINERAUX

Au vignoble, une sur-fertilisation azotée a pour effet de limiter la disponibilité des anions (particulièrement $\text{H}_2\text{PO}_4^{2-}$) et d'augmenter celle des cations (K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}) (Keller and Koblet, 1995). Cette plus forte disponibilité cationique pourrait avoir pour conséquence d'en augmenter l'absorption (Keller *et al.*, 2001) mais a aussi pour conséquence de rendre les cations plus sensibles au lessivage (Keller, 2010). D'un point de vue physiologique, le déficit d'un nutriment a de nombreux effets sur l'absorption d'autres éléments minéraux, laissant apparaître de nombreuses interactions dans la régulation et la coordination de l'absorption minérale (Amtmann and Armengaud, 2009; Baxter *et al.*, 2008; Borlotti *et al.*, 2012; Schachtman and Shin, 2007). L'étude récente de Schreiner *et al.* a mis en évidence que chez la vigne, une diminution de la nutrition azotée avait pour conséquence d'augmenter la concentration foliaire en P et de diminuer celle en N et K (Schreiner *et al.*, 2013). Cependant, peu d'études ont été menées à ce sujet qui semble pourtant se révéler primordial dans la compréhension de l'effet de la nutrition azotée sur la croissance des plantes.

A.1.4. EFFET SUR LA PHOTOSYNTHESE

Le N est un constituant essentiel de l'appareil photosynthétique, et pour les plantes en C3, jusqu'à 75% du N réduit des feuilles entre dans la composition des protéines des chloroplastes (Evans, 1989). Chez les végétaux, une carence azotée a pour principal symptôme un jaunissement des feuilles, provoqué par la dégradation de la chlorophylle



Figure 3: Effet de la nutrition azotée sur le phénotype foliaire de Cabernet Sauvignon. Feuilles de LPI = 4. Concentrations azotées : 2,3 et 0.8 mM
Photo J. Lecourt, 2013

(figure 3). En revanche, l'augmentation de la concentration en N dans le milieu a pour conséquence de ralentir la dégradation de la chlorophylle et la sénescence des feuilles entraînant une augmentation de l'activité photosynthétique (Keller *et al.*, 1998). De plus, une nutrition azotée plus importante entraîne une augmentation de la concentration en azote foliaire qui est corrélée positivement à l'activité des enzymes associées à l'appareil photosynthétique (RUBISCO, la PRK, FBPase, SPS, AGPase et GAPDHase) (Chen and Cheng, 2003). L'effet de l'azote sur la photosynthèse est indirect : la diminution de la disponibilité donc de l'absorption azotée entraîne une diminution de la demande en squelettes carbonés nécessaires à l'assimilation azotée (Lawlor, 2002). La demande en C étant plus faible, l'exportation des sucres chute et la concentration en amidon augmente dans la feuille, ce qui inhibe par rétrocontrôle la photosynthèse (Hermans *et al.*, 2006).

A.1.5. EFFET SUR LES MALADIES

Chez la vigne, une alimentation azotée trop importante provoque l'apparition de maladies, de désordres physiologiques favorisés par une consommation de luxe en N par la plante (Gysi 1993, Champagnol 1984, Perret 1994 cités par (Keller *et al.*, 2001)). En particulier, les forts apports d'azote peuvent entraîner une nécrose des tiges et favoriser le développement du champignon *Botrytis cinerea* à l'origine de la « pourriture grise » (Christensen *et al.*, 1994; Keller *et al.*, 2001; Mundy, 2008).

A.1.6. EFFET SUR LA PRODUCTION DE BAIES DE QUALITE

La qualité de la baie de raisin est déterminée par sa composition biochimique et le profil biochimique recherché diffère selon le type de vin produit. Parmi les nombreux facteurs ayant un impact sur la composition biochimique de la baie de raisin (température, régime hydrique, UVs...), l'azote est connu pour son influence sur la qualité de la baie. De manière générale, les apports azotés ont pour conséquence d'augmenter la taille des baies et d'avancer la date de nouaison, entraînant une augmentation des rendements (Bell and Robson, 1999; Conradie, 2001a; Keller *et al.*, 2001). L'azote modifie certains paramètres déterminants dans la qualité de la baie : pH, concentrations en acides aminés, acides organiques et sucres solubles. Il a été démontré chez Cabernet Sauvignon, Riesling et Chardonnay qu'une application de N entraînait une augmentation de pH associée à une baisse de la qualité de la production (Ruhl *et al.*, 1992). Une application de N au vignoble a pour effet d'augmenter la teneur en acides aminés (Hilbert *et al.*, 2003; Treeby *et al.*, 1998) et en acides organiques - tartrate, malate et citrate- (Ruhl *et al.*, 1992) dans la baie. Sources d'azote pour les levures lors de la vinification, les acides aminés sont essentiels à l'élaboration de vin de qualité et une

alimentation azotée trop faible est connue pour ralentir fortement la fermentation alcoolique (Ferrari, 2002; Stockert *et al.*, 2013). De plus, une fertilisation azotée trop importante provoque une diminution de la concentration en sucres dans la baie (Conradie, 2001b; Keller *et al.*, 1998; Martin *et al.*, 2003; Ruhl *et al.*, 1992). Cette diminution est associée à une vigueur forte de la plante, entraînant une forte compétition entre la croissance végétative et les baies pour les substrats carbonés (Delgado *et al.*, 2004). Pour l'élaboration de vins rouges, une alimentation de la vigne et donc de la baie trop faible a pour conséquence d'altérer le profil idéal anthocyanidique des jus (Rodriguez-Lovelle and Gaudillere, 2002; Treeby *et al.*, 1998) alors qu'une nutrition N modérée favorise la biosynthèse de métabolites secondaires dont les acides aminés sont parfois précurseurs. Dans la baie, la Phénylalanine est à l'origine de la voie des phénylpropanoïdes qui mène à la synthèse des anthocyanes et autres flavonols, composés majeurs dans l'établissement des qualités organoleptiques du vin. La coloration de la baie puis du vin est plus importante lorsque les apports azotés sont modérés, favorisant ainsi la synthèse des anthocyanes (Delgado *et al.*, 2004). Concernant l'élaboration de vins blancs, l'alimentation azotée de la vigne doit être plus conséquente que pour les vins rouges afin de permettre la synthèse de précurseurs d'arômes cystéinylés et de favoriser la production de glutathion, protecteur des thiols. De plus, une alimentation trop faible en azote a pour conséquence de diminuer la production d'acide malique, à l'origine de la fraîcheur des vins blancs (Choné, 2001). Les vignes trop faiblement alimentées en azote sont donc à l'origine de vins blancs lourds, peu aromatiques et inaptes au vieillissement. Une gestion optimale de la ressource azotée est nécessaire pour ne pas favoriser un développement végétatif excessif tout en maintenant une teneur en azote suffisante dans les raisins et les moûts.

A.2 METABOLISME DE N CHEZ LA VIGNE

A.2.1 ABSORPTION DU NITRATE

Le nitrate est la source privilégiée de N pour la vigne (Bair *et al.*, 2008; Keller and Koblet, 1995; Keller *et al.*, 2001). L'azote est également absorbé sous forme d'ammonium, d'acides aminés ou d'urée via des mécanismes non décrits ici mais qui ont fait l'objet de revues récentes (Kraiser *et al.*, 2011; von Wirén *et al.*, 2000). La physiologie de l'absorption du nitrate -et plus globalement, de l'azote- a très peu été étudiée chez la vigne et la plupart des connaissances sont déduites par analogie avec d'autres plantes. Les mécanismes moléculaires de l'absorption du nitrate ont été largement étudiés chez *Arabidopsis thaliana* (Castaings *et*

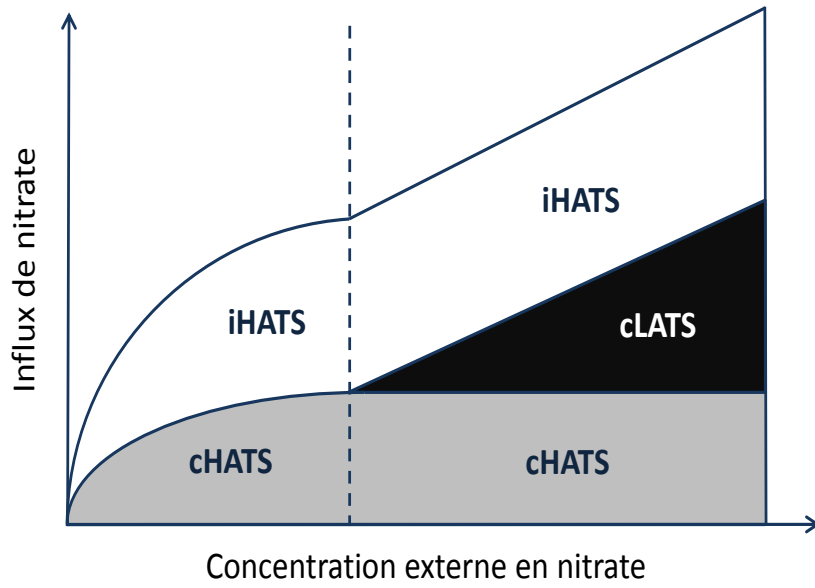


Figure 4 : Implication des différents systèmes de transports dans l'influx de nitrate en fonction de la concentration externe en nitrate.

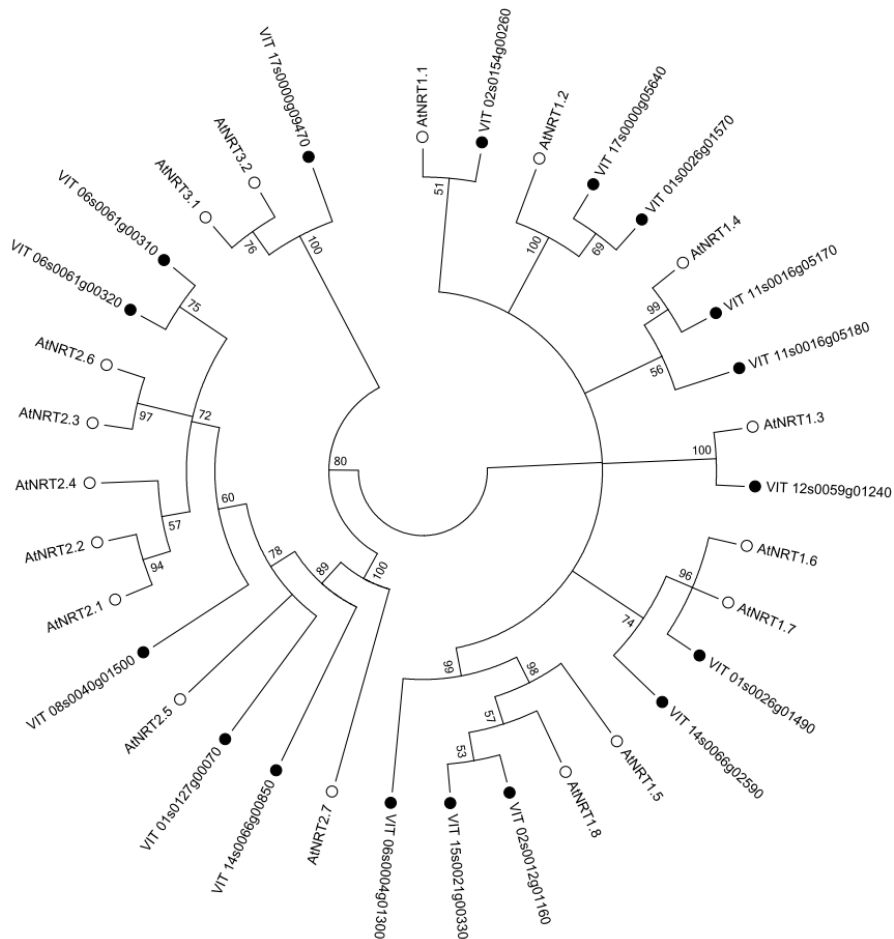


Figure 5 : Arbre phylogénétique et caractéristiques des séquences protéiques NRT d'*Arabidopsis thaliana* (○) et les NRT putatives chez la vigne (●). L'arbre phylogénétique a été réalisé à l'aide du logiciel Mega, version 5.

al., 2010; Nacry *et al.*, 2013; Vidal *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2012). Les travaux pionniers de Doddema chez *Arabidopsis* (Doddema and Telkamp, 1979) et de Siddiqi chez *Hordeum vulgare* (Glass *et al.*, 1990; Siddiqi *et al.*, 1990) ont permis de mettre en évidence les cinétiques d'absorption du nitrate. Couplés à la théorie « enzyme-substrat » d'Epstein (Epstein, 1953, 1966; Epstein *et al.*, 1963), ces travaux ont permis de mettre en évidence la coexistence de deux systèmes d'absorption de l'azote : i.) un système haute affinité saturable (HATS) qui fonctionne pour de faibles concentrations en nitrate (de l'ordre du μM) et ii.) un système faible affinité (LATS), linéaire et non saturable, opérant pour des concentrations supérieures à 1mM (figure 4) (Okamoto *et al.*, 2003).

Les gènes codant les transporteurs de nitrate à l'origine de ces deux systèmes ont été identifiés et se répartissent en deux familles multigéniques NRT1 et NRT2 (Orsel *et al.*, 2002a; Tsay *et al.*, 2007). Ces transporteurs ont des localisations, des affinités et des profils d'expression qui diffèrent, laissant deviner un réseau complexe de transporteurs impliqués dans l'absorption du nitrate (Masclaux-Daubresse *et al.*, 2010). Ces deux familles codent pour des symports (H^+/NO_3^-) dont l'activité est dépendante du gradient de pH transmembranaire. Le gradient de pH est maintenu grâce à l'action de pompes H^+/ATPase qui compensent le symport H^+/NO_3^- . La famille NRT1 est constituée de 53 membres identifiés chez *Arabidopsis thaliana*, 28 ont été identifiés chez la vigne (figure 5) (Rossdeutsch, 2012). Les membres de cette famille sont des transporteurs de type LATS, à l'exception du transporteur à double affinité NRT1.1 qui se comporte en LATS ou HATS selon son état de phosphorylation (Liu and Tsay, 2003). La famille NRT2 est constituée de 7 membres dont 6 identifiés chez la vigne (figure 5). Les membres de cette famille sont des transporteurs de type HATS (Orsel *et al.*, 2002b).

A.2.2 ASSIMILATION DE L'AZOTE

Chez la vigne, le nitrate absorbé peut être directement assimilé dans les cellules racinaires, stocké dans les vacuoles racinaires ou transloqué vers les parties aériennes via la voie xylemienne et assimilé dans les feuilles ou stocké (figure 6) (Loulakakis *et al.*, 2009). Il a été observé que plus la concentration en azote externe est forte, plus l'assimilation foliaire devient prédominante (Sechley, 1992; Zerihun and Treeby, 2002). L'assimilation du nitrate est un processus divisé en plusieurs étapes et coûteux en énergie (15% de l'énergie totale produite par la plante).

Chez les végétaux, la première étape de l'assimilation du nitrate réside dans sa conversion via deux étapes de réduction successives en nitrite puis en ammonium. La réduction du nitrate en

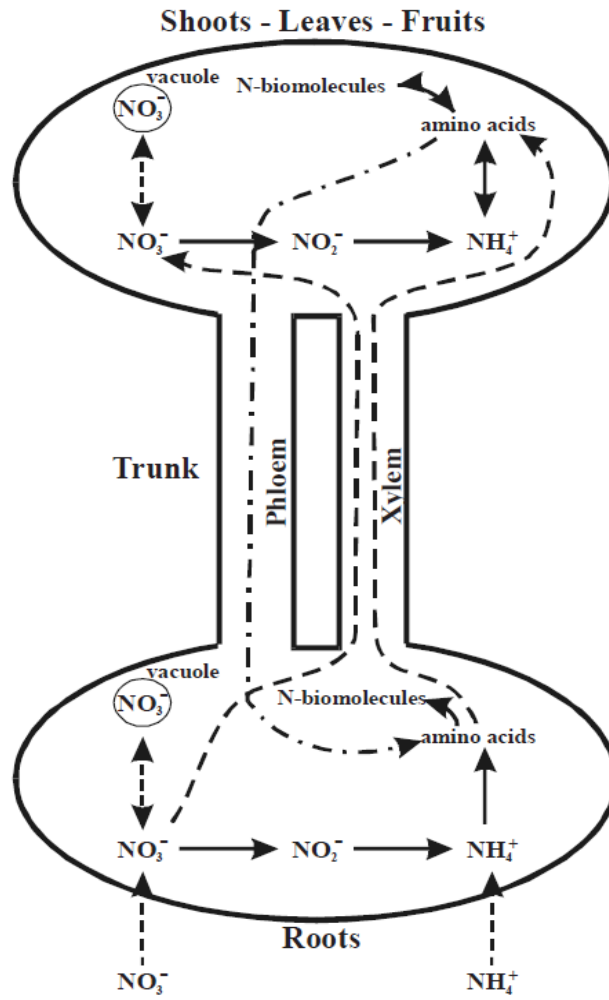


Figure 6 : Schéma de l'assimilation de l'azote chez la vigne, d'après Loulakakis *et al.*, 2001

nitrite est catalysée par la Nitrate Réductase (NR) dans le cytosol et consomme deux électrons. Le nitrite est ensuite réduit en ammonium dans les plastes par la Nitrite Réductase (NiR), consommant 6 électrons. Les 8 électrons nécessaires à la formation d'ammonium proviennent de l'oxydation des glucides dans les tissus non chlorophylliens, de l'oxydation des glucides ($2 e^-$) pour la NR et de la captation de l'énergie lumineuse via la ferredoxine ($6 e^-$) pour la NiR (Loulakakis and Roubelakis-Angelakis, 2001).

L'ammonium est la forme primaire d'azote inorganique, impliquée dans le catabolisme et la synthèse d'azote organique. Il peut être issu de l'assimilation du nitrate mais aussi directement absorbé (Glass *et al.*, 2002) ou libéré par les processus de photorespiration, de la déamination des acides aminés, de la voie des phenylpropanoïdes (Loulakakis *et al.*, 2009). La toxicité de l'ammonium conduit à sa rapide conversion en acides aminés par le cycle GS/GOGAT. La Glutamine Synthase (GS) est la première enzyme impliquée dans l'assimilation de l'ammonium, elle catalyse la formation ATP dépendante de glutamine à partir d'ammonium et de glutamate. Deux isoformes de GS sont présentes chez les plantes, GS1 et GS2 localisées respectivement dans le cytosol et dans les plastes (Masclaux-Daubresse *et al.*, 2010). De même, il existe deux isoformes de Glutamine:2Oxoglutarate AminoTransferase (GOGAT), qui diffèrent par l'origine de leur donneur d'électron. La première isoforme est localisée dans les chloroplastes et a pour donneur d'électron la ferredoxine réduite alors que la deuxième, localisée dans les plastes des organes non chlorophylliens a pour donneur d'électron le NADH. Ces deux isoformes ne diffèrent pas seulement par leur localisation et le donneur d'électron mais aussi par leur poids moléculaire, leurs caractéristiques cinétiques (la Fd-GOGAT foliaire possède une activité spécifique plus importante que la NADH-GOGAT racinaire) et leur immunoréactivité (Gregerson *et al.*, 1993; Hayakawa *et al.*, 1992; Lea *et al.*, 1990; Suzuki and Knaff, 2005; Suzuki *et al.*, 1982). La GOGAT catalyse le transfert du groupe amine de la glutamine à l'alpha-cétoglutarate, fermant le cycle GS/GOGAT par synthèse de glutamate. La formation de glutamate peut aussi être réalisée par la voie alternative de la Glutamate déshydrogenase (GDH). La GDH catalyse la réaction réversible qui synthétise (amination NADH dépendante) ou déamine (déamination NAD dépendante) le glutamate. La GDH joue un rôle complémentaire au couple GS/GOGAT dans la réassimilation de l'ammonium en conditions de stress ou à des stades particuliers de développement (Masclaux-Daubresse *et al.*, 2010).

Enfin, l'aspartate amino-transférase (AspAT) catalyse à partir de glutamate et d'oxaloacétate la synthèse d'aspartate et, l'Asparagine Synthase (AS) achève l'assimilation de l'azote en

catalysant la synthèse d'asparagine et de glutamate à partir de la glutamine et d'aspartate. Les produits de l'assimilation de l'azote (glutamine, glutamate, aspartate et asparagine) sont des molécules de transport de l'azote et des donneurs de groupements azotés dans de nombreuses réactions biochimiques. Ils représentent 60% des acides aminés totaux libres chez la plupart des plantes cultivées (Lea and Ireland, 1999).

A.2.3 REGULATION DE L'ABSORPTION ET DE L'ASSIMILATION DE N

L'absorption du nitrate et plus largement de l'azote est régulée très finement d'un point de vue transcriptionnel. Ainsi, un traitement nitrate, même faible, de plantes préalablement privées d'azote induit la transcription des gènes de la famille NRT2 et uniquement de *Nrt1.1* pour la famille NRT1 (Okamoto *et al.*, 2003; Orsel *et al.*, 2002b). De plus, il a été montré que certains produits de l'assimilation de l'azote jouent un rôle de régulateur transcriptionnel de l'assimilation azotée. Le nitrite, premier produit de l'assimilation du nitrate, exerce un rétrocontrôle majeur dans la régulation de *Nrt1.1*, lorsque l'alimentation en nitrate et sa réduction atteignent leur niveau maximal (Loqué *et al.*, 2003). Il a aussi été montré que l'ammonium, les acides aminés (en particulier la glutamine) inhibent l'expression de *Nrt2.1* (Okamoto *et al.*, 2003). D'un point de vue post-traductionnel, il a été montré que l'activité de la NR est induite par le nitrate et inhibée par la glutamine.

Il est connu depuis longtemps que l'absorption du nitrate est régulée au cours du cycle nyctéméral et que les variations d'absorption sont corrélées aux niveaux des transcrits de *Nrt1.1* et *Nrt2.1* (Malagoli, 2004). Ces gènes sont nettement moins exprimés en phase nocturne (Lejay *et al.*, 1999) mais un apport exogène de saccharose induit leur transcription durant cette période. Ces résultats suggèrent un contrôle des niveaux de transcrits de *Nrt1.1* et *Nrt2.1* par le saccharose et autres produits de la photosynthèse.

L'azote étant indispensable à la synthèse des acides-aminés, les besoins en N sont très importants et le métabolisme azoté est critique dans la physiologie de la plante. L'absorption et l'assimilation de l'azote nécessitent de l'énergie (ATP), du pouvoir réducteur (NADH ou NADPH) et des squelettes carbonés accepteurs d'ammonium (alpha-cétoglutarate), provenant du métabolisme carboné, en particulier de la photosynthèse et de la respiration. Réciproquement, la fixation du Carbone par la photosynthèse et son assimilation nécessitent des molécules azotées (cytochromes, photosystèmes), des enzymes (enzymes du cycle de Calvin, et en particulier de la RUBISCO) et des systèmes protéines-pigments chloroplastiques

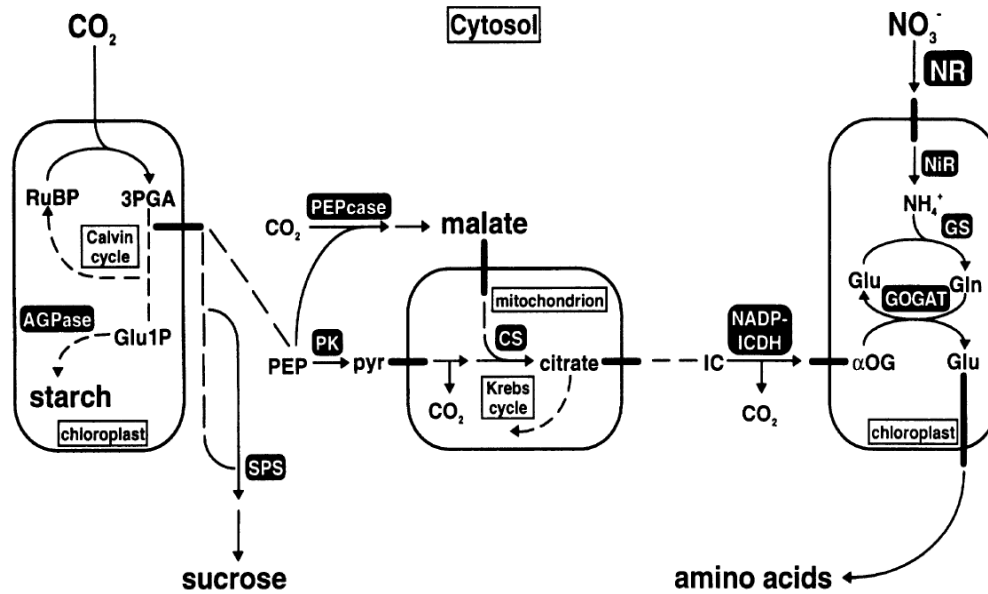


Figure 7 : Coordination des métabolismes azoté et carboné. Le schéma montre les principales enzymes, à savoir la NR, la NiR, le couple GS/GOGAT, NADP-dépendante isocitrate déshydrogénase (PNDA-ICDH), la citrate synthase (CS), la pyruvate kinase (PK), PEPcase, SPS, et AGPase, et métabolites clés : glutamine(Gln), glutamate (Glu), un-oxoglutarate (AOG), isocitrate (IC), pyruvate (pyr), PEP, glycérate-3-phosphate (3PGA), glucose-1-phosphate(Glu1P), et ribulose-1,5-bisphosphate (RuBP). Les réactions enzymatiques sont présentées sous forme de fines lignes noires, et les processus de transport sont représentés par de larges lignes noires. D'après Schieble *et al*, 1997

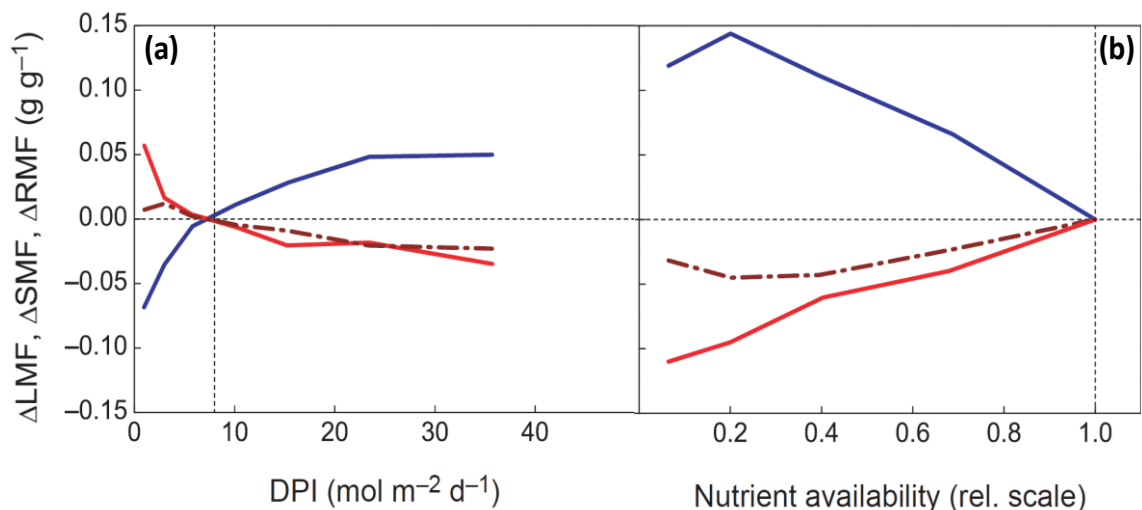


Figure 8 : Courbes de réponse de la fraction de biomasse représentée par les feuilles (rouge), tiges (marron discontinu) et racines (bleu) à (a) l'irradiance journalière, (b) disponibilité en nutriments. Méta-analyse réalisée sur 800 espèces végétales. Poorter *et al*, 2012.

(chlorophylle, caroténoïdes). Les deux métabolismes sont nécessairement coordonnés et sont connus pour être régulés par l'environnement (disponibilité des nutriments, eau, lumière, CO₂). La régulation des interactions Carbone-Azote est très fine et fait intervenir de nombreux acteurs tels que des micro-ARN (Vidal *et al.*, 2010), des métabolites carbonés (Paul and Pellny, 2003; Sulpice *et al.*, 2009) et azotés (Stitt, 1999), le nitrate (Geiger *et al.*, 1999; Scheible *et al.*, 1997a), le GABA (Bouche and Fromm, 2004), des accepteurs mitochondriaux d'électrons (Dutilleul *et al.*, 2005), des hormones (Hellmann *et al.*, 2000; Sakakibara *et al.*, 2006) et les acides organiques (Scheible *et al.*, 1997a). Les deux métabolismes, azoté et carboné sont donc par nécessité imbriqués et co-régulés (figure 7). Des synthèses traitant des aspects métaboliques et signalétiques des interactions carbone-azote chez les plantes ont été proposées par Nunes-Nesi *et al.* et Coruzzi *et al.* (Coruzzi and Bush, 2001; Coruzzi and Zhou, 2001; Nunes-Nesi *et al.*, 2010).

En réponse à l'environnement, en plus de coordonner les activités d'absorption et d'assimilation, les plantes ajustent leur croissance en allouant plus de biomasse vers les organes impliqués dans l'acquisition des ressources exogènes les plus limitantes (McConnaughay and Coleman, 1999). Ainsi, la durée d'illumination, la disponibilité en nutriments et en eau ont un fort impact sur la répartition de biomasse entre feuilles, tiges et racines (Poorter *et al.*, 2012; Shipley and Meziane, 2002) (figure 8). Chez la vigne, il a été montré qu'une diminution de l'intensité lumineuse par ombrage augmente l'allocation de biomasse vers les feuilles alors qu'une contrainte azotée provoquait une augmentation de l'allocation de biomasse vers les racines (Grechi *et al.*, 2007). Cette plasticité de la plante aux conditions environnementales lui permet d'augmenter ses capacités d'absorption de N ou de fixation de C et ainsi de tenter d'équilibrer son fonctionnement (Evans, 1972). Pour ce faire, la plante utilise non seulement les ressources qu'elle capte mais mobilise aussi ses réserves carbonées et azotées des organes dits sources pour allouer de la biomasse vers les organes puits (Diaz *et al.*, 2008; Lemaître *et al.*, 2008; Masclaux-Daubresse *et al.*, 2010; Meuriot *et al.*, 2005). La plante possède donc deux voies pour tenter de coordonner ses approvisionnements en N et C. La première repose sur une coordination métabolique fine, qui permet à la plante de maintenir son homéostasie et de fonctionner de manière optimale (Lalonde *et al.*, 2004). En revanche, en réponse aux modifications de la disponibilité d'une ressource, le déséquilibre métabolique induit une modification de l'allocation de la biomasse vers les organes responsables de l'importation de la ressource en

déficit : les racines pour N, les tiges feuillées pour C (Hermans *et al.*, 2006; Hodge, 2009; Nacry *et al.*, 2013).

B. LE GREFFAGE

B.1. GENERALITES

Greffage : Procédé de multiplication végétative réalisé par l'union d'une partie d'une plante (greffon) et d'une partie d'une autre (porte-greffe) en vue d'obtenir un seul individu. Larousse 2013.

Le greffage est un procédé ancien déjà décrit par les auteurs romains Caton l'ancien, Varron et, pour la vigne, par l'agronome et écrivain du 1^{er} siècle av. J.-C. Columella dans son ouvrage *De Re Rustica* (Columella, 1st century BC). La culture sur porte-greffe est utilisée chez de nombreuses espèces, ayant divers objectifs tels que la résistance à des agents pathogènes, le contrôle de la croissance du greffon et l'adaptation à certains types de sols. Chez le Pommier, la culture sur porte-greffes nanifiants (variétés Doucin, Paradise, M9 Jaune de Metz) a pour objectif d'augmenter les rendements tout en facilitant la récolte et la culture de la plante. Le Cerisier est cultivé greffé pour contrer sa sensibilité aux sols pauvres, aux nématodes et à diverses maladies. Plus récemment, des plants de tomate, aubergine, melon ou bien de concombre sont commercialisés greffés sur porte-greffe dans l'objectif d'augmenter leur vigueur et par conséquent les rendements.

B.2. GREFFAGE ET PORTE-GREFFES CHEZ LA VIGNE

Avant l'année 1868, la majorité des cépages de *Vitis vinifera* était cultivée « francs de pied ». L'introduction puis la prolifération du phylloxera causa de considérables dommages au vignoble et provoqua en une dizaine d'années la quasi-destruction de la filière viti-vinicole européenne. Félix Sahut, Emile Planchon et Gaston Bazille, missionnés par la Société Centrale d'Agriculture de l'Hérault en 1869 pour résoudre ce problème ont permis de mettre en évidence la sensibilité du système racinaire des *vinifera* européens et la tolérance de leurs homologues américaines au phylloxera. L'utilisation de vignes d'origine Nord-Américaine comme porte-greffes, sur lesquels ont été greffés les cépages indigènes a littéralement sauvé

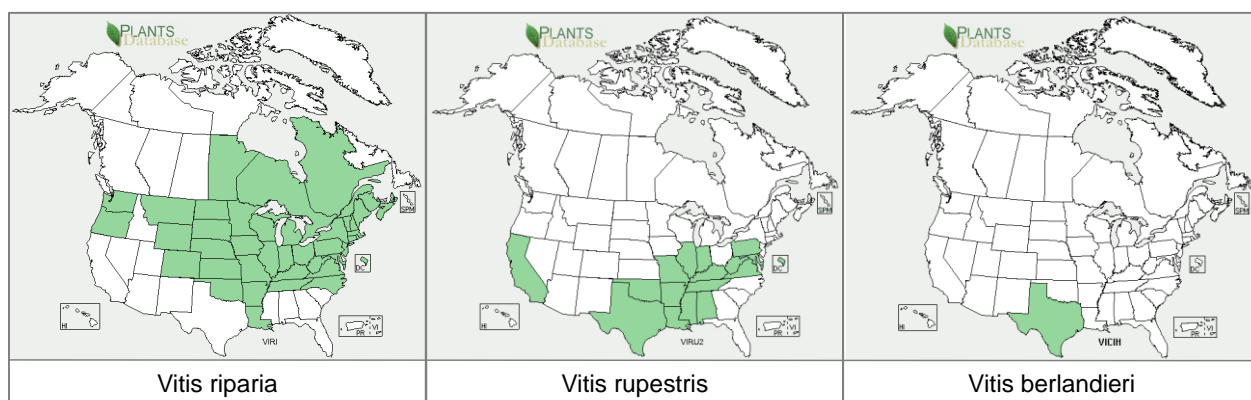


Figure 9 : Aires d'origine de repartition de *vitis riparia*, *vitis rupestris* et *vitis berlandieri*. (Source : <http://plants.usda.gov>)

Table 2: Classification des porte-greffes vis à vis de la vigueur conférée. D'après Keller 2010.

Porte-greffe	Croisement	Vigueur conférée
St. Georges	<i>V. rupestris</i>	Forte
Riparia Gloire Mtpellier	<i>V. riparia</i>	Faible
1616C	<i>V. riparia</i> x <i>V. solonis</i>	Faible
101-14 Mgt	<i>V. riparia</i> x <i>V. rupestris</i>	Moyenne
3309C	<i>V. riparia</i> x <i>V. rupestris</i>	Faible à Moyenne
Schwartzmann	<i>V. riparia</i> x <i>V. rupestris</i>	Moyenne
Ramsey	<i>V. champinii</i>	Forte
5C	<i>V. berlandieri</i> x <i>V. riparia</i>	Forte
5BB	<i>V. berlandieri</i> x <i>V. riparia</i>	Forte
SO4	<i>V. berlandieri</i> x <i>V. riparia</i>	Forte
420A	<i>V. berlandieri</i> x <i>V. riparia</i>	Forte
110 Richter	<i>V. berlandieri</i> x <i>V. rupestris</i>	Forte
1103 Paulsen	<i>V. berlandieri</i> x <i>V. rupestris</i>	Forte
Boerner	<i>V. cinerea</i> x <i>V. riparia</i>	Forte
Gravesac	<i>V. berlandieri</i> x <i>V. riparia</i> x <i>V. rupestris</i>	Forte
41B	<i>V. vinifera</i> x <i>V. berlandieri</i>	Moyenne

la viticulture européenne. Trois espèces de *Vitis* sont à l'origine des nombreuses variétés porte-greffes (plus de 450 décrites dont 30 inscrites au catalogue en France) utilisées en viticulture.

- *Vitis riparia* présente l'aire de répartition la plus vaste des *Vitis* américains (figure 9). C'est une plante grimpante qui pousse sur les bords de rivières et dans les clairières humides. *Vitis Riparia* est à l'origine de nombreux porte-greffe, en particulier des hybrides (table 2).
- *Vitis rupestris* est une espèce buissonnante qui vit dans les lits de ruisseaux caillouteux du centre-Sud des Etats-Unis et qui a été importé en Californie pour être utilisée en tant que porte-greffe, connu sous le nom de St Georges (figure 9). Il est à l'origine du porte-greffe *Rupestris* du Lot mais a surtout fait l'objet d'hybridations, en partie à cause de sa faible tolérance au calcaire (table 2).
- *Vitis berlandieri* est une plante au port grimpant qui se développe sur les collines calcaires du Texas (figure 9). Sa tolérance aux fortes concentrations en calcaire du sol est une exception chez les *Vitis* américains. *Vitis berlandieri* est difficile à greffer et à bouturer, ce qui explique son utilisation comme porte-greffe uniquement en tant qu'hybride (table 2).

De nos jours, on peut estimer que 80-85% des vignes sont cultivées greffées dans le monde (Smith, 2004). Les variétés de porte-greffes ne sont plus uniquement sélectionnées pour leur tolérance au phylloxera mais aussi pour adapter le matériel végétal à des conditions de cultures difficiles telles que les sols salins, secs, calcaires ou infestés par les nématodes (May, 1994).

B.3. LE GREFFAGE OUTIL EN BIOLOGIE VEGETALE

En plus de son intérêt agronomique, le greffage est utilisé en recherche pour distinguer les rôles respectifs des compartiments aérien et racinaire dans certains processus physiologiques. Chez *Arabidopsis thaliana*, l'utilisation de micro-greffes réciproques entre le sauvage et le mutant ramifiant *max1* a permis de déterminer que l'émergence des tiges secondaires est contrôlée par des signaux racinaires (Turnbull *et al.*, 2002). Chez *Pisum sativum L.*, des greffages entre le sauvage et le mutant Nitrate réductase déficient A317 ont été utilisés afin d'étudier l'impact du rôle du lieu (racines ou feuilles) de la réduction du nitrate sur la physiologie de la plante (Lexa and Cheeseman, 1997).

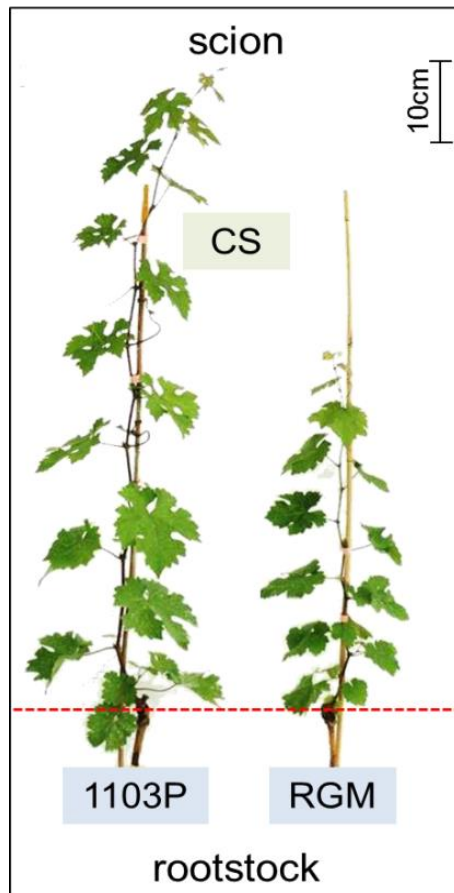


Figure 10 : Effet des deux porte-greffes 1103P et RGM sur la croissance végétative de cabernet-sauvignon. Plants âgés d'un an. 60jours après débourrement.

Les expériences de greffage réciproque ont permis de déterminer si les racines, le compartiment aérien ou bien la plante entière sont impliqués dans la réponse de la plante à différents stress. En réponse au stress hydrique, il a été montré que les individus mâles de *Populus cathayana* sont plus résistants que les femelles. L'utilisation de greffages réciproques de mâles et de femelles ont permis de mettre en évidence que l'utilisation de mâles en porte-greffes confèrent une résistance au stress hydrique aux individus femelles (Han *et al.*, 2013). Les mécanismes de tolérance à de grandes concentrations en métaux dans le sol ont été étudiés grâce à des expériences de greffage. Chez *Ipomoea aquatica*, les cultivars ont plus ou moins la capacité d'accumuler du Cadmium dans les parties aériennes. Les greffages réciproques de parties aériennes et racinaires de deux cultivars contrastés dans l'accumulation foliaire de Cadmium ont permis de déterminer que l'accumulation foliaire de Cd est liée à la capacité de translocation du système racinaire vers les feuilles plus qu'à sa capacité d'absorption (Xin *et al.*, 2013). De même, le greffage chez *Arabidopsis thaliana* du sauvage avec le mutant déficient en production de phytochélatines (peptides impliqués dans la détoxification de métaux lourds) a permis d'identifier des flux de phytochélatines des feuilles vers les racines et réciproquement (Chen, 2006).

C. IMPACT DU PORTE-GREFFE SUR LA PHYSIOLOGIE DE LA VIGNE GREFFÉE

C.1. CROISSANCE VEGETATIVE

Le remplacement du système racinaire du cépage par celui d'un autre génotype modifie la physiologie de la plante et par conséquent son phénotype. Par exemple, le greffage de *Vitis vinifera* Cabernet Sauvignon (CS) sur le porte-greffe *Vitis Riparia* Gloire de Montpellier (RGM) ou sur *Vitis Berlandieri x Vitis rupestris* 1103 Paulsen (1103P) a un fort impact sur la croissance végétative du greffon, ou vigueur (figure 10). Ce phénomène, connu sous le terme de vigueur conférée (sous-entendu, par le porte-greffe au greffon) est un indicateur très utilisé pour caractériser l'impact du porte-greffe sur la croissance du greffon. En viticulture, la vigueur est un indicateur du rapport feuilles/fruits primordial pour la gestion du vignoble (Jones *et al.*, 2009). Il a été montré qu'une vigueur trop forte diminue la qualité des baies et donc des vins (Jackson and Lombard, 1993; Kliewer and Dokoozlian, 2005). En effet, une vigueur importante induit une forte concurrence pour les assimilats carbonés et azotés entre les feuilles et les baies. Elle s'accompagne d'un retard de phénologie (en

particulier aux stades véraison et maturation) et d'une augmentation du risque d'apparition de maladies cryptogamiques. En revanche, une vigueur plus faible se traduit généralement par une meilleure alimentation trophique des baies, une meilleure qualité des baies lors de la récolte et une avancée de la date de maturation. Le choix du porte-greffe est donc crucial pour le viticulteur qui doit sélectionner un génotype de porte-greffe conférant une vigueur assez importante pour assurer une récolte de bonne quantité tout en évitant les vigueurs trop faibles, défavorables à la production de baies de qualité. Il a été montré que l'effet du porte-greffe sur la croissance végétative du greffon est un caractère complexe qui peut dépendre du génotype du greffon et/ou de l'environnement (Smith, 2004). La caractérisation de génotypes de porte-greffes pour la vigueur conférée donne parfois des résultats contrastés, selon le contexte pédoclimatique : *V. berlandieri* x *V. riparia* 5BB a été décrit comme conférant une vigueur forte au greffon en Europe (Smith, 2004) alors qu'il est considéré comme l'un des porte-greffes les moins vigoureux en Australie (May, 1994). A l'opposé, *V. berlandieri* x *V. rupestris* Ru140 est très performant dans les régions sèches d'Australie, alors qu'il ne confère pas de forte vigueur dans des conditions plus favorables (Candolfi-Vasconcelos *et al.*, 1996). Ces résultats contrastés soulignent la complexité de la vigueur conférée et son interaction avec l'environnement. La nutrition minérale joue un rôle déterminant dans l'impact du porte-greffe sur la croissance végétative du greffon, l'effet porte-greffe ayant été rapporté comme plus fort lorsque les plantes sont cultivées sur des sols pauvres en nutriments (Delas, 1992).

C.2. ACQUISITION DES MINERAUX ET PORTE-GREFFES

C.2.1 ABSORPTION MINERALE

De nombreuses études ont montré que le porte-greffe modifie la composition minérale du greffon. Cook et Lider ont étudié la composition minérale pétiolaire et foliaire du cépage Concord en réponse au greffage sur les deux génotypes de porte-greffe St Georges et 99R (Cook and Lider, 1964). Les concentrations en nitrate, K^+ et P total se sont révélées plus élevées chez les plants greffés sur St Georges. De même, des plants du cépage autrichien Grüner Veltliner greffés sur une gamme de dix porte-greffes ont montré des différences dans leurs concentrations en éléments minéraux : les plants greffés sur 110R et Rupestris du Lot accumulant plus de K^+ , ceux greffés sur 420A plus de Ca^{2+} et ceux greffés sur 41A plus de Mg^{2+} , Mn^{2+} et Zn^{2+} (Tangolar and Ergenoglu, 1989). Il a aussi été montré que le porte-greffe

avait un impact sur la concentration en K^+ des feuilles (Ruhl, 1992). Ces différences peuvent s'expliquer par des capacités d'absorption de certains minéraux qui varient selon les porte-greffes. Dans le cadre d'une étude du déterminisme de la résistance de porte-greffes aux sols calcaires, il a été démontré que les géotypes tolérants avaient une absorption et assimilation du Fe^{2+} plus importante, évitant ainsi les symptômes de chlorose ferrique rencontrés chez les porte-greffes sensibles (Bavaresco *et al.*, 1991). Les géotypes de porte-greffe possèdent des capacités d'absorption de P (Grant and Matthews, 1996a), K (Mpelasoka *et al.*, 2003) ou de N (Zerihun and Treeby, 2002) contrastées. Il a de plus été montré que les porte-greffes ont des capacités d'assimilation racinaire de l'azote contrastées (Keller *et al.*, 2001).

C.2.2 CROISSANCE ET MORPHOLOGIE DU SYSTEME RACINAIRE

La nutrition hydrominérale est étroitement liée à la structure du système racinaire et à son adaptation aux contraintes environnementales. Les porte-greffes présentent des différences dans la taille de leur système racinaire, sur les plans horizontaux et verticaux. La nutrition hydrominérale est liée aux capacités de prospection du système racinaire, qui varient selon le géotype du porte-greffe. Ces variations ont pour origine deux composantes : la première, génétique, détermine les capacités intrinsèques du porte-greffe à prospecter le sol ; la deuxième, environnementale, module la première composante et semble être la plus déterminante (Smart *et al.*, 2006). Parmi les variables environnementales altérant la prospection racinaire, les caractéristiques physiques du sol semblent primordiales (Southey and Archer, 1988).

Les différences de prospection racinaire pourraient être à l'origine des variations de vigueur conférées observées entre les différents géotypes de porte-greffes. Par exemple, le greffage de Thompson sur le porte-greffe Ramsey est connu pour améliorer la prospection racinaire et la proportion de fines racines, en comparaison des plants de franc-pied (Nagarajah, 1987). Les auteurs de cette étude suggèrent que la modification de la prospection du système racinaire pourrait améliorer l'accès aux ressources minérales et hydriques, et serait à l'origine de la forte vigueur conférée par Ramsey. Cependant, dans cette étude, aucune mesure de croissance et de morphologie du système racinaire n'a été effectuée. En revanche, des expérimentations en pot ont démontré que les plantes greffées sur Ramsey présentent un rapport root:shoot plus faible (Gibberd *et al.*, 2003; Zerihun and Treeby, 2002). Les porte-greffes modulent donc l'allocation de biomasse au sein de la plante, et donc la croissance racinaire. Cependant, en

conditions de disponibilité azotée non limitante, il a été montré que c'est le greffon qui contrôle l'allocation de biomasse entre parties aériennes et racinaires (Tandonnet *et al.*, 2010).

C.2.3 EFFICIENCE D'USAGE DE L'AZOTE (NUE)

Très étudiée pour les plantes de grande culture (Hirel *et al.*, 2007), l'efficacité d'utilisation des nutriments et en particulier de l'azote (NUE) n'a pas encore été caractérisée chez la vigne. La NUE est définie dans notre étude par la biomasse produite par unité d'azote présent dans la plante. La NUE est décomposée NUpE (N Uptake Efficiency) et NUtE (N Utilization Efficiency) ; cette dernière se décompose en NAE (N Assimilation Efficiency) et NRE (N Remobilization Efficiency). Le génotype du porte-greffe ayant pour effet de moduler l'absorption des minéraux et la croissance du greffon, il est possible que l'association porte-greffe / greffon modifie la NUE de la plante greffée, en particulier sa composante NUpE. Cette composante peut aussi être modulée en fonction de l'architecture racinaire. En effet, chez le maïs et le blé, il a été montré en condition suboptimale azotée qu'il existait une corrélation positive entre la biomasse produite, le rendement et certains traits architecturaux racinaires et la NUE (Gallais and Hirel, 2004; Guingo *et al.*, 1998; Laperche *et al.*, 2007). Chez la vigne, une récente revue a mis en évidence de faibles différences de phénotype racinaire entre différents porte-greffe mais les auteurs suggèrent que les traits phénotypés (profondeur d'enracinement principalement) ne sont pas réalisés à une échelle suffisamment fine pour mettre à jour des différences plus importantes (Smart *et al.*, 2006). De plus, les porte-greffes diffèrent dans leur capacité de mise en réserve de composés azotés (et carbonés), affectant ainsi la NRE. Chez les ligneux, il a été montré que les réserves azotées sont primordiales pour la reprise de croissance végétative au printemps (Jordan *et al.*, 2012; Millard and Neilsen, 1989; Tromp, 1983), suggérant que chez les plantes greffées des différences d'établissement et/ou remobilisation des réserves de N entre les génotypes de porte-greffe puissent générer des différences de croissance au printemps et moduler la NRE. Enfin, il a été montré que le génotype du porte-greffe avait une influence sur l'activité de la nitrate réductase à la fois au niveau racinaire et foliaire, suggérant des différences de capacité d'assimilation de l'azote (Zerihun and Treeby, 2002).

C.3. PHOTOSYNTHESE ET PORTE-GREFFE

Chez la vigne, l'activité photosynthétique (A) est déterminée par l'intensité lumineuse et la température, comme chez les autres plantes en C₃. Par ailleurs, au niveau de la feuille, la

conductance stomatique (Gs) et l'efficacité de carboxylation (CE) exercent à leur niveau une influence sur A. CE est déterminé par le taux de CO₂ qui peut diffuser jusqu'au stroma des chloroplastes qui sera combiné au RUBP, par action de l'enzyme RUBISCO pour produire de l'acide 3-Phosphoglycerique, première étape du cycle de Calvin. La résistance mésophyllienne à la diffusion du CO₂ étant généralement faible, la vitesse de carboxylation est limitée par l'activité de la RUBISCO. L'activité photosynthétique est aussi reliée à la transpiration (E) de la plante.

De nombreuses études ont rapporté que les porte-greffes ont un effet sur ces paramètres photosynthétiques. Le greffage du cultivar Riesling sur le porte-greffe 5BB entraîne une augmentation de CE et Gs, et par conséquent une meilleure assimilation de CO₂ pour la plante (Düring, 1994). L'impact du génotype de porte-greffe sur la photosynthèse a été étudié en particulier dans le cadre de la sélection de porte-greffes conférant une résistance à la sécheresse. En réponse au stress hydrique, il a été montré que le génotype du porte-greffe influe sur la conductance stomatique de Cabernet Sauvignon (Carbonneau, 1985). Le greffage de Müller Thurgau sur 3 hybrides de porte-greffes a mis en évidence des différences de A et Gs entre ces porte-greffes et que ces différences étaient corrélées avec la tolérance à la sécheresse du couple porte- greffe / greffon (Iaconoa *et al.*, 1998). Le génotype du porte-greffe influe sur la concentration en ABA dans le xylème qui est corrélée négativement avec Gs et donc A (Soar *et al.*, 2006). La fermeture stomatique observable en réponse au stress hydrique est corrélée à une augmentation de la synthèse d'ABA dans les feuilles et racines (Tardieu *et al.*, 2010) et il a été montré que le stress hydrique engendre une plus forte diminution de A chez le cépage Carignan greffé sur *Riparia* que chez le Carignan cultivé sur ses propres racines (Padgett-Johnson *et al.*, 2000). Cette diminution de l'activité photosynthétique est provoquée par une baisse de la conductance stomatique, corrélée à une augmentation de la concentration racinaire en ABA.

Les porte-greffes influent sur la concentration foliaire en azote (Zerihun and Treeby, 2002), qui est corrélée positivement à l'activité photosynthétique (Chen and Cheng, 2003). En conditions de forte nutrition azotée, le porte-greffe SO4 augmente l'activité photosynthétique du cépage Müller-Thurgau grâce à une plus forte concentration en chlorophylle. L'effet porte-greffe est cependant moins fort que la concentration en N du milieu elle-même (Keller *et al.*, 2001). Les auteurs suggèrent que le porte-greffe aurait aussi pour impact de moduler CE en transférant plus ou moins d'azote vers les feuilles pour la synthèse de RUBISCO.

C.4. IMPACT DU PORTE-GREFFE SUR LA BAIE

C.4.1 SUR LE RENDEMENT

Le porte-greffe, interface entre le cépage et le sol joue un rôle prépondérant dans l'adaptation de la vigne à l'environnement. En modifiant la croissance végétative, la photosynthèse, la nutrition minérale le porte-greffe influe sur le rendement de la vigne (Wooldridge *et al.*, 2010). Le greffage de Chardonnay sur les porte-greffes Cynthiana, Freedom, 5BB et 110R augmente le rendement jusqu'à 40% avec 5BB (Main, 2002). Le porte-greffe Schwartzmann a été décrit comme diminuant le rendement, le nombre de grappes et le poids moyen des baies chez la Syrah (Cox, 2012). Chez Cabernet Sauvignon, les modifications du rendement par les porte-greffes 110R, 1103P, 140R et 5C Teleki ne sont pas causées par des changements au niveau de la fertilité, de la taille des baies ou de la grappe (Nuzzo, 2006). S'il est difficile de comprendre le déterminisme de l'effet du porte-greffe sur le rendement, il semble tout de même que les grands rendements sont associés à la forte vigueur de la vigne (Ezzahouani and Williams, 1995; Lipe and Perry, 1988; Main *et al.*, 2002; McCarthy and Cirami, 1990; Ough *et al.*, 1968).

C.4.2 SUR LA COMPOSITION BIOCHIMIQUE DE LA BAIE

Le génotype du porte-greffe modifie la qualité de la baie en terme de taille de baie, de concentration en sucres, acides organiques et anthocyanes et de pH (Gawel *et al.*, 2000; Koblet *et al.*, 1994; Kubota *et al.*, 1993; Main *et al.*, 2002; Ollat *et al.*, 2003; Sampaio, 2007; Walker *et al.*, 1998). L'impact du porte-greffe sur la qualité de la baie est mal compris mais il semble qu'il agisse en interaction avec l'environnement et soit lié à la vigueur de la plante (Jackson, 1993). Les porte-greffes conférant une forte vigueur sont connus pour allonger la période de croissance des rameaux végétatifs, entraînant une réduction de l'accumulation des sucres dans la baie alors que les porte-greffes induisant une vigueur faible avancent la date de maturation. Il a aussi été démontré que l'acidité titrable était positivement corrélée à la croissance végétative de la plante (Sampaio, 2007). Le lien entre vigueur et qualité est empiriquement connu des viticulteurs et il est généralement recommandé de maintenir une vigueur faible au vignoble pour obtenir des raisins de qualité (Galet, 1998). Même si l'effet du porte-greffe sur la qualité et le rendement est connu pour varier selon le cépage (Lipe and Perry, 1988; Reynolds and Wardle, 2001; Zhang *et al.*, 2002), il existe quelques études qui démontrent que cette interaction n'est pas systématique (Ferree *et al.*, 1996; Ough *et al.*, 1968).

D. APPROCHE DE BIOLOGIE INTEGRATIVE PAR MODELISATION

Comme nous l'avons vu précédemment, la répartition de la biomasse entre les parties aériennes (tiges et feuilles) et les parties souterraines (racines) est primordiale pour l'élaboration de raisins de qualité. Elle est fortement impactée par la nutrition azotée qui est liée au génotype du porte-greffe. L'azote a non seulement des effets sur le métabolisme azoté mais aussi sur le métabolisme carboné et le pilotage de l'allocation de la biomasse au sein de la plante. L'intégration de toute ou partie de cette connaissance dans des modèles mathématiques simulant la croissance de la vigne greffée permettrait de réaliser des progrès dans la compréhension et la hiérarchisation des processus impliqués dans le déterminisme génotypique de la vigueur conférée par le porte-greffe au greffon. Chez la vigne, la modélisation est encore naissante et il n'existe aucun modèle de croissance de vigne greffée. Des travaux de modélisation de l'architecture du couvert ont cependant été conduits, dans le but d'étudier l'impact des pratiques culturales (en particulier, la taille) sur la croissance des parties aériennes (Louarn *et al.*, 2008; Pallas, 2009; Pallas *et al.*, 2009; Pallas *et al.*, 2011).

Des modèles de croissance et d'allocation de biomasse, en particulier chez les plantes de grande culture (riz, maïs, blé, colza), ont permis de mieux comprendre la physiologie de ces plantes et leur interaction avec l'environnement. L'utilisation des modèles pour simuler la croissance et le rendement en fonction de l'environnement sont des outils efficaces pour mettre au point de nouvelles pratiques culturales, et identifier des traits intéressants chez les cultivars (Bertheloot *et al.*, 2011). Cette dernière décennie a vu le développement de nombreux modèles (Jeuffroy *et al.*, 2002) tels que NEMA, ORIZA2000, GRAAL, STICS, CERES et Sirius (Bertheloot *et al.*, 2011; Bouman and Van Laar, 2006; Brisson *et al.*, 1998; Drouet and Pagès, 2003; Gabrielle *et al.*, 1998; Jamieson *et al.*, 1998; Martre *et al.*, 2006).

Parmi les modèles simulant le développement des différents compartiments de la plante, trois grands types de modèles émergent. Le premier est représenté par les modèles architecturaux orientés vers la description topologique, de la structure 3D de la plante et qui prennent en compte chaque organe individuellement (Fournier and Andrieu, 1998; Jourdan and Rey, 1997; Pagès *et al.*, 1989; Perttunen *et al.*, 1998). Ces modèles sont capables de simuler les aspects développementaux liés à l'architecture des plantes. Cependant, ces modèles sont ciblés sur un des compartiments de la plante, les racines (Pagès *et al.*, 1989) ou parties aériennes (Fournier and Andrieu, 1998), rendant impossible l'étude du fonctionnement coordonné de la plante entière. Le second type de modèle est représenté par les modèles compartimentaux, qui

simulent la répartition des assimilats entre les compartiments racine, tige, feuille, fruit en réponse à des contraintes environnementales (Lemaire and Millard, 1999; Tabourel-Tayot and Gastal, 1998). Ces modèles sont adaptés à la simulation de la répartition des assimilats en réponse à des variables environnementales (eau, lumière, nutriments) (Lacointe, 2000), mais ne peuvent cependant pas simuler la compétition entre chacun des organes au sein d'un même compartiment. Le troisième type de modèle, dit structure-fonction combine les deux premiers types en simulant la répartition des assimilats entre chacun des organes d'un même compartiments, en tenant compte de la topologie et de l'architecture (Bertheloot *et al.*, 2011; Drouet and Pagès, 2007; Drouet and Pagès, 2003; Fournier and Andrieu, 1999). Les différents travaux réalisés dans le domaine des modèles structure-fonction ont fait l'objet de numéros spéciaux (1999, *Agronomie*, 19:163-327 ; 2005, *New Phytol.* 166: 771-894 ; 2008, *Func. Plant Biol.* 35: 739-1090 ; 2011, *Annals of Botany*, 107 : 723-727).

CONCLUSIONS ET OBJECTIFS DE TRAVAIL

L'analyse bibliographique a révélé les rôles primordiaux du porte-greffe et de la nutrition azotée dans l'élaboration de raisins de qualité. Le génotype du porte-greffe influe sur la croissance mais aussi sur l'absorption et l'allocation des minéraux au sein de la plante greffée. Parmi les éléments minéraux, l'azote, en augmentant la croissance végétative du greffon, a un fort impact sur la composition biochimique des baies de raisin. De plus, la concentration en azote dans le sol est généralement faible au vignoble et fluctue au cours du temps. L'azote et le porte-greffe modifient donc l'expression de la croissance végétative de la plante. L'azote est un élément candidat pour l'explication de l'effet du porte-greffe sur la vigueur du greffon. Le nitrate, forme azotée la plus absorbée par la vigne, est connu pour son rôle signalétique dans l'élaboration des équilibres fonctionnels et structuraux entre parties aériennes et racinaires. Il apparaît dès lors que le nitrate pourrait être le médiateur intervenant dans le déterminisme de la vigueur conférée. Autrement dit, qu'un porte-greffe conférant une forte vigueur augmenterait une ou plusieurs composantes de la NUE de la plante. Parmi ces composantes, la modulation de l'absorption et de l'allocation des minéraux par le porte-greffe laisse à penser que la composante NUpE serait déterminante. De plus, il est imaginable que les différents génotypes de porte-greffe possèdent des capacités de mise en réserve et de mobilisation de ces réserves (azotées principalement) plus ou moins importantes, affectant potentiellement la NRE. Il apparaît alors que l'étude des effets combinés de la concentration en nitrate externe et du génotype de porte-greffe est essentielle à une meilleure compréhension de l'implication de la nutrition azotée dans le phénomène de vigueur conférée et permettrait d'apporter des éléments de réponse à la question suivante :

Quelle est l'implication de l'azote et plus particulièrement du nitrate dans le déterminisme de la vigueur conférée par le porte-greffe au greffon ?

Afin de répondre à cette question, notre travail de recherche s'est articulé autour de trois axes majeurs :

Effet d'une modification de la nutrition en nitrate sur la croissance végétative conférée par deux génotypes de porte-greffe.

Cette première étude a consisté à suivre, en réponse à un gradient de nitrate (0.8, 1.6 et 2.45mM de KNO_3), les allocations d'azote et de biomasse au sein de deux couples porte-

greffe / greffon. Un même greffon (Cabernet Sauvignon) a été greffé sur deux génotypes de porte-greffe connus pour conférer des vigueur contrastées : 1103 Paulsen (forte vigueur conférée) et Riparia Gloire de Montpellier (faible vigueur conférée). Il s'agissait de répondre à la question suivante :

Q : Un porte-greffe conférant une forte vigueur induit-il une meilleure NUE à la plante greffée qu'un porte-greffe conférant une faible vigueur ?

Après avoir réalisé le phénotypage des deux combinaisons modèles de notre étude, nous avons mesuré l'allocation d'azote et de carbone au sein de la plante greffée lors de deux expérimentations. L'utilisation du marquage au $K^{15}NO_3$ a permis de quantifier le KNO_3 absorbé et de connaître la part relative des réserves azotées dans l'élaboration de la néo-croissance aérienne et ainsi de tester trois hypothèses :

H1 : Le génotype de porte-greffe conférant une vigueur plus importante absorberait plus d'azote par unité de biomasse et par conséquent présenterait **une meilleure NUPE**.

H2 : Le génotype du porte-greffe conférant une vigueur plus importante allouerait plus d'azote et de biomasse vers les compartiments aériens en croissance et ainsi augmenterait la vigueur de la plante.

H3 : Le génotype de porte-greffe conférant une plus forte vigueur mobiliserait plus efficacement ses réserves azotées pour soutenir la croissance végétative du greffon et par conséquent présenterait **une meilleure NRE**.

Afin de mettre en perspective les données de flux N/C obtenues lors des expérimentations, une caractérisation des changements de concentration en métabolites clés des métabolismes C et N, en réponse à l'apport en nitrate a été effectuée pour les deux combinaisons. Il s'agissait de renforcer les résultats issus du test de **H3** et de tester l'hypothèse suivante :

H4 : En réponse à une diminution de la nutrition en nitrate, les génotypes de porte-greffe les plus vigoureux adapteraient mieux leurs métabolismes C et N et pourraient ainsi maintenir leur croissance.

Effets croisés de la nutrition azotée et du génotype du porte-greffe sur la nutrition minérale de la plante greffée

Cette deuxième étude a pour objectif de mettre à jour les éventuels liens entre la nutrition azotée et l'absorption et l'allocation d'autres éléments minéraux au sein d'une plante greffée. L'analyse bibliographique révèle que i. la concentration azotée a un fort impact sur la disponibilité et l'absorption d'autres éléments minéraux et ii. l'absorption des minéraux dépend du génotype du porte-greffe. Dans le cadre de notre étude, il est intéressant de mettre à jour d'éventuels effets indirects de la nutrition azotée en lien avec le génotype du porte-greffe. Ainsi, l'analyse du contenu en minéraux de différents compartiments des deux combinaisons modèles en réponse à la disponibilité en nitrate a permis de tester l'hypothèse suivante :

H5 : La composition minérale d'une vigne greffée dépendrait de l'interaction entre la nutrition azotée et le génotype du porte-greffe.

Modélisation des flux N et C au sein d'une vigne greffée

Les processus essentiels impliqués dans le déterminisme de la vigueur conférée identifiés au cours du travail de thèse ont été implémentés dans un modèle mathématique simulant la croissance d'une vigne greffée en réponse à la disponibilité externe en azote. L'élaboration de ce modèle a pour objectif de hiérarchiser les processus à l'origine de la vigueur conférée et de vérifier la généralité des résultats obtenus au cours des expérimentations. Les principes, hypothèses et formalismes du modèle sont présentés. Ce modèle répond à un double défi : mettre au point le **premier modèle simulant la croissance et les flux de N** au sein d'une **plante greffée** en réponse à la **disponibilité azotée** du sol.

MATERIEL ET METHODES

1. STRATEGIE EXPERIMENTALE

Afin de tester les différentes hypothèses de travail (cf introduction), deux expérimentations ont été menées en 2011 et 2012. De jeunes plants (1an) de vigne greffées sur deux génotypes de porte-greffe ont été cultivés en serre, dans des pots, avec du sable comme substrat. Les deux combinaisons porte-greffe / greffon ont été fertirriguées par 3 solutions nutritives différant par leur concentration en nitrate (de 0,8, 1,6 et 2,45mM). L'étude des flux de N au sein de la plante et la mesure de son absorption, ont été réalisées grâce à l'utilisation de solutions nutritives enrichies en $^{15}\text{NO}_3$ selon deux méthodes décrites en 4.1 et 4.2 de ce chapitre. Les plantes ont été phénotypées en termes de biomasse, et de divers indicateurs de croissance et de vigueur. L'expérimentation menée en 2011 avait pour but de tester la première hypothèse H1, à savoir qu'un génotype de porte-greffe conférant une vigueur plus importante absorberait davantage d'azote et par conséquent présenterait une meilleure NUpE. La seconde expérimentation, menée en 2012, a permis de tester les hypothèses H2, H3, H4 et H5 mais aussi de confirmer les résultats de 2011. Un marquage séquentiel des plantes en ^{15}N (décrit en détail en 4.2) a permis d'étudier l'effet du génotype du porte-greffe sur la mobilisation des réserves azotées pour soutenir la croissance végétative du greffon et par conséquent d'étudier la NRE (H3). L'étude sur cette même expérimentation du contenu métabolique de différents compartiments a été réalisée pour tester l'hypothèse H4. Enfin, une analyse du contenu minéral des échantillons prélevés au cours de cette expérimentation a permis de tester l'hypothèse H5.

2. SOLUTIONS NUTRITIVES

Afin de déterminer dans quelle mesure la nutrition azotée est impliquée dans le phénomène de la vigueur conférée, les plantes ont été irriguées avec 3 solutions nutritives variant dans leur concentration en azote. Du fait de son rôle primordial dans l'établissement des équilibres fonctionnels au sein de la plante mais aussi dans la nutrition azotée, nous avons décidé d'utiliser que le nitrate comme seule source d'azote présent dans les solutions nutritives, après avoir pris soin néanmoins de vérifier au cours d'une expérimentation préliminaire que la nutrition azotée assurée exclusivement par le nitrate n'était pas défavorable à l'un des porte-greffes étudié, (annexe 1). Trois concentrations en nitrate ont été

Tableau 3 : Composition des trois solutions nutritives utilisées pendant cette étude

Macroéléments (mM)	LN	MN	HN	Oligo-éléments (μM)	
KNO ₃	0,8	1,6	2,45	MnCl ₂	9,1
K ₂ HPO ₄	0,61	0,59	0	H ₃ BO ₃	46,3
KH ₂ PO ₄	0	0	0,57	ZnSO ₄	2,4
MgSO ₄	0,69	0,69	0,69	CuSO ₄	0,5
CaCl ₂	1,39	1,27	1,27	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄	0,013
K ₂ SO ₄	0,4	0,1	0	Fe-EDTA	8,5 mg.l ⁻¹
CaSO ₄	0,3	0,55	0,6		

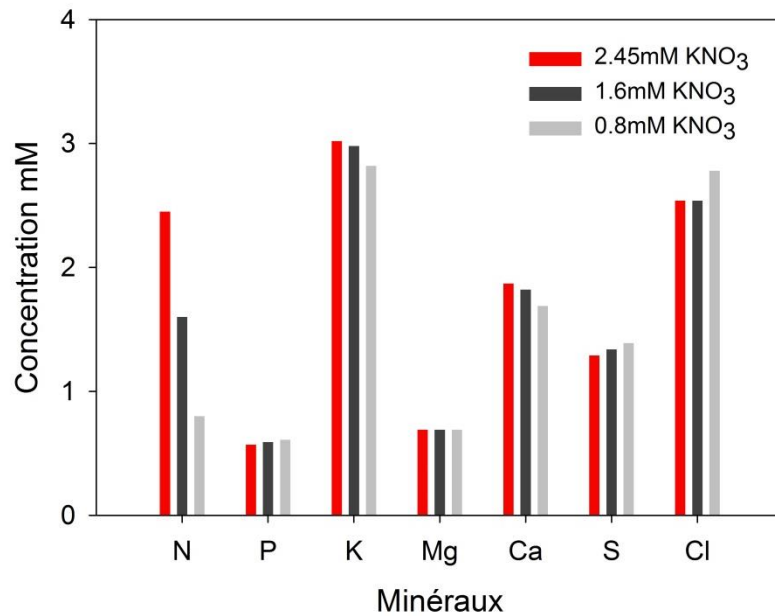


Figure 11 : Composition minérale des trois solutions nutritives utilisées pendant cette étude

utilisées 0,8mM (LN), 1,6mM (MN), 2,45mM (HN). Le choix de ces concentrations en nitrate a été déterminé à partir des solutions utilisées classiquement au laboratoire mais aussi à l'aide de données publiées traitant des variations saisonnières de la concentration en azote dans le sol de différents terroirs (Bair *et al.*, 2008; Christou *et al.*, 2006; Zerihun and Treeby, 2002). La composition minérale des différentes solutions nutritives est décrite dans le tableau 3. L'azote a été apporté dans la solution nutritive sous la forme KNO_3 marqué au ^{15}N à 5% pour les solutions marquées *LN, *MN et *HN. Dans la grande majorité des études de l'impact de la disponibilité azotée sur la physiologie de la plante, les chercheurs soumettent les plantes à une gamme de concentration en nitrate. Des ajouts de sels de nitrate sous forme de KNO_3 ou $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ permettent la constitution de cette gamme mais provoquent des variations de concentration des éléments compagnons (Ca^{2+} ou K^+) entre les solutions nutritives. Afin d'éviter ce biais, nous avons adapté les concentrations des autres sels de macronutriments ceci permettant de minimiser les variations en éléments compagnons, en modifiant fortement seulement la concentration en nitrate (figure 11).

3. MATERIEL VEGETAL

Deux combinaisons porte-greffe / greffon ont été étudiées au cours du travail de thèse. Le cépage *Vitis vinifera* L. Cabernet Sauvignon (clone 169) a été greffé sur *Vitis berlandieri* x *Vitis rupestris* cv. 1103 Paulsen (clone 113) ou *Vitis riparia* cv. Gloire de Montpellier (clone1). Ces deux génotypes de porte-greffe sont connus pour conférer des vigueurs contrastées : 1103 Paulsen (1103P) confère une vigueur forte, Riparia Gloire de Montpellier (RGM) une vigueur faible à son greffon (Tandonnet *et al.*, 2010). Des plants âgés d'une année ont été commandés auprès de pépiniéristes. Ces plantes ont été cultivées en pépinière pendant 9 mois (Février-Novembre) l'année précédant l'expérimentation. Les plantes ont été arrachées au mois de Novembre, taillées (tiges supprimées et racines rognées à environ 20cm de longueur) puis stockées en chambre froide jusqu'à expédition. A leur réception au laboratoire (en Mai 2011 et Février 2012), ces plantes ont été réhydratées 24h dans l'eau puis plantées dans des pots de 3L remplis de sable. Les plantes ont été cultivées en serre, sur couche chauffante à 35°C pendant 30 jours afin de favoriser la rhizogénèse et arrosées chaque semaine à l'eau. Après débourrement, les plantes ont été quotidiennement irriguées à l'eau, taillées de manière à ne conserver qu'une tige principale et ses entrecoeurs jusqu'à leur transfert dans une serre d'expérimentation.

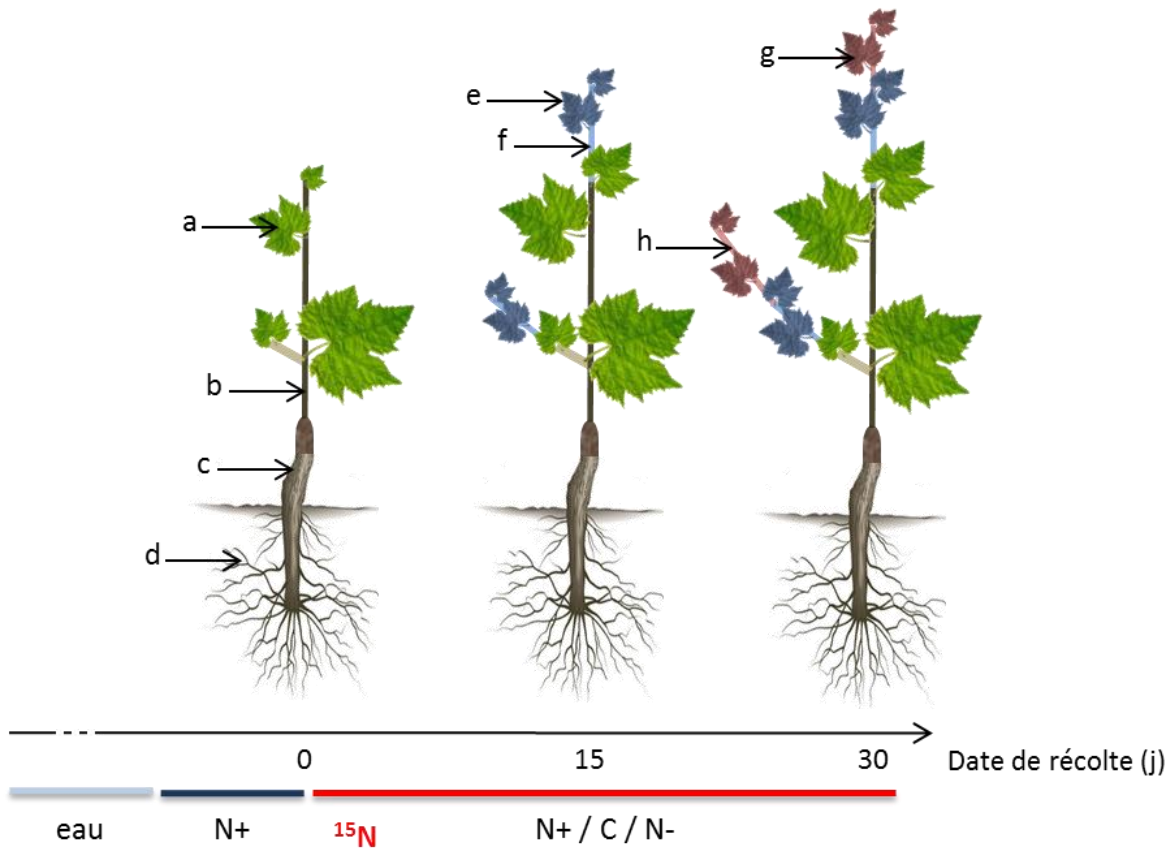


Figure 12 : Schéma du plan d'expérience 1 et des différents compartiments récoltés : feuilles (a), tiges (b), tronc (c), racines (d), feuilles néoformées (e et g) et tiges néoformées (f et h). Les traitements azotés N+, C et N- correspondent aux concentrations en nitrate dans la solution nutritive de 2,45 mM, 1,6 mM et 0,8 mM.

4. CONDITIONS DE CULTURE

4.1. EXPERIMENTATION 1

Trente jours après débourrement, 50 plantes par combinaison ont été transférées dans une serre d'expérimentation et irriguées avec la solution nutritive non marquée « HN » pendant 15 jours. Pour chacune des combinaisons, 45 plantes ont été sélectionnées aléatoirement et réparties en 3 groupes de 15 plantes. Chacun des groupes a été irrigué quotidiennement avec 200mL (répartis en 2 arrosages) de l'une des 3 solutions nutritives (*LN, *MN et *HN) marquées à 5% au $K^{15}NO_3$ pendant les 30 jours d'expérimentation. Les 5 plantes restantes par combinaison ont été récoltées le jour du début des traitements azotés (t0). Pour chacune des combinaisons, 5 plantes par traitement ont été récoltées 15 jours (t15) et 30 jours (t30) après le début des traitements azotés (figure 12). Les récoltes et les mesures effectuées sur les plantes sont détaillées dans la section 5.1 de ce chapitre.

4.2. EXPERIMENTATION 2

Au stade 5 feuilles (soient 3 semaines après débourrement), 80 plantes par combinaison ont été transférées dans la serre d'expérimentation et irriguées à la solution nutritive non marquée « C » jusqu'au stade 9-10 feuilles. Pour chacune des combinaisons, 60 plantes ont été sélectionnées aléatoirement et divisées en 3 groupes de 20 plantes. Parmi les plantes restantes, 5 plantes par combinaison ont été récoltées le jour du début des traitements azotés (t0). Chacun des groupes précédemment constitués a été quotidiennement irrigué avec 200 mL (répartis en 3 arrosages) de l'une des solutions nutritives non marquée (LN, MN et HN) pendant les 60 jours d'expérimentation, grâce au dispositif expérimental décrit par Segura et Ameline (Segura and Ameline, 2009). Quinze jours avant leur récolte, les plantes ont été irriguées avec les solutions nutritives marquées (*LN, *MN et *HN) d'après la méthode décrite par Schlitz *et al* (Schlitz *et al.*, 2005). Cette méthode permet de quantifier l'absorption d'azote exogène mais aussi d'identifier précisément l'origine de l'azote alloué aux organes néoformés pendant la période du marquage (exogène absorbé ou endogène remobilisé). Pour chacune des combinaisons, 5 plantes par traitement ont été récoltées tous les 15 jours après le début des traitements azotés, pendant 60 jours (t15, t30, t45, t60) (figure 13).

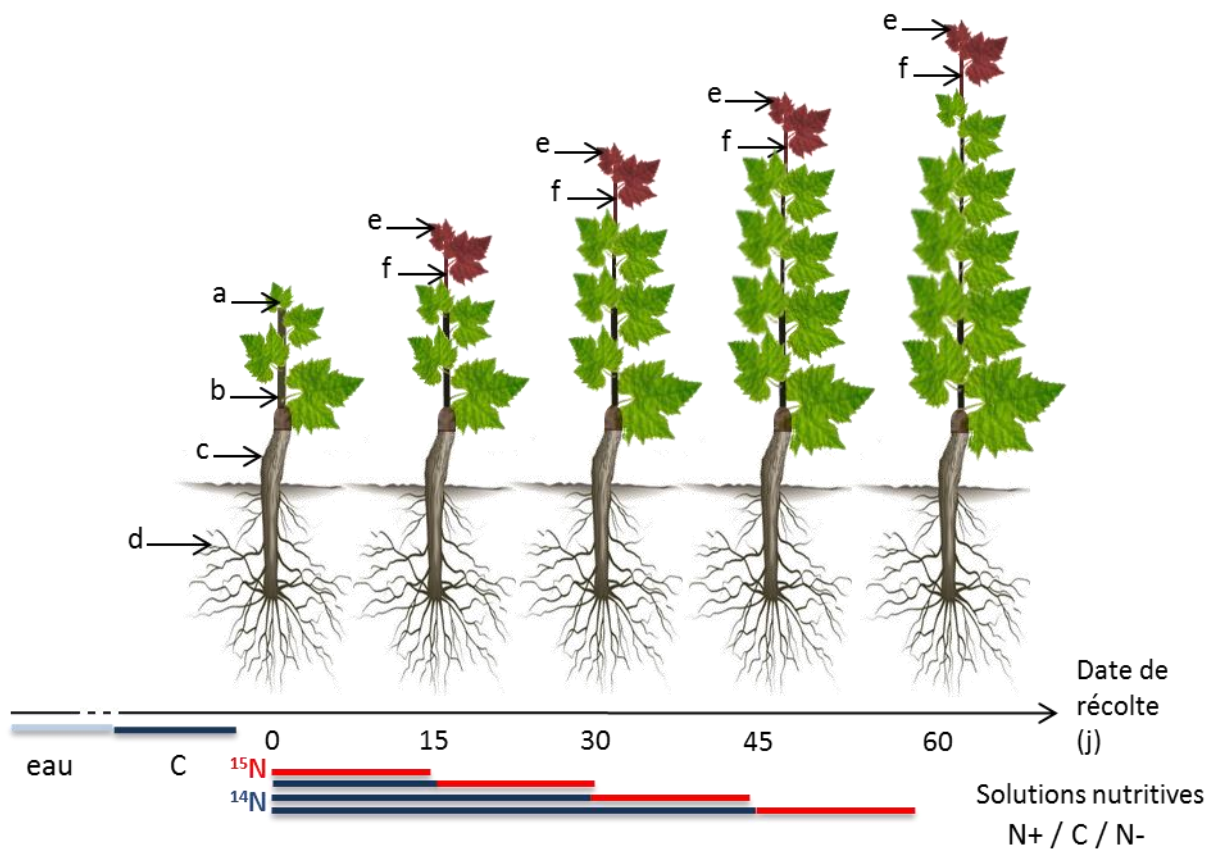


Figure 13 : Schéma du plan d'expérience et des différents compartiments récoltés : feuilles (a), tiges (b), tronc (c), racines (d), feuilles néoformées (e) et tiges néoformées (f). Les traitements azotés N+, C et N- correspondent aux concentrations en nitrate dans la solution nutritive de 2,45 mM, 1,6 mM et 0,8 mM.

Les récoltes et les mesures effectuées sur les plantes sont détaillées dans la section 5.2 de ce chapitre.

5. PRELEVEMENTS ET MESURES EFFECTUEES

5.1 EXPERIMENTATION 1

Les plantes ont été récoltées et divisées en 4 compartiments : racines, tronc, tige, feuilles, auxquels se sont ajoutés feuilles et tiges néoformées entre t0-t15 et t15-t30 (Figure 12). La masse fraîche de chaque compartiment, et la longueur des tiges et tiges néoformées ont été mesurées. Chacun des compartiments a ensuite été divisé en deux sous-échantillons. Le premier sous-échantillon a été desséché pendant une semaine à 60°C dans une étuve ventilée, puis sa masse sèche (MS) mesurée. Le second sous-échantillon a été plongé immédiatement dans l'azote liquide puis stocké à -80°C avant analyse. Ces échantillons ont été utilisés pour réaliser l'analyse transcriptomique de vignes greffées en réponse à la nutrition azotée, dans le cadre du travail de Master 2 de L. Rossdeutsch (Rossdeutsch, 2012).

Pour le compartiment foliaire, 5 rondelles de 8 cm² ont été prélevées à l'aide d'un poinçon sur 5 feuilles réparties le long de la tige de chacune des plantes. Les 5 rondelles ont été placées en tube de 1,5 mL, séchées à 60°C dans une étuve ventilée pendant 3 jours et leur masse sèche mesurée. Par proportionnalité avec la masse sèche totale des feuilles, il est possible d'évaluer pour chaque plante la surface foliaire, **LA** (Leaf Area).

Pour le compartiment racinaire, un troisième sous-échantillon a été prélevé, pesé puis stocké dans une solution de fixation (10% EtOH 95% / 5% Acide acétique glacial). Chacun des échantillons racinaires a été étalé dans un bac rempli d'eau puis numérisé. La longueur racinaire a été déterminée, grâce à l'analyse de l'image numérique grâce au logiciel Winrhizo (Regent instruments, Canada). Par proportionnalité avec la masse sèche totale des racines, il est possible d'évaluer la longueur de l'intégralité du système racinaire des plantes.

5.2 EXPERIMENTATION 2

Tous les prélèvements ont été effectués en fin de nuit, sous lampe verte. Les plantes ont été récoltées alternativement selon les traitements azotés et génotype de porte-greffe et ont été divisées en 6 compartiments : racines, tronc, feuilles (existantes et néoformées) et tiges (existantes et néoformées) (Figure 13). La masse fraîche de chaque compartiment, le nombre de feuilles, et la longueur des tiges existantes et néoformées ont été mesurées. Chaque

compartiment a ensuite été divisé en deux sous-échantillons. Le premier sous-échantillon a été desséché pendant une semaine à 60°C dans une étuve ventilée, puis sa masse sèche (MS) a été mesurée. Le second sous-échantillon a été plongé immédiatement dans l'azote liquide puis stocké à -80°C avant analyse.

6. CALCUL D'INDICES DE CROISSANCE ET D'ALLOCATION

Les masses sèches (MS) mesurées ont permis de calculer, pour les différents compartiments, des indicateurs de croissance et d'allocation de la biomasse au sein de la plante en fonction du traitement azoté et du génotype de porte-greffe. Pour chaque date de prélèvement, il a été ainsi possible de calculer :

- le rapport de masse sèche entre les compartiments racinaire et aérien ou root:shoot ratio (**R:S**).

- la part relative de la biomasse sèche (MS) de chacun des organes dans la biomasse sèche de la plante, **RWR** (Root Weight Ratio) pour les racines, **SWR** (Stem Weight Ratio) pour les tiges et **LWR** (Leaf Weight Ratio) pour les feuilles selon l'équation suivante :

$$RWR, SWR \text{ ou } LWR = MS_{organe} / MS_{plante}$$

- la longueur ou la surface des organes en fonction de leur masse sèche (MS en grammes) ; **SRL** (Specific Root Length) pour les racines, **SSL** (Specific Stem Length) pour les tiges, **SLA** (Specific Leaf Area) pour les feuilles :

$$SRL, SSL \text{ ou } SLA = \text{longueur ou surface}_{organe} / MS_{organe}$$

- la longueur (racines, tiges) ou la surface (feuilles) des organes en fonction de la masse sèche (MS) de la plante, **RLR** (Root Length Ratio) pour les racines, **SLR** (Stem Length ratio) pour les tiges, **LAR** (Leaf Area Ratio) pour les feuilles :

$$RLR, SLR \text{ ou } LAR = \text{longueur ou surface}_{organe} / MS_{plante}$$

- la vitesse de croissance relative en biomasse sèche (MS en grammes) de la plante au cours du temps (t), ou RGR (Relative Growth Rate), selon l'équation suivante :

$$RGR = (\ln MS\ plante_{t_{final}} - \ln MS\ plante_{t_0}) / (t_{final} - t_0)$$

- l'efficacité d'usage de l'azote (**NUE**), qui permet de calculer la prise de biomasse (g) par unité d'azote (g) contenu dans la plante sur le temps de l'expérimentation:

$$NUE = \Delta MS\ plante / N\ plante$$

- l'efficacité d'absorption de l'azote (**NUPE**) qui est définie dans cette étude comme l'absorption d'azote par unité de biomasse :

$$NUPE = \Delta N\ plante / MS\ plante$$

7. ANALYSES ELEMENTAIRES ET ISOTOPIQUES

La composition élémentaire en C et N, et l'enrichissement en ^{15}N ont été mesurés à partir des échantillons desséchés à l'étuve (voir sections 4.1 et 4.2 de ce chapitre). Chaque échantillon sec a été finement broyé à l'aide d'un vibrobroyeur MM400 Retch (Retch, Allemagne) puis 1mg de poudre a été précisément pesé et mis dans une capsule en Aluminium pour l'analyse élémentaire et isotopique. La concentration totale en N ($^{14}\text{N} + ^{15}\text{N}$) et l'enrichissement en ^{15}N des échantillons a été déterminé par IRMS (**I**sotope **R**atio **M**ass **S**pectrometry) (Isoprime X, GV Instruments, Manchester, UK) couplé à un analyseur élémentaire CHNS-O (EA3000, Eurovector, Milan, Italie) au laboratoire UMR950 EVA de l'Université de Caen Basse-Normandie. Ainsi, les mesures décrites précédemment ont permis de calculer pour chaque échantillon de masse sèche MS (en grammes) la quantité de N (g) et la quantité de ^{15}N (g) :

$$N_{total} = \%N \times M$$

$$^{15}\text{N} = \%^{15}\text{N} \times N_{total}$$

Et pour chaque compartiment, à un temps t :

$$\text{l'incrément de quantité d'azote (g)} : \Delta N_{total} = N_{total}(t) - N_{total}(t-15)$$

L'utilisation du marquage au ^{15}N dans nos expérimentations permet de discriminer le ^{14}N présent avant le début des expériences de marquage (endogène), du ^{15}N absorbé au cours de l'expérimentation (exogène). Ainsi, il est possible de calculer pour chaque échantillon d'un compartiment i, prélevé à une date t, d'un enrichissement en ^{15}N (E%) et pour un enrichissement en ^{15}N de 5% dans la solution nutritive :

la quantité de N d'origine exogène : $Nexo_t = \Delta Ntotal_t \times \frac{E\%_t - E\%_{t0}}{5\% - E\%_{t0}}$

la quantité de N endogène : $\Delta Nremob_t = Ntot_t - Ntot_{t0} - Nexo_t$

8. ANALYSE DES METABOLITES

8.1 BROYAGE ET EXTRACTIONS

Les échantillons des temps t0, t15 et t60 congelés de l'expérimentation 2012 ont été broyés en présence d'azote liquide en une fine poudre à l'aide d'un broyeur à billes. La poudre obtenue a été stockée à -80°C. Pour chacun des échantillons broyés, deux aliquots de 20 mg et 100 mg ont été pesés avec précision dans l'azote liquide. Une triple extraction éthanolique (80/80/50% EtOH) a été réalisée sur les aliquots de 20 mg, selon la méthode décrite par Geigenberger *et al.* (2003). Les surnageants ont été utilisés pour le dosage du phosphate inorganique (Pi), des acides aminés (AA) et des sucres solubles (Glucose, Fructose et Saccharose). Les culots ont été utilisés pour le dosage des protéines et de l'amidon. Les aliquots de 100mg ont subi une extraction aqueuse qui a permis le dosage du nitrate au sein de ces échantillons. L'ensemble des extraits a été conservé à -20°C.

8.2 DOSAGE DES METABOLITES

L'ensemble des métabolites étudiés a été dosé par spectrométrie, à l'aide d'un lecteur microplaques 96 puits (Bio-Tek Instruments ELx800UV, USA).

Les quantités de protéines ont été dosées à 595nm, après reprise du culot (résultant de l'extraction éthanolique) avec 400µL de NaOH 0,1N. La quantification des protéines a été réalisée par dosage grâce au réactif de Bradford (Bio-Rad, Allemagne) dilué au 1/5^{ème}.

Le nitrate a été quantifié par dosage colorimétrique, d'après le protocole de Mori. La méthode repose sur la réaction de Greiss. Dans un premier temps, le nitrate est réduit en nitrite par la nitrate réductase (5U/ml). Le composé azoïque final (rose) obtenu par réaction du nitrite avec le sulfanilamide 1% (w/v) en condition acide (pH<2), entraîne la formation de diazonium. Du NNEDA 0.02% (w/v) est ensuite été ajouté. La réaction forme un colorant azoïque coloré, dont l'absorbance à 540nm est mesurée.

Les aminés totaux ont été dosés d'après le protocole modifié de Yemm and Cocking (1955).

Les 21 principaux acides aminés ont été quantifiés d'après la méthode de Cohen & Michaud par chromatographie liquide à haute pression (Waters, HPLC Waters Alliance 2690, USA), après dérivation des extraits éthanoliques par le fluorophore 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate (ACQ), selon les instructions du kit de dérivation « Waters AccQ-Fluor reagent kit » (Waters, USA). La dérivation a permis, via la fixation de l'ACQ sur les amines primaires et secondaires des acides aminés, de les rendre fluorescents et de pouvoir ensuite les quantifier. Les acides aminés dérivés ont été séparés sur une colonne C18 AccQ-Tag (Nova-pak, Waters, USA), par un flux de 0.1 mL/min, à 37°C, en utilisant un éluant A (Acétate de sodium 140 mM, pH 5.70 et triéthylamine 7 mM, filtré sur membrane de polypropylène hydrophile 0.45 µm (Sigma-Aldrich - Gelman GH Polypro, USA), un éluant B (acétonitrile 60%), un éluant C (acétonitrile 20%) et l'éluant D (acétonitrile pur). La détection de la fluorescence a été faite à l'aide d'un détecteur à fluorescence (Waters 474, Waters, USA) à 395 nm après excitation à 250 nm. L'étude des chromatogrammes et l'intégration des pics obtenus a été faite à l'aide du logiciel Chromoléon (Dionex, USA).

Le phosphate inorganique total (Pi) a été quantifié, comme décrit par Ames (1979). Ce dosage est effectué grâce à la complexation du phosphate inorganique avec le molybdate d'ammonium 4.2% (p/v) en milieu acide (HCH 5N). L'ajout à ce complexe de vert de malachite 0.2% (p/v) forme un composé coloré, dosé par lecture de l'absorbance à 630 nm.

L'acide tartrique a été mesuré à 540 nm, d'après la méthode Rebelein modifiée par Blouin-Vidal.

L'acide malique a été mesuré à l'aide du kit « Acide malique » (Biosentec, France), d'après les instructions du fournisseur, en les adaptant au dosage en microplaques.

Les quantités en sucres solubles ont été dosées à l'aide du kit « Glucose/Fructose/Saccharose » (Biosentec, France), d'après les instructions du fournisseur, en les adaptant au dosage en microplaques. La quantification a été réalisée à 340 nm, par mesure de l'augmentation du NADPH réduit au cours des réactions enzymatiques.

L'amidon a été dosé dans le reliquat de culot suspendu du dosage des protéines. Comme décrit par Gibon *et al.* (2004), la dégradation de l'amidon a été faite à l'aide d'un mélange d'amyloglucosidase et d' α -amylase (Roche, France). Le glucose résultant de cette dégradation a été dosé à 340 nm à l'aide du kit « Glucose » (Biosentec, France) par la mesure de l'augmentation de l'absorbance de NADPH.

9. ANALYSES MINÉRALES DE L'EXPERIMENTATION 2

La composition minérale des compartiments feuilles, tiges et racines a été analysée par le laboratoire Eastern Analytical Laboratories (Richmond, VA, USA) à partir d'un gramme de poudre sèche pour chaque échantillon. La quantité d'azote a été déterminée par l'analyseur Leco FP-528 (LECO, St. Joseph, MI, USA). La concentration des autres éléments minéraux (P, K, S, Mg, Ca, Na, Fe, Al, Cu, Zn, B, Mn) a été déterminée grâce à un analyseur élémentaire ICP-OES MS 730-ES (Varian, Palo Alto, CA, USA) après double digestion des échantillons à l'acide nitrique et à l'acide chlorhydrique.

10. ANALYSES STATISTIQUES

Les données ont été analysées grâce au logiciel XLSTATS (Version 2013.3.02 Addinsoft, France). Les données ont été traitées grâce à des ANOVA à deux facteurs pour mettre en évidence les éventuels effets des traitements azotés, du génotype du porte-greffe ou de leur interaction. Lorsqu'une interaction était observée, une comparaison multiple par test de Tuckey (seuil de significativité = 5%) a été effectuée. Lorsque les données ne respectaient pas les tests de normalité ou d'égalité des variances, un test de Kruskal-Wallis était effectué et un test multiple de Dunn a été réalisé en cas d'interaction entre les facteurs. Les corrélations entre les différents métabolites étudiés (section 8 de ce chapitre) ont été statistiquement analysées grâce à des analyses à composantes principales (ACP).

11. RESEAUX DE CORRELATION

La mise en évidence de réseaux de corrélation entre les différents métabolites étudiés (section 8 de ce chapitre) permet d'identifier les points clés du métabolisme du génotype étudié et les différences entre les combinaisons. Pour ce faire, une matrice de corrélation entre les différents métabolites a été calculée pour chacune des combinaisons porte-greffe / greffon afin de mettre en évidence les différences inter-génotypiques potentielles. Les matrices de corrélation ont été réalisées à l'aide d'un script implémenté sur le logiciel de statistiques R© (Version 2.15.3). Les matrices de corrélation ont été réalisées pour chacune des combinaisons PG/G. Les corrélations métabolite-métabolite statistiquement significatives (Test de

Bonferroni, *pvalue* <0.05) ont été utilisée pour créer les réseaux de corrélation, visualisés à l'aide du logiciel Cytoscape (Version 2.8.3).

CHAPITRE 1

EFFET DU GENOTYPE DU PORTE-GREFFE SUR L'ABSORPTION ET L'ALLOCATION D'AZOTE AU SEIN D'UNE VIGNE GREFFEE

OBJECTIFS ET HYPOTHESES DE TRAVAIL

Dans ce contexte, notre étude a consisté à mettre en évidence les différences dans l'absorption, la remobilisation et l'allocation de l'azote induites par le porte-greffe et de déterminer le ou les mécanismes physiologiques impliqués dans le déterminisme de la vigueur conférée. En effet, notre hypothèse de travail suppose que le signal azoté est impliqué dans le contrôle de la vigueur et que le génotype du porte-greffe modulerait ce signal. Les expérimentations décrites dans ce chapitre ont pour objet de répondre aux trois premières hypothèses de travail, à savoir :

H1 : Le génotype de porte-greffe conférant une vigueur plus importante absorberait plus d'azote par unité de biomasse et par conséquent présenterait **une meilleure NUpE**.

H2 : Le génotype du porte-greffe conférant une vigueur plus importante allouerait plus d'azote et de biomasse vers les compartiments aériens en croissance et ainsi augmenterait la vigueur de la plante.

H3 : Le génotype de porte-greffe conférant une plus forte vigueur mobiliserait plus efficacement ses réserves azotées pour soutenir la croissance végétative du greffon et par conséquent présenterait **une meilleure NRE**.

STRATEGIES EXPERIMENTALES ET METHODOLOGIQUES

De jeunes plants cultivés en pépinière pendant un an ont été utilisés pour ces expérimentations afin de s'assurer de leur viabilité après greffage. Les plantes ont été cultivées en pots et fertirriguées par trois solutions nutritives concentrées à 0,8, 1,6 et 2,45mM de nitrate afin de faire varier le flux de N entrant dans la plante et de mettre en valeur l'impact du génotype du porte-greffe sur les interactions entre la plante greffée et son environnement. De façon à mesurer l'absorption et l'allocation de N au sein de la plante, un marquage au $K^{15}NO_3$ a été réalisé selon la méthode décrite en 4.1 et 4.2 de la section Matériel et Méthodes. Une première expérimentation, dédiée à tester H1 et H2 a été réalisée en 2011 et une deuxième en 2012 afin i.) de vérifier les résultats de 2011 et ii.) de répondre à H3.

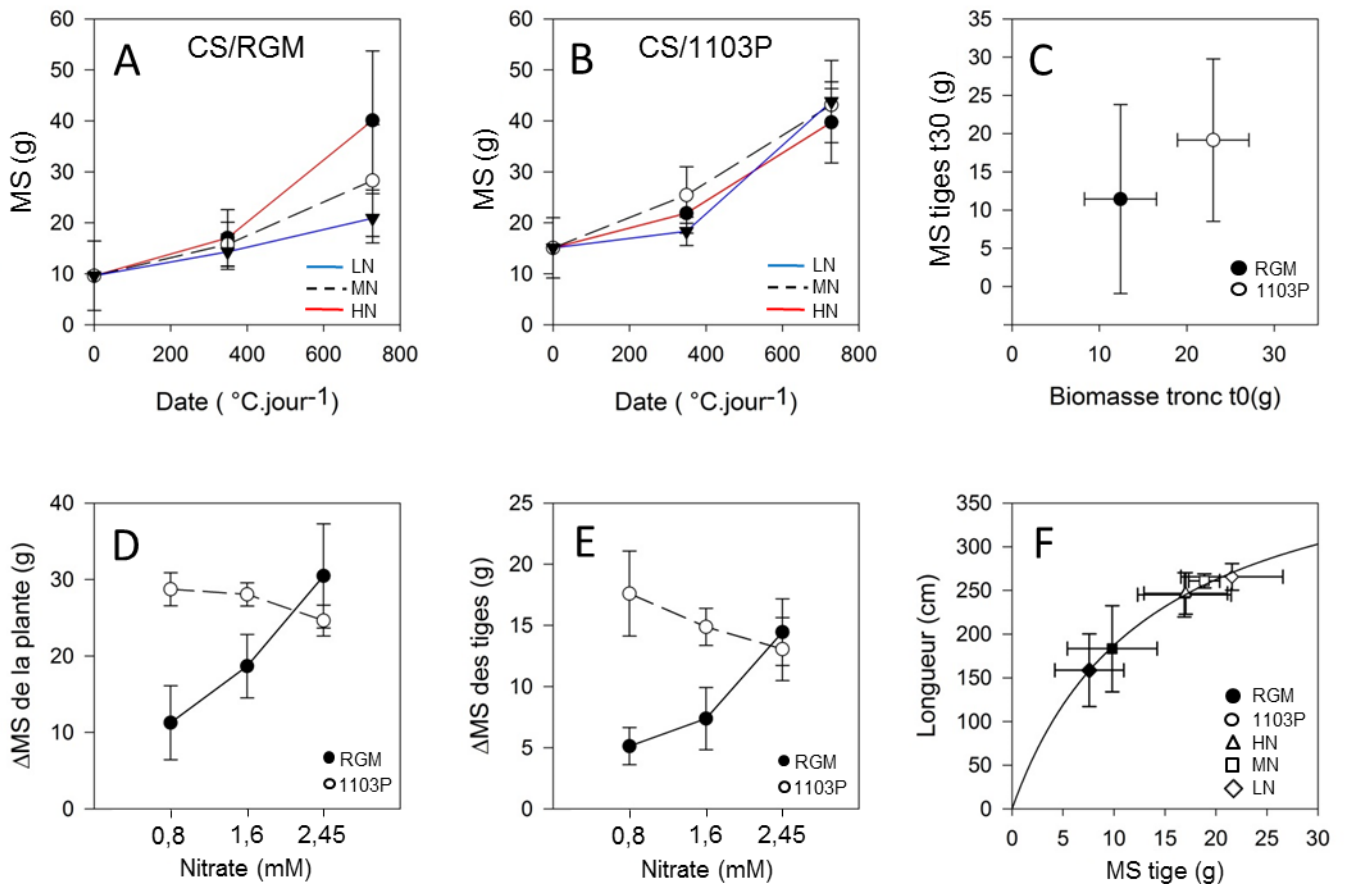


Figure 1.1 : **A** et **B** Biomasse sèche totale des plantes (g) en fonction du temps ($^{\circ}\text{C}\cdot\text{jour}^{-1}$) et de la concentration externe en nitrate LN (0,8mM), MN (1,6mM), HN (2,45mM), n=5 ; **C** Biomasse sèche des tiges à t30 (g), tous traitements confondus, en fonction de la biomasse des troncs à t0 (g), n=5 ; **D** Prise de biomasse de la plante et **E** des tiges entre t0 et t30 (g) en fonction de la concentration en nitrate dans la solution nutritive (mM), n=5 ; **F** Allométrie entre la biomasse des tiges (g) et leur longueur (cm) à t30, n=5, $r^2=0,99$

Tableau 1.1 : Influence du génotype du porte-greffe (RGM ou 1103P) et de la concentration externe en nitrate LN (0,8mM), MN (1,6mM) et HN (2,45mM) sur la biomasse de la plante (sans le tronc, g), des compartiments racine, tronc, tige, feuille (g), sur le ratio biomasse racinaire:biomasse aérienne (sans le tronc), sur le nombre de feuilles et sur la longueur totale des tiges (cm) à t0 et t30, moyenne \pm sd, n=5

	RGM			1103P			Statistiques		
	LN	MN	HN	LN	MN	HN	PG	T	I
à t0									
Biomasse plante (ss tronc)			9.62 \pm 6.81			15.07 \pm 5.92			ns
Feuille (g)			2.84 \pm 1.52			3.71 \pm 0.91			ns
Tige (g)			2.45 \pm 1.86			3.97 \pm 1.52			ns
Tronc (g)			12.41 \pm 4.12			23.02 \pm 4.09			**
Racine (g)			3.87 \pm 3.08			6.55 \pm 3.19			ns
R:S (g/g)			0.67 \pm 0.15			0.85 \pm 0.22			ns
Nombre de feuilles			35 \pm 11			45 \pm 14			ns
Longueur des tiges (cm)			86.71 \pm 29.73			110.72 \pm 22.34			ns
à t30									
Biomasse plante (ss tronc)	20.89 \pm 4.83	28.29 \pm 10.96	40.09 \pm 13.63	43.80 \pm 8.07	43.12 \pm 3.21	39.71 \pm 7.95	***	ns	*
Feuilles	7.98 \pm 1.44	10.17 \pm 3.10	13.24 \pm 3.65	12.18 \pm 1.31	14.45 \pm 1.74	13.63 \pm 3.27	*	ns	ns
Tiges	7.58 \pm 3.38	9.83 \pm 4.40	16.90 \pm 4.58	21.57 \pm 5.00	18.85 \pm 1.52	17.03 \pm 4.10	***	ns	*
Tronc	14.93 \pm 3.10	18.90 \pm 8.16	16.24 \pm 2.74	29.12 \pm 5.20	19.62 \pm 4.06	25.36 \pm 8.13	***	ns	ns
Racines	4.90 \pm 0.92	7.80 \pm 4.22	9.69 \pm 5.44	9.51 \pm 2.51	9.15 \pm 0.89	8.51 \pm 1.35	ns	ns	ns
R:S (g/g)	0.34 \pm 0.10	0.40 \pm 0.10	0.31 \pm 0.10	0.28 \pm 0.04	0.28 \pm 0.03	0.29 \pm 0.06	*	ns	ns
Nombre de feuilles	62 \pm 7	75 \pm 1	93 \pm 17	75 \pm 7	99 \pm 5	105 \pm 18	***	***	ns
LA (m ²)	1.26 \pm 0.20	1.57 \pm 0.44	2.00 \pm 0.52	1.85 \pm 0.18	2.17 \pm 0.25	2.05 \pm 0.46	**	**	ns
Longueur des tiges (cm)	158.7 \pm 41.5	183.3 \pm 49.3	245.0 \pm 25.3	265.6 \pm 15.2	260.8 \pm 8.0	246.6 \pm 23.8	***	ns	**
Longueur des racines (m)	125.9 \pm 19.0	170.0 \pm 58.2	192.1 \pm 57.8	203.5 \pm 33.1	201.8 \pm 12.6	191.7 \pm 20.8	*	ns	ns

RESULTATS

EXPERIMENTATION 1 :

ANALYSE DE CROISSANCE

DYNAMIQUES D'ACCUMULATION DE BIOMASSE

En conditions HN, la biomasse sèche (sans le tronc) des deux combinaisons augmente au cours des 30 jours de l'expérimentation, passant de 9,62 à 40,09 g pour CS/RGM et de 15,07 à 39,71g pour CS/1103P (figure 1.1A et 1.1B). La réduction de la concentration en azote (MN et LN) n'a pas d'effet sur la biomasse des plantes greffées sur 1103P mais diminue à partir du quinzième jour d'expérimentation la biomasse totale et la biomasse des plantes greffées sur RGM (figure 1.1A et 1.1B). Pour les deux combinaisons, la biomasse sèche des troncs n'évolue pas au cours du temps et n'est pas modifiée par les traitements. (données non présentées). Afin de mettre en évidence des différences de croissance engendrées par les traitements azotés et les génotypes de porte-greffe, le reste de l'étude de croissance est focalisé sur t0 et t30.

Au début de l'expérimentation (t0), les deux combinaisons porte-greffe / greffon ne présentent aucune différence significative de biomasse des différents compartiments, de longueur de tige ou de nombre de feuilles (tableau 1.1). Les plantes greffées sur 1103P présentent pour toutes ces variables des valeurs moyennes plus importantes en comparaison des plantes greffées sur RGM mais sans que les différences ne soient significatives en raison de la forte variabilité biologique. Seule la biomasse moyenne des troncs est significativement plus forte chez 1103P (23,02 g) que chez RGM (12,41 g) (tableau 1.1). A t30, les plantes greffées sur 1103P présentent une biomasse totale, des feuilles, des tiges et du tronc plus importantes que celles plantées sur RGM mais aucun effet porte-greffe n'a été noté sur la biomasse racinaire (tableau 1.1). L'effet de la diminution des apports azotés sur ces variables dépend du génotype du porte-greffe : la biomasse totale des plantes et des tiges est significativement diminuée chez CS/RGM et reste stable chez CS/1103P (figure 1.1D et 1.1E). La longueur des tiges est modulée de manière identique, en raison de l'allométrie qui existe entre biomasse et longueur des tiges (figure 1.1F). Il apparait aussi que l'effet du génotype sur la biomasse des tiges est lié à la biomasse du tronc à t0 (figure 1.1C). Aucune différence significative de biomasse des feuilles en réponse au génotype du porte-greffe croisé aux traitements azotés n'a été observée mais le nombre de feuilles et la surface foliaire sont plus importants chez 1103P

Tableau 1.2 : Influence du génotype du porte-greffe (RGM ou 1103P) et de la concentration externe en nitrate LN (0,8mM), MN (1,6mM) et HN (2,45mM) sur la vitesse de croissance entre t0 et t30 (RGR), les ratios de biomasse (foliaire LWR, des tiges SWR et racinaire RWR), la surface foliaire spécifique SLA, la longueur de tige (SSL) et racinaire spécifique (SRL) et la surface foliaire LAR, la longueur racinaire (SLR) et la longueur racinaire (RLR) par unité de biomasse de la plante, moyenne \pm sd, t30, n=5

	RGM			1103P			ANOVA		
	LN	MN	HN	LN	MN	HN	PG	T	I
RGR (g/g/jour)	0.025 \pm 0.008	0.034 \pm 0.013	0.046 \pm 0.010	0.035 \pm 0.006	0.035 \pm 0.002	0.032 \pm 0.006	ns	ns	*
LWR (g/g)	0.39 \pm 0.04	0.37 \pm 0.05	0.34 \pm 0.04	0.28 \pm 0.03	0.33 \pm 0.02	0.34 \pm 0.03	**	*	**
SWR (g/g)	0.35 \pm 0.08	0.34 \pm 0.04	0.43 \pm 0.03	0.49 \pm 0.03	0.44 \pm 0.02	0.43 \pm 0.05	***	ns	**
RWR (g/g)	0.24 \pm 0.05	0.27 \pm 0.05	0.23 \pm 0.05	0.22 \pm 0.02	0.21 \pm 0.02	0.22 \pm 0.03	*	ns	ns
SLA (m ² /g)	0.158 \pm 0.003	0.155 \pm 0.005	0.151 \pm 0.003	0.152 \pm 0.001	0.150 \pm 0.001	0.151 \pm 0.002	**	ns	ns
SSL (cm/g)	22.39 \pm 4.26	20.16 \pm 4.31	14.95 \pm 2.25	12.73 \pm 2.22	13.88 \pm 0.73	14.87 \pm 2.03	***	ns	**
SRL (m/g)	25.8 \pm 0.84	23.34 \pm 3.57	21.73 \pm 4.53	21.83 \pm 2.10	22.13 \pm 0.75	22.66 \pm 1.14	ns	ns	ns
LAR (m ² /g)	2.61 \pm 0.26	2.74 \pm 0.38	3.01 \pm 0.34	3.58 \pm 0.33	3.00 \pm 0.17	2.94 \pm 0.26	**	ns	**
SLR (cm/g)	7.55 \pm 0.41	6.74 \pm 0.88	6.44 \pm 1.28	6.18 \pm 0.79	6.07 \pm 0.33	6.31 \pm 0.69	*	ns	ns
RLR (m/g)	6.21 \pm 1.29	6.16 \pm 0.86	4.84 \pm 0.55	4.67 \pm 0.28	4.70 \pm 0.36	4.92 \pm 0.73	**	ns	ns

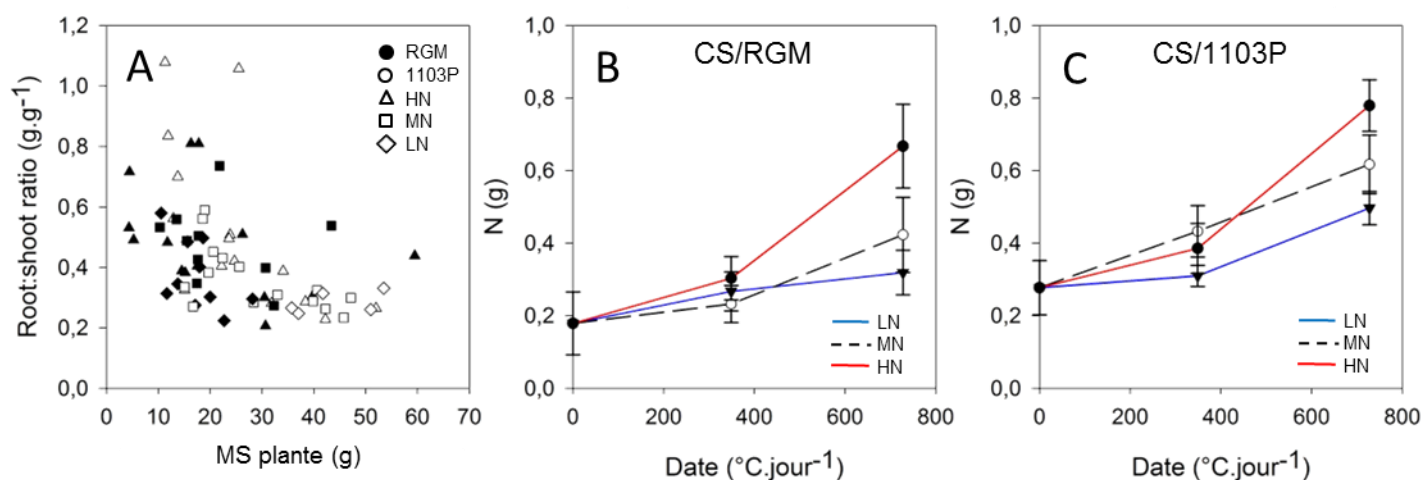


Figure 1.2 : **A** Effet de la biomasse de la plante (g) sur le ratio biomasse racinaire:biomasse aérienne ; **B** et **C** quantité d'azote par plante en fonction du temps ($^{\circ}\text{C.jour}^{-1}$) et des traitements azotés (LN, MN et HN), n=5

que chez RGM pour tous les traitements azotés et sont réduits par la diminution de la concentration en nitrate externe (tableau 1.1). Même si en raison de la forte variabilité biologique de la biomasse racinaire, aucun effet significatif n'est détecté à l'issue de l'analyse par ANOVA des biomasses racinaires, en réponse à la diminution de la disponibilité azotée, la biomasse racinaire moyenne chute chez RGM (elle passe en moyenne de 9,69 à 4,90 g) alors qu'elle reste constante chez 1103P (aux alentours de 9 g). Le root:shoot ratio n'est pas modifié par les traitements azotés mais le R:S des plants greffés sur RGM est plus faible que celui des plants greffés sur 1103P, en partie en raison de l'allométrie entre R:S et la biomasse de la plante (tableau 1.2) (figure 1.2A).

La fraction de biomasse allouée aux feuilles (LWR) est plus importante chez CS/RGM que CS/1103P (tableau 1.2). De plus, LWR est réduit en réponse à une diminution de la nutrition en nitrate chez CS/1103P alors qu'il reste stable chez CS/RGM. La fraction de biomasse allouée au compartiment tige (SWR) est identique pour les deux combinaisons en HN mais, en réponse à la diminution de la concentration en nitrate, SWR diminue chez CS/RGM alors qu'il reste constant chez CS/1103P (tableau 1.2). La fraction de biomasse allouée au compartiment racinaire (RWR) est plus importante pour les plantes greffées sur RGM que pour celles greffées sur 1103P (tableau 1.2). Dans notre étude, RWR n'est pas modifié par les traitements azotés. LAR n'est pas impacté par le génotype du porte-greffe pour le traitement HN mais, en réponse à une diminution de la concentration externe en nitrate, le LAR diminue chez CS/RGM alors qu'il reste stable chez CS/1103P (tableau 1.2). SLR est plus important chez CS/RGM que chez CS/1103P et n'est pas impacté par la concentration externe en nitrate (tableau 1.2). RLR est plus fort chez CS/RGM que CS/1103P et n'est statistiquement pas impacté par la modification de l'alimentation en nitrate (tableau 1.2). SLA n'est significativement pas affecté par les traitements azotés mais est plus fort chez RGM que chez 1103P (tableau 1.2). SSL est plus élevé chez RGM que chez 1103P répond différemment à une diminution de la concentration en nitrate externe selon le génotype du porte-greffe : il diminue avec 1103P alors qu'il augmente avec RGM (tableau 1.2). SRL n'est pas modifié par le génotype du porte-greffe ou le traitement azoté (tableau 1.2). Le RGR des plantes greffées sur 1103P n'est pas modifié en réponse à la nutrition en nitrate (tableau 1.2). La vitesse de croissance moyenne de RGM est équivalente voire supérieure à celle de 1103P pour le traitement HN, mais elle est fortement diminuée par les traitements MN (-26%) et LN (-46%) (tableau 1.2).

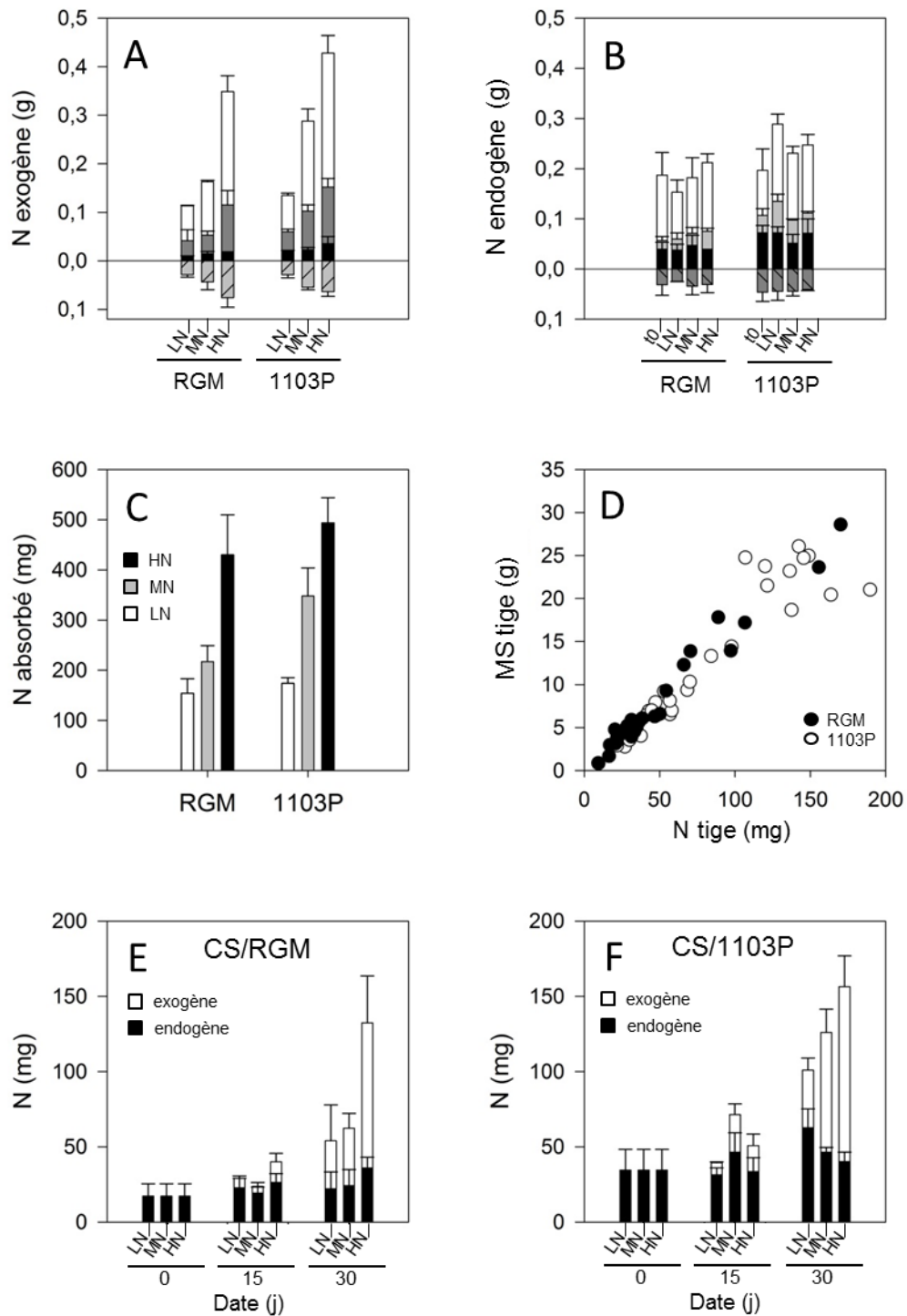


Figure 1.3 : **A** Répartition de l'azote exogène (g) au sein de la plante en fonction des traitements azotés (LN, MN et HN) et du génotype du porte-greffe (RGM et 1103P) à t30, □ = feuilles, ■ = tiges, ■ = tronc, ▨ = racines, n=5 ; **B** Répartition de l'azote endogène (g) au sein de la plante en fonction des traitements azotés (LN, MN et HN) et du génotype du porte-greffe (RGM et 1103P) à t0 et à t30, même codification que pour **A**, n=5 ; **C** Quantité d'azote absorbé au cours des 30 jours d'expérimentation en fonction des traitements azotés (LN, MN et HN) et du génotype du porte-greffe (RGM et 1103P), n=5 ; **D** Biomasse sèche des tiges (g) des plantes greffées sur RGM ou sur 1103P en fonction de leur contenu en azote (mg) ; **E** et **F** Quantité d'azote endogène et exogène (mg) contenu dans les tiges de CS/RGM (**E**) et CS/1103P (**F**) en fonction du temps (jours) et des traitements azotés (LN, MN et HN), n=5

ANALYSES ELEMENTAIRES ET ISOTOPIQUES

La quantité moyenne de N augmente au cours de l'expérimentation dans les deux combinaisons porte-greffe / greffon : elle passe de 0,2 g à t0 à 0,3 (LN), 0,4 (MN) et 0,7 g (HN) pour CS/RGM, et de 0,3 g à 0,5g (LN), 0,6 g (MN) et 0,8 g (HN) pour CS/1103P (figure 1.2B et 1.2C). L'augmentation de N dans la plante est provoquée par l'absorption de nitrate, qui a été quantifiée grâce à l'utilisation de ^{15}N nitrate dans la solution nutritive. La quantité de N absorbé est d'autant plus forte que la concentration en N dans la solution nutritive est importante. A la fin de l'expérimentation (t30), CS/RGM a absorbé en moyenne 44 (HN), 22 (MN) et 16 mg (LN) alors que CS/1103P a absorbé en moyenne 50 (HN), 36 (MN) et 18 mg (LN) d'azote. Statistiquement, les deux combinaisons ont absorbé autant de ^{15}N pour HN et LN et CS/1103P a absorbé plus de N que CS/RGM lorsque irrigué avec MN (figure 1.3C). L'analyse de la répartition à t30 du N marqué révèle que la quantité de N exogène est d'autant plus importante dans tous les compartiments de la plante, en particulier dans les feuilles, que la concentration en nitrate externe est forte. Aucune différence significative n'a été observée entre les deux combinaisons porte-greffe / greffon sauf pour la quantité de N exogène des tiges qui est plus importante chez CS/1103P que CS/RGM pour le traitement MN (figure 1.3A). La répartition du N endogène n'est pas modifiée entre t0 et t30 sauf pour les tiges de CS/1103P qui voient leur quantité de N endogène augmenter entre t0 et t30 en réponse à la diminution de la disponibilité azotée (figure 1.3B).

La quantité de N des tiges et leur biomasse sont corrélées positivement de manière linéaire, quel que soit le génotype du porte-greffe (figure 1.3D). Le marquage du nitrate au ^{15}N nous permet de déterminer l'origine du N présent dans un organe. Ainsi, nous pouvons déterminer la part respective de l'azote endogène et de l'azote exogène dans le compartiment tiges (Figure 1.3E et 1.3F). A t0, l'azote contenu dans les tiges ne peut être marqué, il est considéré d'origine endogène, même si une partie de l'azote qui le compose a été absorbé avant le début des traitements azotés et n'a donc pas pour origine les réserves N de l'année précédente. On peut cependant noter que les tiges de CS contiennent deux fois plus de N quand CS est greffé sur 1103P (40 mg) que quand il est greffé sur RGM (20 mg), alors même que les tiges n'ont pas une longueur ou une biomasse significativement différente (tableau 1.1). A t15, l'azote issu du nitrate endogène représente de 1/4 à 1/3 de l'azote du compartiment chez RGM et 1103P, alors que la quantité de N exogène ne varie pas par rapport à t0 (figure 1.3E et 1.3F). L'analyse isotopique à t15 des « tiges néoA », dont le N ne peut être issu que de l'absorption

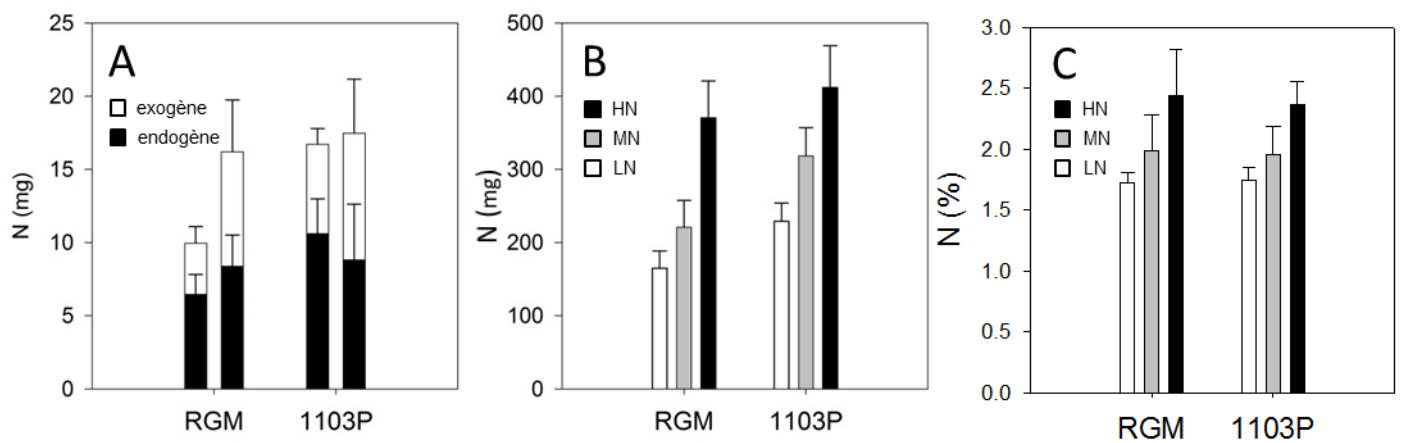


Figure 1.4 : **A** Quantité de N d'origine exogène et endogène dans les tiges néoformées de RGM et de 1103P pour les traitements LN (gauche) et HN (droite) à t15, n=5 ; **B** Quantité de N foliaire (mg) en fonction des traitements azotés (LN, MN et HN) et du génotype de porte-greffe (RGM et 1103P) à t30, n=5 ; **C** Quantité de N dans les feuilles (g) pour 100 grammes de biomasse sèche foliaire en fonction des traitements azotés (LN, MN et HN) et du génotype de porte-greffe (RGM et 1103P) à t30, n=5

ou de la remobilisation des réserves azotées, révèle que pour le traitement HN la quantité et le rapport N exogène/ N endogène est identique pour les deux combinaisons (50/50). Pour le traitement LN, le rapport N exogène / N endogène est identique pour les deux combinaisons (1/3) mais la quantité de N reste constante chez CS/1103P alors qu'elle diminue fortement chez CS/RGM (figure 1.4A). Chez CS/ RGM, entre t15 et t30, la quantité de N endogène augmente de 5 mg pour le traitement HN, et reste stable pour les autres traitements. La quantité totale de N augmente d'un facteur 3 pour le traitement HN (passant de 40 mg à 130 mg), et d'un facteur 1,7 pour les traitements MN et LN, qui passent de 35 à 60mg de N. Cette augmentation de la quantité de N est provoquée par une forte accumulation de N d'origine exogène qui représente plus de 50% du N présent dans le compartiment pour LN et MN et près de 70% pour HN. A t30, en réponse à la diminution de la disponibilité en N, la quantité de N endogène de CS/RGM n'est pas modifiée significativement alors que CS/1103P alloue plus de N d'origine endogène vers le compartiment tige : la quantité de N endogène passe de 35 à 60 mg pour LN et reste stable pour les MN et HN. Inversement, la quantité de N exogène est plus d'autant plus importante que la concentration en N externe est forte pour les deux combinaisons. En proportion, le N exogène représente chez CS/1103P 1/3 (LN), 2/3 (MN) et 3/4 (HN) du N total présent dans le compartiment. Ces résultats à t30 révèlent que le génotype du porte-greffe modifie la quantité de N allouée vers les tiges, en réponse aux traitements azotés. Cependant, la méthode de marquage continu n'est pas adaptée pour discerner à t30 le ^{15}N exogène directement alloué vers les tiges du ^{15}N absorbé entre t0 et t15 puis remobilisé dans compartiments de la plante entre t15 et t30.

Dans le compartiment foliaire, une diminution de la concentration en nitrate externe a pour effet de faire chuter la quantité et la concentration de N, dans les deux combinaisons porte-greffe / greffon (figure 1.4B et 1.4C). Cette chute est provoquée par les effets croisés de la réduction de la biomasse foliaire (Tableau 1.1) et de l'absorption de N (figure 1.3C) chez RGM alors qu'elle n'est due uniquement à la baisse de la disponibilité en N pour CS/1103P, sa biomasse foliaire n'étant pas impactée par les traitements azotés. De plus, la quantité de N est plus importante dans les feuilles des plantes greffées chez 1103P en comparaison des plantes greffées sur RGM, pour tous les traitements azotés.

La mesure de la quantité de carbone dans les plantes permet d'évaluer la quantité de C fixé par photosynthèse qui n'a pas été consommé par la respiration (ΔC) entre t0 et t30. Malgré la forte variabilité que l'on peut observer au sein d'un même échantillon statistique, le génotype

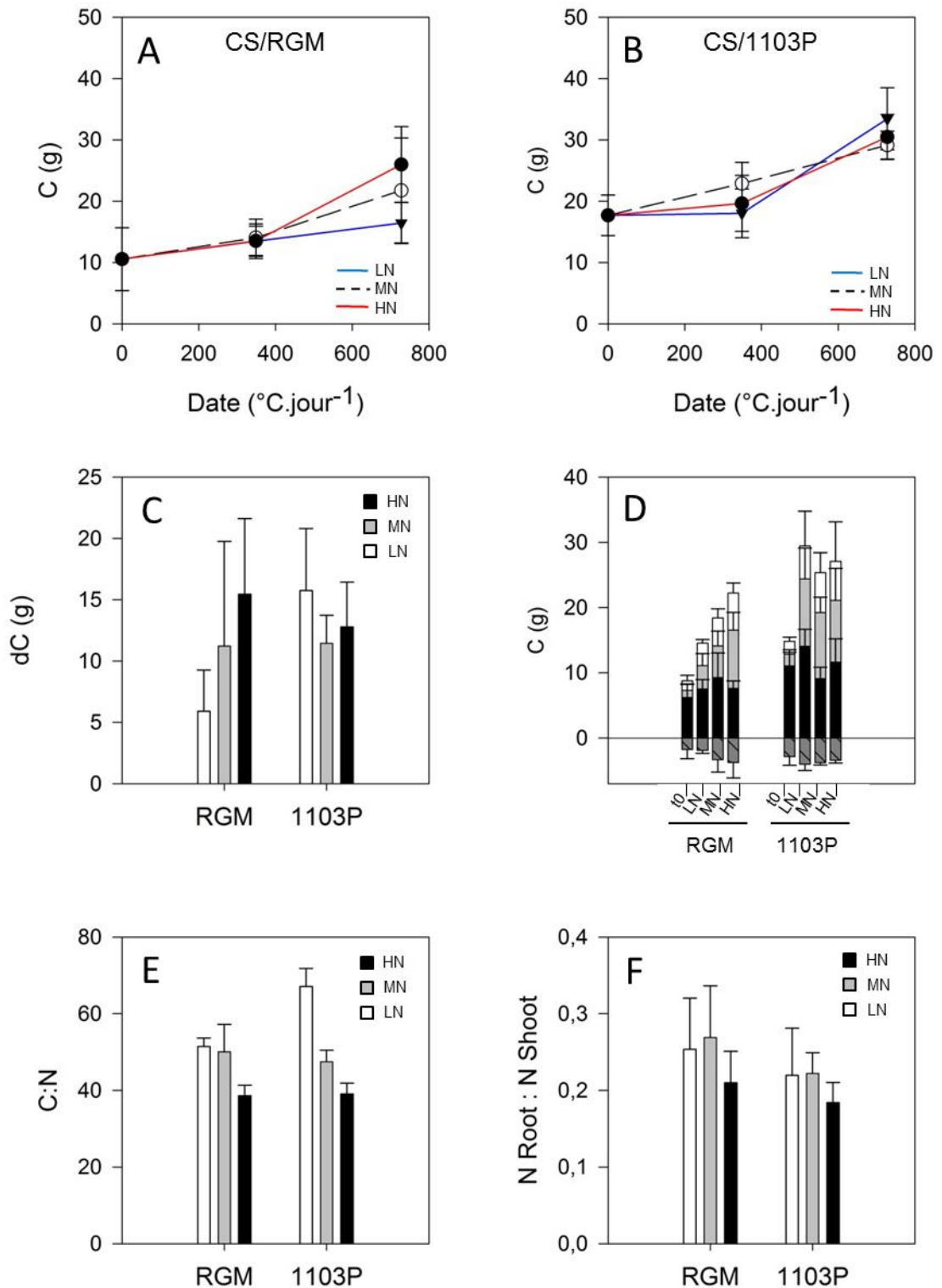


Figure 1.5 : **A et B** Quantité de carbone (g) par plante en fonction du temps ($^{\circ}\text{C}\cdot\text{jour}^{-1}$) et des traitements azotés (LN, MN et HN), $n=5$; **C** Accumulation de Carbone (g) entre t_0 et t_{30} en fonction du porte-greffe (RGM et 1103P) et du traitement azoté (LN, MN et HN), $n=5$; **D** Répartition du carbone (g) au sein de la plante en fonction des traitements azotés (LN, MN et HN) et du génotype du porte-greffe (RGM et 1103P) à t_0 et t_{30} , \square =feuilles, \square =tiges, \blacksquare =tronc, \square =racines, $n=5$; **E** Ratio Carbone total dans la plante (g) : N total dans la plante (g) en fonction du génotype du porte greffe (RGM et 1103P) et des traitements azotés (LN, MN et HN), $n=5$; **F** Ratio N total dans le compartiment racinaire (g) : N total dans le compartiment aérien (feuilles + tiges) (g) en fonction du génotype du porte greffe (RGM et 1103P) et des traitements azotés (LN, MN et HN), $n=5$

du porte-greffe modifie la valeur de ΔC en réponse à la concentration externe en nitrate : ΔC reste constant chez CS/1103P alors qu'il est fortement diminué chez CS/RGM (figure 1.5C). La quantité moyenne de C passe de 9 g à 16 (LN), 22 (MN) et 26 g (HN) chez CS/RGM et de 18 g à 29 (LN), 31 (MN) et 33 g (HN) chez CS/1103P. (figure 1.5A, 1.5B). A t30, la quantité et la répartition du carbone entre les différents compartiments n'est pas modifiée en réponse aux traitements azotés chez CS/1103P alors qu'à l'exception des troncs, la quantité de C diminue proportionnellement à la diminution de la disponibilité azotée dans tous les compartiments de CS/RGM (figure 1.5D).

Le calcul du rapport C/N montre que ce ratio augmente plus fortement chez CS/1103P lorsque la concentration en nitrate externe diminue, passant de 40 (HN) à 70 (LN) alors qu'il varie plus faiblement chez CS/RGM, variant de 40 (HN) à 50 (LN) (figure 1.5E). Ces différences révèlent que les plantes greffées sur 1103P sont moins impactées en termes de prise de biomasse que les plantes greffées sur RGM. Le calcul de la NUE des deux combinaisons à t30 en réponse aux traitements azotés, confirme ce résultat et montre que CS/1103P et CS/RGM ont une NUE équivalente à HN (de l'ordre de 90) mais qu'en réponse à la diminution de la disponibilité azotée, CS/1103P augmente de 60% sa NUE alors que CS/RGM ne l'augmente que de 20% (tableau 1.3). Le calcul de la NUpE montre que les deux combinaisons ont une efficacité d'absorption équivalente à HN mais qu'à biomasse sèche équivalente, CS/RGM absorbe plus de N que CS/1103P pour les traitements MN et LN et donc que cette combinaison est plus efficace pour absorber de l'azote (tableau 1.3). La proportion d'azote envoyé vers les tiges feuillées est d'autant plus forte que la disponibilité azotée est élevée (tableau 1.3) et le ratio $N_{\text{root}} / N_{\text{shoot}}$ est statistiquement plus faible pour les plantes greffées sur 1103P que sur RGM (figure 1.5F) soulignant que l'allocation de N entre les compartiments aérien et racinaire est modifiée par le génotype du porte-greffe, indépendamment des traitements azotés. Le calcul des différents indicateurs d'allocation de N au sein de la plante montre que le génotype du porte-greffe impacte l'allocation de N vers les feuilles, tiges et racines mais n'a pas d'effet sur l'allocation de N vers le tronc. LNR et RNR sont plus importants chez CS/RGM alors que SNR est plus fort chez CS/1103P, sans aucun effet des traitements azotés sur ces variables (tableau 1.4). Pour le traitement HN, TNR est plus fort chez CS/1103P (0,135) que chez CS/RGM (0,088) et, en réponse à la diminution de la concentration en azote dans la solution nutritive, TNR augmente pour les deux combinaisons, passant de 0,088 (HN) à 0,148 g.g^{-1} (LN) en moyenne chez CS/RGM et de 0,135 (HN) à 0,190 (LN). La teneur en moyenne en N (PNC en mg de N par g de MS) est

Tableau 1.3 : Influence du génotype du porte-greffe (RGM et 1103P) et des traitements azotés (LN, MN et HN) sur le pourcentage de N exogène envoyé vers les parties aériennes (feuilles + tiges), l'efficacité d'utilisation et d'absorption de l'azote, moyenne \pm sd , t30, n=5

		Shoot transfert	NUE	NUpE
LN	RGM	71.7 \pm 5.4	115.0 \pm 7.6	217.4 \pm 30.3
	1103P	68.8 \pm 4.2	150.5 \pm 8.9	120.4 \pm 15.0
MN	RGM	72.1 \pm 6.6	112.0 \pm 14.6	244.0 \pm 51.0
	1103P	76.8 \pm 1.5	109.3 \pm 7.4	265.2 \pm 25.7
HN	RGM	77.1 \pm 3.5	89.2 \pm 8.1	371.4 \pm 32.6
	1103P	79.4 \pm 3.1	90.0 \pm 5.5	362.7 \pm 40.9

Tableau 1.4 : Influence du génotype du porte-greffe (RGM et 1103P) et des traitements azotés (LN, MN et HN) sur la quantité relative de N dans chacun des compartiments (feuilles (LNR), tiges (SNR), racines (RNR) et tronc (TNR)) et sur la concentration en azote dans la plante (mg.g^{-1} de biomasse sèche), t30, moyenne \pm sd, n=5

	RGM			1103P			ANOVA		
	LN	MN	HN	LN	MN	HN	PG	T	I
LNR	0.52 \pm 0.04	0.53 \pm 0.05	0.56 \pm 0.02	0.46 \pm 0.05	0.52 \pm 0.01	0.53 \pm 0.06	*	ns	ns
SNR	0.16 \pm 0.08	0.15 \pm 0.02	0.20 \pm 0.03	0.20 \pm 0.03	0.20 \pm 0.01	0.20 \pm 0.03	*	ns	ns
RNR	0.17 \pm 0.04	0.18 \pm 0.03	0.16 \pm 0.03	0.14 \pm 0.03	0.16 \pm 0.02	0.13 \pm 0.02	*	ns	ns
TNR	0.15 \pm 0.03	0.14 \pm 0.04	0.09 \pm 0.02	0.19 \pm 0.03	0.12 \pm 0.02	0.14 \pm 0.05	ns	**	*
PNC	8.73 \pm 0.59	9.04 \pm 1.12	11.28 \pm 1.02	6.66 \pm 0.37	9.18 \pm 0.58	11.14 \pm 0.72	*	***	**

réduite en réponse à la diminution des apports azotés, demeure équivalente chez les deux combinaisons pour les traitements HN et MN mais est supérieure chez CS/RGM pour le traitement LN (tableau 1.4).

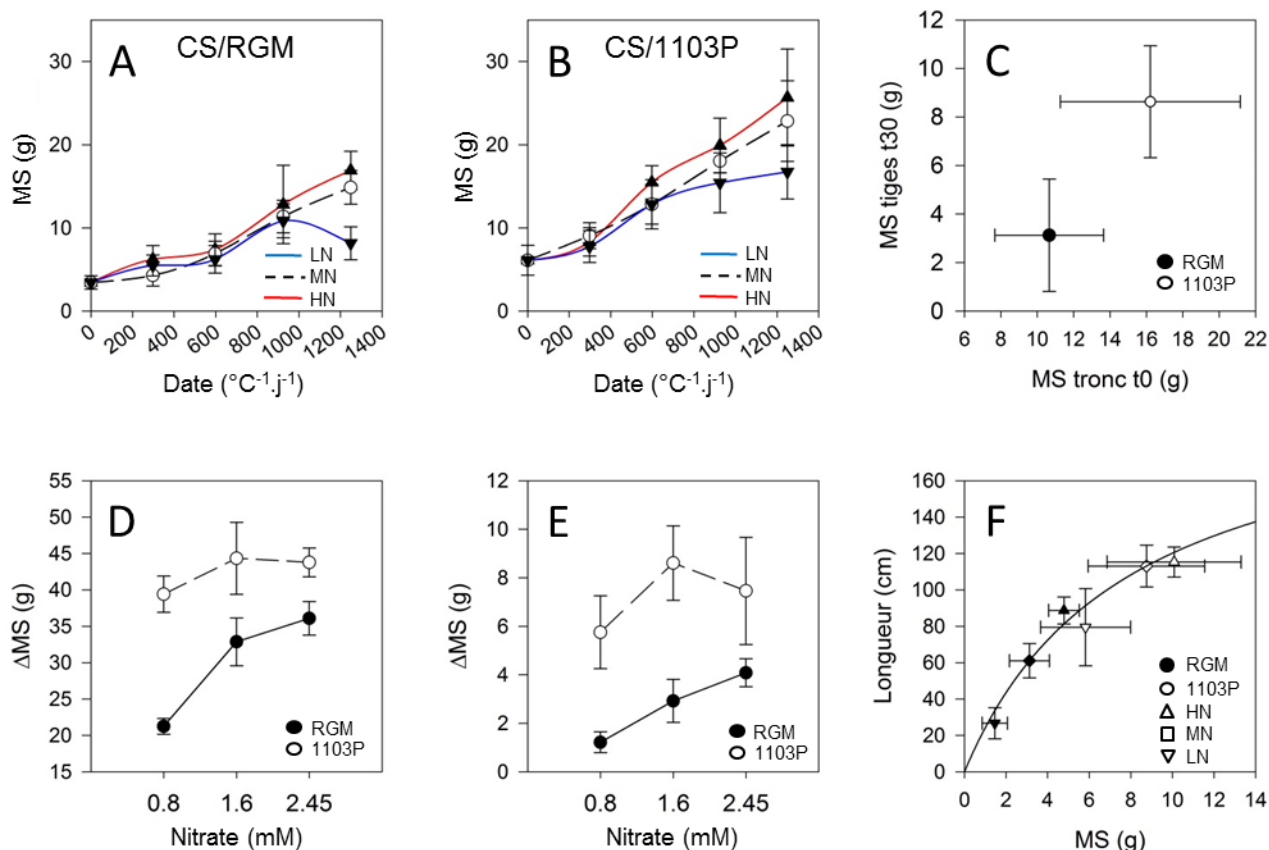


Figure 1.6 : **A** et **B** Biomasse sèche totale des plantes (g) en fonction du temps ($^{\circ}\text{C}\cdot\text{jour}^{-1}$) et de la concentration externe en nitrate LN (0,8mM), MN (1,6mM), HN (2,45mM), $n=5$; **C** Biomasse sèche des tiges à t60 (g), tous traitements confondus, en fonction de la biomasse des troncs à t0 (g), $n=5$; **D** Prise de biomasse de la plante et **E** des tiges entre t0 et t60 (g) en fonction de la concentration en nitrate dans la solution nutritive (mM), $n=5$; **F** Allométrie entre la biomasse des tiges (g) et leur longueur (cm) t60, $n=5$, $r^2=0,99$

Tableau 1.5 : Influence du génotype du porte-greffe (RGM ou 1103P) et de la concentration externe en nitrate LN (0,8mM), MN (1,6mM) et HN (2,45mM) sur la biomasse de la plante (sans le tronc, g), des compartiments racine, tronc, tige, feuille (g), sur le ratio biomasse racinaire:biomasse aérienne (sans le tronc), sur le nombre de feuilles et sur la longueur totale des tiges (cm) à t0 et t30, moyenne \pm sd, $n=5$

	RGM			1103P			Statistiques
	LN	MN	HN	LN	MN	HN	
à t0							
Biomasse plante (ss tronc)		6.79 \pm 1.90			11.23 \pm 3.00		*
Feuille (g)		4.80 \pm 1.47			6.86 \pm 1.56		ns
Tige (g)		0.46 \pm 0.16			1.09 \pm 0.37		**
Tronc (g)		10.66 \pm 2.99			14.28 \pm 8.30		ns
Racine (g)		1.53 \pm 0.44			3.29 \pm 1.16		*
R.S (g/g)		0.30 \pm 0.08			0.41 \pm 0.07		ns
Nombre de feuilles		9 \pm 1			9 \pm 1		ns
Longueur des tiges (cm)		24.4 \pm 6.5			36.2 \pm 14.6		ns
à t60							
Biomasse plante (ss tronc)	12.62 \pm 3.13	22.45 \pm 3.19	23.24 \pm 11.75	26.81 \pm 5.88	37.02 \pm 9.94	40.35 \pm 6.96	*** ** ns
Feuilles	7.27 \pm 1.57	12.52 \pm 2.04	15.02 \pm 7.70	14.45 \pm 2.96	20.19 \pm 6.49	21.26 \pm 1.28	*** ** ns
Tiges	1.46 \pm 0.61	3.13 \pm 0.96	3.83 \pm 1.68	5.83 \pm 2.17	8.75 \pm 2.80	10.09 \pm 3.22	*** ** ns
Tronc	15.42 \pm 3.32	15.63 \pm 2.23	11.58 \pm 6.21	18.27 \pm 2.39	18.88 \pm 3.24	20.64 \pm 1.57	*** ns ns
Racines	3.89 \pm 1.02	6.80 \pm 2.06	4.77 \pm 2.08	6.54 \pm 1.08	8.08 \pm 2.16	9.01 \pm 2.96	** * ns
R.S (g/g)	0.45 \pm 0.04	0.45 \pm 0.20	0.24 \pm 0.06	0.33 \pm 0.05	0.29 \pm 0.07	0.28 \pm 0.06	* ** *
Nombre de feuilles	12 \pm 3	28 \pm 4	27 \pm 13	23 \pm 5	35 \pm 5	37 \pm 4	*** ** ns
Longueur des tiges (cm)	26.7 \pm 8.6	61.1 \pm 9.4	70.9 \pm 34.7	79.5 \pm 21.2	113.1 \pm 11.5	115.3 \pm 8.2	*** ** *

EXPERIMENTATION 2 :

ANALYSE DE CROISSANCE

En conditions HN, la biomasse sèche (sans le tronc) des deux combinaisons augmente au cours des 60 jours de l'expérimentation, passant de 6,79 à 23,24 g pour CS/RGM et de 11,23 à 40,35 g pour CS/1103P (figure 1.6A et 1.6B). La réduction de la concentration en azote (MN et LN) provoque une diminution de la biomasse totale des deux combinaisons. Pour les deux combinaisons, la biomasse sèche des troncs n'évolue pas au cours du temps et n'est pas modifiée par les traitements.

Au début de l'expérimentation (t_0), la biomasse des tiges et racines des plantes greffées sur 1103P est significativement plus importante que pour celle greffées sur RGM alors que la biomasse des feuilles et du tronc, le nombre de feuilles et la longueur de tiges sont équivalents. A t_{60} , la biomasse de tous les compartiments des plantes greffées sur 1103P est plus importante que les plantes greffées sur RGM (tableau 1.5). En réponse à une diminution des apports azotés, la biomasse de tous les compartiments et en particulier des tiges est plus fortement diminuée chez CS/RGM que chez CS/1103P (Figure 1.6D et 1.6E). La longueur des tiges est modulée de manière identique, en raison de l'allométrie qui existe entre biomasse et longueur des tiges (figure 1.6F). Il apparait aussi que l'effet du génotype sur la biomasse des tiges à t_{60} est lié à la biomasse du tronc à t_0 (figure 1.6C). Le nombre de feuilles et la surface foliaire sont plus importants chez CS/1103P que chez CS/RGM pour tous les traitements azotés et sont réduits par la diminution de la concentration en nitrate externe (tableau 1.5). Le root:shoot ratio des plants greffés sur RGM est augmenté par la diminution de la disponibilité en azote alors que ce ratio n'est pas modifié pour CS/1103P (tableau 1.5).

La fraction de biomasse allouée aux feuilles (LWR) est identique dans les deux combinaisons et n'est pas réduit en réponse à une diminution de la nutrition en azote. La fraction de biomasse allouée au compartiment tige (SWR) est supérieure CS/1103P et en réponse à la diminution de la concentration en nitrate, SWR diminue chez CS/RGM alors qu'il reste constant chez CS/1103P (tableau 1.6). En HN, la fraction de biomasse allouée au compartiment racinaire (RWR) est identique pour les deux combinaisons et le RWR augmente en réponse à la diminution de la disponibilité azotée (tableau 1.6). SLR est plus important chez CS/RGM que chez CS/1103P et n'est pas impacté par la concentration externe en nitrate (tableau 1.6). SSL est plus fort chez CS/RGM que CS/1103P et n'est pas

Tableau 1.6 : Influence du génotype du porte-greffe (RGM ou 1103P) et de la concentration externe en nitrate LN (0,8mM), MN (1,6mM) et HN (2,45mM) sur la vitesse de croissance entre t0 et t30 (RGR), les ratios de biomasse (foliaire LWR, des tiges SWR et racinaire RWR), la surface foliaire spécifique SLA, la longueur de tige (SSL) et racinaire spécifique (SRL) et la surface foliaire LAR, la longueur racinaire (SLR) et la longueur racinaire (RLR) par unité de biomasse de la plante, moyenne \pm sd, t30, n=5

à t60	RGM			1103P			ANOVA		
	LN	MN	HN	LN	MN	HN	PG	T	I
RGR	0.010 \pm 0.005	0.020 \pm 0.002	0.024 \pm 0.002	0.014 \pm 0.004	0.019 \pm 0.005	0.021 \pm 0.003	ns	**	ns
LWR	0.58 \pm 0.03	0.56 \pm 0.06	0.64 \pm 0.04	0.54 \pm 0.01	0.55 \pm 0.06	0.54 \pm 0.07	***	ns	ns
SWR	0.11 \pm 0.02	0.14 \pm 0.03	0.17 \pm 0.01	0.21 \pm 0.03	0.23 \pm 0.03	0.25 \pm 0.04	***	*	ns
RWR	0.31 \pm 0.02	0.30 \pm 0.09	0.19 \pm 0.04	0.25 \pm 0.03	0.22 \pm 0.04	0.22 \pm 0.04	ns	ns	ns
SSL	19.55 \pm 4.49	20.48 \pm 4.53	18.75 \pm 2.13	14.09 \pm 1.65	14.31 \pm 5.74	12.31 \pm 3.55	***	ns	ns
SLR	2.09 \pm 0.24	2.76 \pm 0.56	3.11 \pm 0.39	2.95 \pm 0.19	3.21 \pm 0.81	2.92 \pm 0.51	***	***	**

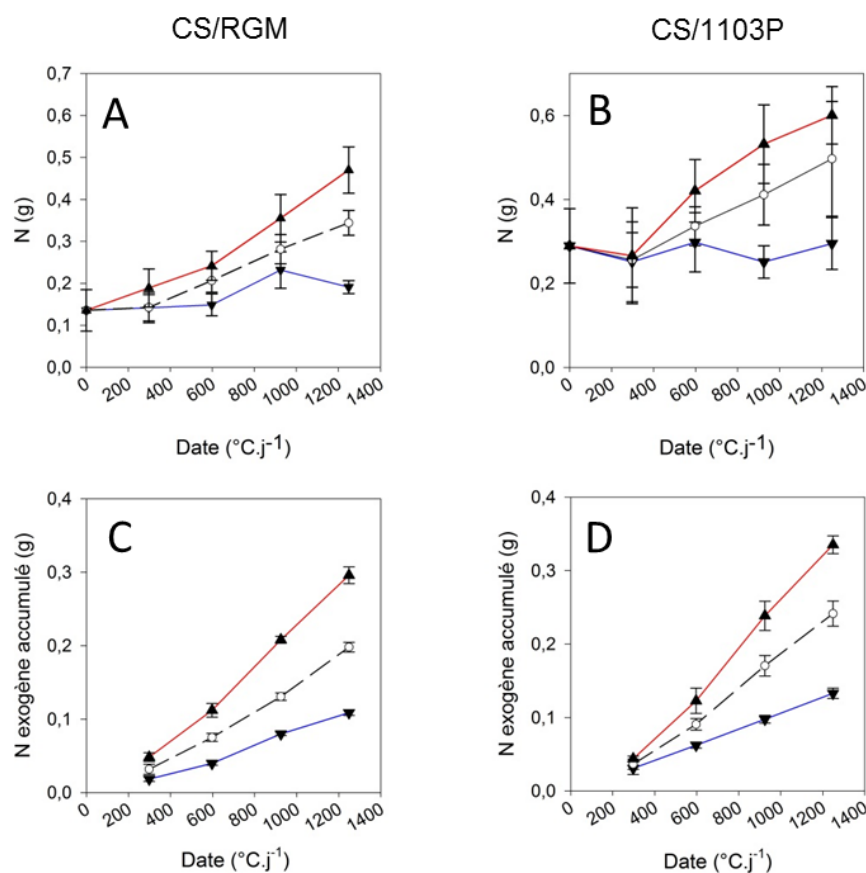


Figure 1.7 : **A** et **B** quantité d'azote par plante en fonction du temps (°C.jour⁻¹) et des traitements azotés (LN, MN et HN), n=5 ; **C** (RGM) et **D** (1103P) quantité d'azote exogène accumulé en fonction du temps (°C.jour⁻¹) et des traitements azotés (LN, MN et HN), n=5

Tableau 1.7 : Influence du génotype du porte-greffe (RGM et 1103P) et des traitements azotés (LN, MN et HN) sur le pourcentage de N exogène envoyé vers les parties aériennes (feuilles + tiges), l'efficacité d'utilisation NUE (g/mg) et d'absorption NUPE (mg/g) de l'azote, moyenne \pm sd, t60, n=5

		Shoot transfert	NUE	NUPE
LN	RGM	54.4 \pm 6.3	147.5 \pm 13.58	1.98 \pm 0.59
	1103P	65.6 \pm 4.3	153.9 \pm 8.777	0.92 \pm 0.50
MN	RGM	63.6 \pm 4.9	110.6 \pm 8.068	5.45 \pm 0.60
	1103P	71.4 \pm 5.5	113.5 \pm 10.10	3.45 \pm 1.50
HN	RGM	71.3 \pm 6.6	92.4 \pm 9.8	7.76 \pm 1.29
	1103P	75.3 \pm 4.2	101.4 \pm 3.729	5.06 \pm 0.46

statistiquement impacté par la modification de l'alimentation en nitrate (tableau 1.6). Le RGR n'est pas modifié en réponse à la nutrition en nitrate et la vitesse de croissance moyenne de RGM est équivalente à celle de 1103P (tableau 1.6).

ANALYSE ELEMENTAIRE ET ISOTOPIQUE

La quantité moyenne de N augmente au cours de l'expérimentation dans les deux combinaisons porte-greffe / greffon : elle passe de 0,15 g à t0 à 0,16 (LN), 0,35 (MN) et 0,45 g (HN) pour CS/RGM, et de 0,3 g à 0,5 g (MN) et 0,6 g (HN) et reste stable en LN pour CS/1103P (figure 1.7A, 1.7B). L'augmentation de N dans la plante est provoquée par l'absorption de nitrate, qui a été quantifiée grâce à l'utilisation de ^{15}N nitrate dans la solution nutritive. La quantité de N absorbé est d'autant plus forte que la concentration en N dans la solution nutritive est importante (figure 1.7 C et D). A la fin de l'expérimentation (t60), CS/RGM a absorbé en moyenne 300 (HN), 200 (MN) et 110 mg (LN) alors que CS/1103P a absorbé en moyenne 330 (HN), 240 (MN) et 130 mg (LN) d'azote. Statistiquement, CS/1103P a absorbé le ^{15}N en plus grande quantité et plus rapidement pour tous les traitements que CS/RGM (figure 1.8ABC).

L'analyse de l'allocation du N marqué révèle que la quantité de N exogène est d'autant plus importante dans les feuilles, que la concentration en nitrate externe est forte et que l'allocation de N exogène vers les racines et les troncs augmente en réponse à la diminution de la disponibilité en azote (figure 1.8D et 1.8G). Les plantes greffées sur 1103P allouent plus de N exogène vers les tiges et moins vers les feuilles en comparaison à CS/RGM (figure 1.8D et 1.8G).

L'analyse des données issues des marquages au nitrate ^{15}N nous permet de déterminer l'origine du N présent dans un organe et a permis de déterminer la part respective de l'azote endogène et de l'azote exogène dans les compartiments néoformés. En conditions de très faible disponibilité azotée (LN), le N remobilisé participe à environ 80% du flux de N vers les organes néoformés pour les deux combinaisons alors que pour les traitements HN et MN, la proportion de N issu de la remobilisation des réserves est plus forte pour les plantes greffées

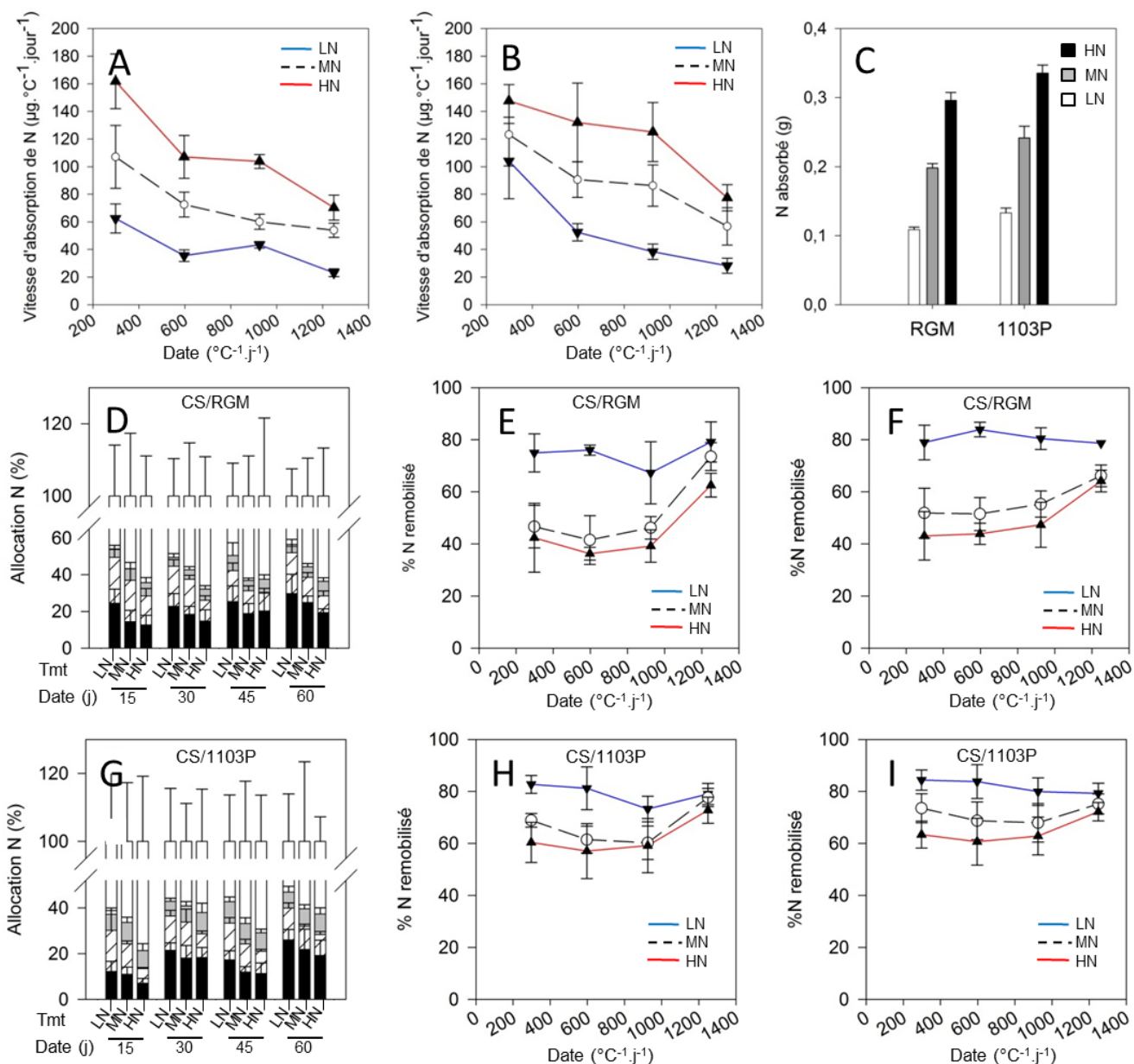


Figure 1.8 : **A** (CS/RGM) et **B** (CS/1103P) Vitesse d'absorption de N ($\mu\text{g}\cdot^{\circ}\text{C}^{-1}\cdot\text{jour}^{-1}$) en fonction du temps ($^{\circ}\text{C}\cdot\text{jour}^{-1}$) et des traitements azotés (LN, MN et HN), $n=5$; **C** Azote absorbé (g) entre t_0 et t_{60} en fonction du porte-greffe (RGM et 1103P) et du traitement azoté (LN, MN et HN), $n=5$; **D** (CS/RGM) et **G** (CS/1103P) Allocation de N absorbé (%) au sein de la plante en fonction des traitements azotés (LN, MN et HN) à t_{15} , t_{30} , t_{45} et t_{60} , □ = feuilles, ■ = tiges, ▨ = tronc, ■ = racines, $n=5$; **E** (CS/RGM) et **H** (CS/1103P) Pourcentage de N du compartiment néo Feuilles issu de la remobilisation du N endogène en fonction du temps ($^{\circ}\text{C}/\text{jour}$) et des traitements azotés (LN, MN et HN), $n=5$; **F** (CS/RGM) et **I** (CS/1103P) Pourcentage de N du compartiment néo Tiges issu de la remobilisation du N endogène, en fonction du temps ($^{\circ}\text{C}/\text{jour}$) et des traitements azotés (LN, MN et HN), $n=5$

Tableau 1.8 : Influence du génotype du porte-greffe (RGM et 1103P) et des traitements azotés (LN, MN et HN) sur la quantité relative de N dans chacun des compartiments (feuilles (LNR), tiges (SNR), racines (RNR) et tronc (TNR)) et sur la concentration en azote dans la plante ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ de biomasse sèche), t_{60} , moyenne \pm sd, $n=5$

	RGM			1103P			ANOVA		
	LN	MN	HN	LN	MN	HN	PG	T	I
LNR	0.52 \pm 0.05	0.63 \pm 0.04	0.73 \pm 0.04	0.63 \pm 0.02	0.69 \pm 0.04	0.72 \pm 0.04	**	***	**
SNR	0.01 \pm 0.00	0.02 \pm 0.01	0.03 \pm 0.00	0.03 \pm 0.01	0.05 \pm 0.01	0.06 \pm 0.02	***	***	ns
RNR	0.18 \pm 0.04	0.16 \pm 0.03	0.11 \pm 0.02	0.15 \pm 0.02	0.12 \pm 0.03	0.11 \pm 0.03	*	***	ns
TNR	0.27 \pm 0.08	0.17 \pm 0.01	0.11 \pm 0.03	0.16 \pm 0.02	0.12 \pm 0.01	0.10 \pm 0.01	***	***	*
PNC	6.83 \pm 0.68	9.08 \pm 0.70	10.93 \pm 1.30	6.52 \pm 0.36	8.87 \pm 0.78	9.87 \pm 0.37	ns	***	ns

sur 1103P, représentant plus de la moitié du flux de N vers les organes néoformés (Figure 1.8E,F, H, I). La proportion de N issu de la remobilisation est stable pendant les 45 premiers jours de l'expérimentation pour MN et HN mais elle augmente pendant les quinze derniers jours pour atteindre à t60 la même proportion que LN dans les feuilles de CS/1103P et dans les tiges des deux combinaisons.

Dans le compartiment foliaire, une diminution de la concentration en nitrate externe a pour effet de faire chuter la quantité et la concentration de N, dans les deux combinaisons porte-greffe / greffon (données non montrées). La chute de la quantité de N foliaire est provoquée par les effets croisés de la réduction de la biomasse foliaire (Tableau 1.5) et de l'absorption de N (figure 1.8C).

La mesure de la quantité de carbone dans les plantes permet d'évaluer la quantité de C fixé par photosynthèse qui n'a pas été consommé par la respiration (ΔC) entre t0 et t60. Le génotype du porte-greffe modifie la valeur de ΔC en réponse à la concentration externe en nitrate : ΔC est plus fort chez CS/1103P et sa valeur est moins impactée par la diminution de la disponibilité azotée que chez CS/RGM (figure 1.10B). La quantité moyenne de C passe de 5 g à 10 (LN), 16 (MN) et 18 g (HN) chez CS/RGM et de 7 g à 19 (LN), 24 (MN) et 26 g (HN) chez CS/1103P (figure 1.9A, 1.9B). La dérivation des courbes d'accumulation du carbone au sein de la plante permet de calculer sa vitesse d'accumulation, révélant une vitesse d'accumulation d'autant plus importante que la disponibilité azotée est forte et que les plantes greffées sur 1103P accumulent plus vite le carbone que les plantes greffées sur RGM (figure 1.9C). A t60, la quantité de C diminue proportionnellement à la diminution de la disponibilité azotée dans tous les compartiments de CS/RGM et CS/1103P, à l'exception du tronc et, pour tous les traitements azotés, la quantité de carbone est plus importante chez CS/1103P que CS/RGM (figure 1.10A).

Le calcul du rapport C/N montre que ce ratio augmente fortement chez CS/1103P lorsque la concentration en nitrate externe diminue, passant de 40 (HN) à 70 (LN) alors qu'il varie plus faiblement chez CS/RGM, variant de 40 (HN) à 50 (LN) (figure 1.10D). Ces différences révèlent que les plantes greffées sur 1103P sont moins impactées en termes de prise de biomasse que les plantes greffées sur RGM. Le calcul de la NUE des deux combinaisons à t60 en réponse aux traitements azotés, confirme ce résultat et montre que CS/1103P a une NUE plus forte que CS/RGM. Le calcul de la NUpE montre que les deux combinaisons ont une efficacité d'absorption équivalente à HN mais qu'à biomasse sèche équivalente, CS/RGM

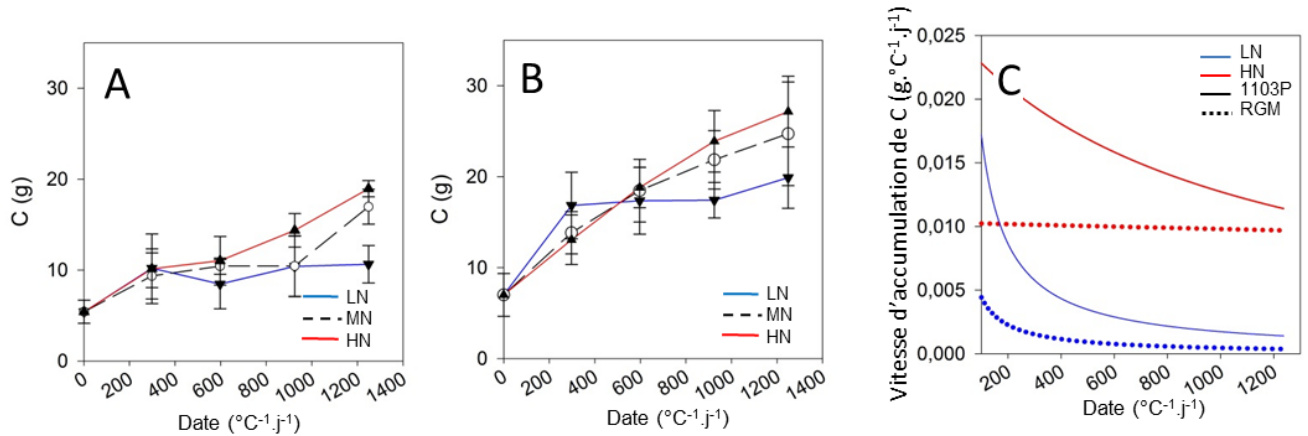


Figure 1.9 : **A** et **B** Quantité de carbone (g) par plante en fonction du temps ($^{\circ}\text{C}\cdot\text{jour}^{-1}$) et des traitements azotés (LN, MN et HN), $n=5$; **C** Vitesse d'accumulation du carbone de CS/RGM et CS/1103P en fonction du temps ($^{\circ}\text{C}\cdot\text{jour}^{-1}$) et du traitement azoté (LN, MN et HN), $n=5$

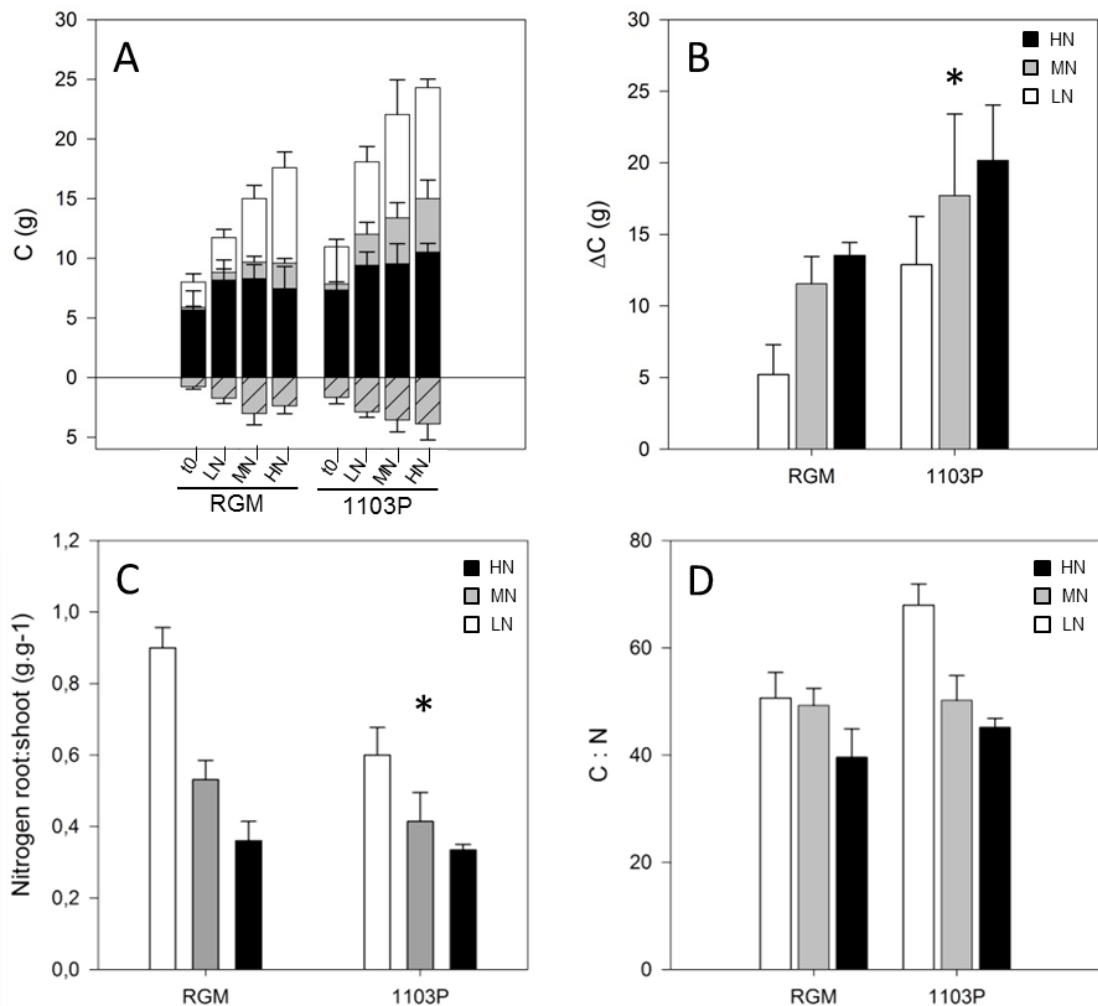


Figure 1.10 : **A** Répartition du carbone (g) au sein de la plante en fonction des traitements azotés (LN, MN et HN) et du génotype du porte-greffe (RGM et 1103P) à t_0 et t_{30} , □ =feuilles, ▒ = tiges, ■ =tronc, ▨ =racines, $n=5$; **B** Accumulation de Carbone (g) entre t_0 et t_{60} en fonction du porte-greffe (RGM et 1103P) et du traitement azoté (LN, MN et HN), $n=5$; **C** Ratio N total dans le compartiment racinaire (g) : N total dans le compartiment aérien (feuilles + tiges) (g) en fonction du génotype du porte greffe (RGM et 1103P) et des traitements azotés (LN, MN et HN), $n=5$; **D** Ratio Carbone total dans la plante (g) : N total dans la plante (g) en fonction du génotype du porte greffe (RGM et 1103P) et des traitements azotés (LN, MN et HN), $n=5$

absorbe plus de N que CS/1103P pour les traitements MN et LN et donc que cette combinaison est plus efficace pour absorber de l'azote. La proportion d'azote envoyé vers les tiges feuillées est d'autant plus forte que la disponibilité azotée est élevée (tableau 1.7) et le ratio $N_{\text{root}} / N_{\text{shoot}}$ est d'une part plus faible et d'autre part, est moins affecté par la diminution de la concentration en nitrate externe pour les plantes greffées sur 1103P que sur RGM (figure 1.10C) soulignant que l'allocation de N entre les compartiments aérien et racinaire est modifiée par le génotype du porte-greffe, indépendamment des traitements azotés. Le calcul des différents indicateurs d'allocation de N au sein de la plante montre que le génotype du porte-greffe impacte l'allocation de N vers les différents compartiments de la plante. LNR, TNR et RNR ont des valeurs comparables en HN pour les deux combinaisons mais sont plus importants chez CS/RGM pour les traitements MN et LN alors que SNR est plus fort chez CS/1103P et sa valeur est réduite en réponse à la diminution de la disponibilité azotée pour les deux combinaisons (tableau 1.8). La teneur moyenne en N (PNC en mg de N par g de MS) est réduite en réponse à la diminution des apports azotés et demeure équivalente chez les deux combinaisons (tableau 1.8).

La méthode de marquage employée permet de mesurer les flux de N au sein des plantes, et ainsi d'identifier les organes puits et sources de N sur la période et réaliser le bilan azoté de la plante (Annexe 2). Afin de simplifier la présentation des résultats, nous avons choisi de ne présenter les résultats que pour les périodes t15-t30 et t45-t60. L'étude des cartes de flux révèle que, sur la période t15-t30 et pour tous les traitements azotés, 1103P induit une forte mobilisation des réserves issues des tiges, tronc et racines pour alimenter principalement les feuilles mais aussi les organes néoformés entre t15 et t30 alors que les plantes greffées sur RGM mobilisent très faiblement leurs réserves. Entre 45 et t60, les deux combinaisons mobilisent fortement leurs réserves, pour alimenter les organes aériens en croissance mais aussi les racines. Comparées à CS/RGM, les plantes greffées sur 1103P mobilisent plus fortement leurs réserves des feuilles et tiges pour les allouer très largement vers les racines et le tronc et de manière plus limitée vers les tiges et feuilles néoformées. On observe le même schéma chez CS/RGM mais, lorsque la limitation azotée est forte (LN), les réserves des racines et du tronc sont aussi mises à contribution pour alimenter les feuilles et les organes néoformés.

DISCUSSION

La méthode du marquage continu utilisée au cours de la première expérimentation est particulièrement bien adaptée pour mesurer avec précision la quantité de N absorbée. Cette méthode a permis de mettre en évidence que le génotype du porte-greffe ne modifie que légèrement l'absorption d'azote sur la gamme de disponibilité azotée de notre étude, invalidant notre hypothèse d'une absorption N plus forte pour les plantes greffées sur 1103P. Ce résultat est surprenant, dans la mesure où l'accumulation de biomasse est connue pour être corrélée avec la quantité de N absorbé (Chardon *et al.*, 2010; Richard-Molard *et al.*, 2008). C'est donc la réponse différentielle des deux porte-greffes à un même signal nitrate entrant qui provoque les différences de phénotype entre les deux combinaisons dans nos deux expérimentations. Pour le traitement HN, les plantes greffées sur les deux génotypes de porte-greffe ne diffèrent pas en termes, d'allocation entre les différents compartiments, de quantité en N et de rapport C:N, de biomasse des différents compartiments à l'issue de l'expérimentation 1 alors que la biomasse de CS/RGM était plus faible que CS/1103P à l'issue de l'expérimentation 2. Les plantes greffées sur RGM présentent même un RGR supérieur aux plantes greffées sur 1103P, soulignant que la diminution de la vigueur de CS par RGM est d'autant plus importante que la disponibilité azotée est faible, en accord avec les travaux de Delas (Delas, 1992). Lorsque la disponibilité en N est réduite, la croissance de CS/1103P est moins affectée que celle des plantes greffées sur RGM, qui réduisent drastiquement leur croissance, en particulier celle des tiges. En réponse à la réduction de la concentration externe en nitrate, la NUE des deux combinaisons modèle augmente, en accord des résultats obtenus chez *Citrus sp.* et *Populus sp.* (Lea-Cox and Syvertsen, 2001; Li *et al.*, 2012). Lorsque la disponibilité en azote est importante (HN), les deux combinaisons porte-greffe / greffon présentent une NUE équivalente, ce n'est que lorsque la disponibilité azotée diminue que 1103P confère une NUE plus forte que RGM. En effet, à flux entrant de N équivalent pour les traitements MN et LN, la biomasse et le RGR ne varient que légèrement chez CS/1103P, alors que le ΔC et le RGR sont très diminués chez CS/RGM. La différence de ΔC révèle que la différence entre photosynthèse et respiration est plus forte chez CS/1103P que CS/RGM. Il est connu que le génotype du porte-greffe influe sur l'activité photosynthétique du greffon en modifiant la conductance stomatique (Carbonneau, 1985; Iacono *et al.*, 1998), et la concentration azotée dans les feuilles qui est positivement corrélée à la concentration foliaire en RUBISCO et à l'activité photosynthétique (Chen and Cheng,

2003; Keller *et al.*, 2001; Zerihun and Treeby, 2002), mais, dans notre étude, la concentration foliaire en azote est

équivalente pour les deux combinaisons. En revanche, il est connu que les porte-greffe modifient la concentration en ABA dans la plante (Padgett-Johnson *et al.*, 2000; Soar *et al.*, 2006) et que l'augmentation de cette dernière entraîne chez les végétaux une fermeture stomatique mais aussi une diminution de la croissance des parties aériennes (Emery *et al.*, 1998; Soar *et al.*, 2006; Tardieu *et al.*, 2010; Watts *et al.*, 1981). De plus, de nombreux auteurs ont suggéré que la diminution de la concentration externe en nitrate a pour conséquence d'augmenter la synthèse d'ABA (Dodd *et al.*, 2003; Signora *et al.*, 2001; Wilkinson *et al.*, 2007). On peut donc poser l'hypothèse d'une synthèse d'ABA en réponse à la limitation azotée plus forte chez CS/RGM que chez CS/1103P qui expliquerait la plus faible croissance aérienne mais aussi le plus faible ΔC de cette combinaison. De manière identique, une diminution de la disponibilité azotée provoque une baisse de la production racinaire et foliaire de cytokinines, corrélée à une diminution de l'activité photosynthétique et une inhibition de l'expansion foliaire (Sakakibara *et al.*, 2006; Takei *et al.*, 2002).

Malgré une NUE plus fortement altérée par les traitements LN et MN, RGM confère une NUpE plus forte que 1103P, c'est-à-dire qu'à biomasse équivalente, CS/RGM absorbe plus de nitrate. La biomasse racinaire et R:S ne sont pas impactés par les traitements azotés lors de la première expérimentation, en contradiction avec les nombreuses études qui rapportent une augmentation du R:S en réponse à une diminution de la disponibilité azotée (Agren and Ingestad, 1987; Grechi *et al.*, 2007; Scheible *et al.*, 1997b; Zerihun and Treeby, 2002). Ce résultat est probablement provoqué d'une part par la forte biomasse racinaire déjà établie dans le pot à t0 -les plantes étant déjà bien développées au début de l'expérimentation- et par la forte accessibilité aux minéraux en raison de l'utilisation de la fertirrigation, d'autre part. A l'issue de la deuxième expérimentation, réalisée sur des plantes plus jeunes, a permis d'observer chez CS/RGM une augmentation du R:S en réponse à la diminution de la disponibilité azotée, alors que R:S n'est significativement pas modifié chez CS/1103P. Ces résultats soulignent les liens entre la NUE et la communication entre les compartiments racinaire et aérien et que, à flux de nitrate entrant égal, la nature ou l'intensité du signal nitrate est modifié par le génotype du porte-greffe. La différence de signalétique entre les deux génotypes a pour effet la mise en place de phénotypes contrastés, en particulier au niveau de la croissance des tiges. Les signaux pouvant être à l'origine de ce différentiel de réponse peuvent être de plusieurs nature : métabolites azotés tels que le nitrate (Scheible *et al.*, 1997b) et les acides aminés (Tillard *et al.*, 1998), les métabolites carbonés (Marschner *et al.*, 1996) mais aussi les hormones. Parmi les différentes hormones, l'ABA (pour les raisons décrites

précédemment) est un bon signal candidat mais son effet sur la croissance des tiges est secondaire en regard de l'effet des cytokinines qui est connu pour son rôle prépondérant chez les végétaux dans l'induction de l'activité des apex aériens (Emery *et al.*, 1998; Li *et al.*, 1992; Werner *et al.*, 2001). De plus, il a été montré que l'application d'auxine augmentait la croissance des tiges de la lignée mutante naine Ikb de *Pisum sativum L* et, que cet effet était renforcé par la combinaison du traitement à auxine avec des gibbérellines (Yang *et al.*, 1996). Les gibbérellines ont par ailleurs été décrites comme inducteurs de la croissance des parties aériennes chez *Nicotiana Tabacum* (Fukazawa *et al.*, 2000). Au regard de ces résultats, il sera intéressant d'étudier l'influence du génotype du porte-greffe sur la composition hormonale de vignes, en réponse à la nutrition azotée et de déterminer si les éventuelles modifications du contenu hormonal peut être relié à des différences de croissance des tiges.

Au début des expérimentations, les plantes greffées sur 1103P présentaient des teneurs plus fortes en azote. Il est connu au vignoble que plus la teneur en azote de la plante est élevée au début du printemps, plus cette teneur diminue rapidement au début du cycle de croissance végétative, « diluée » par une croissance plus importante (Champagnol, 1984). Le marquage séquentiel utilisé dans l'expérimentation 2 a mis en avant la forte allocation de N vers les tiges et feuilles en croissance. La plus forte croissance des tiges est soutenue chez CS/1103P grâce à une allocation plus forte du N absorbé vers les tiges mais aussi à une plus forte mobilisation des réserves azotées en faveur des tiges et des feuilles néoformées. L'allocation de N vers les tiges est corrélée à l'allocation de carbone et par conséquent à la biomasse et donc à la taille des tiges. La mobilisation des réserves chez CS/1103P permet à la plante de découpler l'absorption d'azote de la croissance et ainsi, à flux azoté égal, d'augmenter sa croissance, en comparaison à RGM. L'importance des réserves azotées et carbonées dans la croissance végétative, en particulier en début de cycle, est bien connue (Conradie, 1992; Zapata *et al.*, 2004) mais, à notre connaissance, aucune étude de la mobilisation de réserves azotées en fonction du génotype du porte-greffe n'a encore été menée. Il apparaît essentiel d'étudier l'impact du génotype du porte-greffe sur la quantité et la qualité des réserves de N (acides aminés, protéines) et de C (amidon) et de mettre à jour leur implication éventuelle dans la vigueur conférée.

Tableau 2.1 : Concentration des différents métabolites dans les racines, le tronc, les tiges et les feuilles des plantes récoltées à t0, t15 et t60, en fonction du génotype du porte-greffe et des traitements azotés (LN et HN), moyenne \pm sd, n=5, ANOVA ($p > 0,05 = ns$, $p < 0,05 = *$, $p < 0,01 = **$, $p < 0,001 = ***$)

Métabolite	T ₀			T ₁₅			T ₆₀			ANOVA PG Tmt Int.			
	Porte-greffe Traitement			RGM			RGM				ANOVA PG Tmt Int.		
	RGM	I103P	t.test PG	LN	HN	I103P	LN	HN	I103P			LN	HN
Protéines (P)													
Feuilles (F)	6.4 \pm 2.0 a	7.8 \pm 1.0 a	ns	9.7 \pm 1.5 b	10.9 \pm 1.8 b	18.7 \pm 2.3 b	13.8 \pm 2.2 ab	*** ns *	5.0 \pm 2.1 b	8.2 \pm 2.6 ab	13.1 \pm 2.9 a	6.9 \pm 2.9 b	* ns **
Tiges (Tg)	0.4 \pm 0.3 b	1.8 \pm 0.8 a	**	4.7 \pm 1.2 a	2.3 \pm 0.4 b	2.3 \pm 0.6 b	1.4 \pm 0.5 b	*** *** ns	4.8 \pm 2.3 a	7.9 \pm 2.0 a	1.8 \pm 0.6 a	5.9 \pm 1.2 a	ns *
Tronc (Tc)	2.5 \pm 0.5 a	2.8 \pm 0.9 a	ns	6.6 \pm 1.3 a	6.5 \pm 0.9 a	5.1 \pm 1.2 a	4.9 \pm 0.6 a	* ns ns	5.3 \pm 1.6 a	5.2 \pm 1.1 a	5.7 \pm 0.8 a	6.1 \pm 1.9 a	ns ns ns
Racines (R)	2.0 \pm 0.2 a	3.5 \pm 1.5 a	ns	4.9 \pm 1.5 ab	7.5 \pm 2.0 a	3.4 \pm 0.9 b	4.2 \pm 0.8 b	** *	11.6 \pm 2.4 a	10.6 \pm 1.7 a	10.9 \pm 1.4 a	10.3 \pm 0.9 a	ns ns ns
Acides aminés totaux (AA) <i>$\mu\text{mol/g MF}$</i>													
Feuilles (F)	7.1 \pm 1.1 b	23.0 \pm 1.8 a	***	7.4 \pm 0.8 b	9.2 \pm 2.3 ab	11.3 \pm 2.8 ab	8.9 \pm 1.7 ab	* ns *	5.4 \pm 2.2 a	5.6 \pm 2.7 a	3.0 \pm 1.1 a	3.9 \pm 0.5 a	* ns ns
Tiges (Tg)	17.8 \pm 3.5 a	16.0 \pm 1.9 a	ns	11.3 \pm 3.6 a	11.7 \pm 1.9 a	7.9 \pm 0.7 a	8.0 \pm 1.5 a	* ns ns	17.0 \pm 3.0 a	15.4 \pm 3.3 ab	3.8 \pm 1.8 ab	10.0 \pm 3.2 b	*** ns *
Tronc (Tc)	18.5 \pm 1.4 a	14.6 \pm 2.7 a	ns	8.5 \pm 0.2 a	10.0 \pm 0.5 a	8.8 \pm 1.7 a	7.6 \pm 1.3 a	ns ns ns	4.4 \pm 1.9 a	4.5 \pm 2.2 a	2.3 \pm 1.3 a	5.3 \pm 1.8 a	ns ns ns
Racines (R)	16.5 \pm 3.8 a	13.5 \pm 2.5 a	ns	7.1 \pm 2.2 b	11.7 \pm 2.6 a	10.5 \pm 0.7 ab	9.4 \pm 2.0 ab	ns *	2.9 \pm 1.9 b	5.4 \pm 3.3 ab	7.0 \pm 1.7 ab	10.3 \pm 0.1 a	* ns ns
Nitrate (NO₃-) <i>$\mu\text{mol/g MF}$</i>													
Feuilles (F)	0.4 \pm 0.1 a	0.6 \pm 0.0 a	ns	0.9 \pm 0.6 a	0.4 \pm 0.1 a	0.6 \pm 0.2 a	0.5 \pm 0.1 a	ns ns ns	1.2 \pm 0.1 b	0.7 \pm 0.2 b	1.0 \pm 0.3 b	4.1 \pm 0.7 a	** **
Tiges (Tg)	1.7 \pm 0.3 a	2.5 \pm 0.3 b	*	0.7 \pm 0.1 b	1.0 \pm 0.4 ab	1.7 \pm 0.9 a	1.1 \pm 0.3 ab	* ns ns	1.1 \pm 0.7 b	1.1 \pm 0.7 b	1.5 \pm 0.4 b	3.4 \pm 0.9 a	** **
Tronc (Tc)	0.6 \pm 0.1 a	0.5 \pm 0.1 a	ns	0.5 \pm 0.1 a	0.6 \pm 0.1 a	0.5 \pm 0.0 a	0.4 \pm 0.1 a	* ns ns	0.9 \pm 0.1 a	0.9 \pm 0.1 a	0.9 \pm 0.2 a	0.8 \pm 0.2 a	ns ns ns
Racines (R)	0.8 \pm 0.4 a	2.5 \pm 0.6 b	***	0.5 \pm 0.1 a	0.6 \pm 0.1 a	0.6 \pm 0.1 a	0.4 \pm 0.1 a	ns ns **	1.1 \pm 0.4 a	1.4 \pm 1.4 a	1.2 \pm 0.4 a	0.8 \pm 0.0 a	ns ns ns
Phosphate inorganique (Pi) <i>$\mu\text{mol/g MF}$</i>													
Feuilles (F)	2.5 \pm 0.7 a	7.4 \pm 2.2 b	**	1.2 \pm 0.2 a	1.2 \pm 0.2 a	1.7 \pm 0.3 a	1.5 \pm 0.2 a	ns ns ns	29.3 \pm 7.5 a	21.6 \pm 6.0 ab	33.9 \pm 9.3 a	14.8 \pm 5.5 b	ns *** *
Tiges (Tg)	0.4 \pm 0.2 a	3.7 \pm 0.8 a	ns	1.3 \pm 0.6 a	1.3 \pm 0.8 a	0.7 \pm 0.3 a	0.4 \pm 0.2 a	ns ns ns	12.8 \pm 2.9 a	14.0 \pm 2.9 a	12.5 \pm 2.5 a	10.6 \pm 2.1 a	ns ns ns
Tronc (Tc)	11.8 \pm 2.5 a	9.6 \pm 3.9 a	ns	12.1 \pm 3.4 a	9.6 \pm 3.1 a	9.3 \pm 4.2 a	5.7 \pm 2.1 a	ns ns ns	5.8 \pm 2.7 ab	7.6 \pm 2.1 a	0.9 \pm 0.2 c	3.2 \pm 0.4 bc	*** ** ns
Racines (R)	7.7 \pm 2.1 a	9.2 \pm 3.2 a	ns	6.5 \pm 3.0 ab	7.8 \pm 2.1 a	3.9 \pm 1.3 b	4.3 \pm 1.4 ab	* ns ns	19.4 \pm 4.8 a	12.9 \pm 5.9 ab	7.8 \pm 1.6 bc	3.9 \pm 0.7 c	*** ** ns
Acide malique (AM) <i>mmol/g MF</i>													
Feuilles (F)	86.6 \pm 10.6 a	101.3 \pm 22.9 b	ns	10.7 \pm 9.4 b	21.5 \pm 5.9 a	11.0 \pm 3.6 ab	14.2 \pm 1.5 ab	ns *	35.4 \pm 6.9 a	29.7 \pm 2.5 a	28.6 \pm 6.2 a	28.1 \pm 9.4 a	ns ns ns
Tiges (Tg)	49.1 \pm 11.0 a	47.5 \pm 10.7 a	ns	15.9 \pm 3.3 a	19.0 \pm 3.6 a	19.2 \pm 5.5 a	21.0 \pm 3.6 a	ns ns ns	11.5 \pm 2.4 a	14.0 \pm 3.0 ab	11.5 \pm 2.4 b	11.2 \pm 2.2 b	** ns ns
Tronc (Tc)	137.3 \pm 24.1 a	100.1 \pm 24.6 a	*	31.5 \pm 22.8 a	41.1 \pm 5.6 a	36.5 \pm 15.1 a	32.8 \pm 8.0 a	ns ns ns	40.5 \pm 11.5 a	38.4 \pm 5.7 ab	23.0 \pm 9.1 a	19.5 \pm 5.0 b	*** ns ns
Racines (R)	88.4 \pm 21.6 a	97.6 \pm 8.2 a	ns	33.4 \pm 5.6 a	30.2 \pm 3.4 a	26.9 \pm 3.8 a	25.3 \pm 5.9 a	* ns ns	26.5 \pm 5.1 a	21.4 \pm 4.2 ab	24.6 \pm 3.0 ab	15.3 \pm 3.7 b	* *** ns
Acide tartrique (AT) <i>mmol/g MF</i>													
Feuilles (F)	1.3 \pm 0.1 a	1.4 \pm 0.2 a	ns	0.9 \pm 0.4 a	0.7 \pm 0.1 a	1.0 \pm 0.3 a	0.8 \pm 0.1 a	ns ns ns	1.4 \pm 0.2 a	1.3 \pm 0.2 a	1.1 \pm 0.1 ab	0.8 \pm 0.3 b	** ns ns
Tiges (Tg)	0.9 \pm 0.2 a	0.6 \pm 0.1 b	*	0.6 \pm 0.3 a	0.5 \pm 0.2 a	0.6 \pm 0.1 a	0.4 \pm 0.2 a	ns ns ns	1.0 \pm 0.3 a	1.0 \pm 0.2 a	0.8 \pm 0.2 a	0.9 \pm 0.2 a	ns ns ns
Tronc (Tc)	1.0 \pm 0.2 a	1.1 \pm 0.3 a	ns	0.5 \pm 0.3 a	0.7 \pm 0.2 a	0.6 \pm 0.4 a	0.6 \pm 0.1 a	ns ns ns	0.7 \pm 0.2 a	0.7 \pm 0.3 a	1.0 \pm 0.2 a	0.8 \pm 0.3 a	ns ns ns
Racines (R)	0.9 \pm 0.1 a	1.0 \pm 0.3 a	ns	0.5 \pm 0.2 a	0.5 \pm 0.1 a	0.5 \pm 0.1 a	0.4 \pm 0.3 a	ns ns ns	0.6 \pm 0.1 ab	0.5 \pm 0.1 b	0.6 \pm 0.1 a	0.5 \pm 0.1 ab	ns *
Sucres solubles totaux <i>$\mu\text{mol/g MF}$</i>													
Feuilles (F)	78.4 \pm 16.6 a	57.2 \pm 15.2 a	ns	33.0 \pm 4.4 ab	41.0 \pm 4.1 a	33.1 \pm 2.7 ab	35.5 \pm 5.5 b	* ns ns	28.6 \pm 6.1 a	33.1 \pm 9.8 a	17.5 \pm 4.2 a	23.8 \pm 4.3 a	ns ns ns
Tiges (Tg)	107 \pm 49.4 a	132 \pm 66.2 a	ns	61.8 \pm 30.0 a	54.0 \pm 10.8 a	76.1 \pm 43.3 a	74.8 \pm 11.2 a	ns ns ns	31.5 \pm 4.4 ab	35.6 \pm 6.1 a	24.8 \pm 3.5 b	35.1 \pm 1.2 a	ns ** ns
Tronc (Tc)	11.6 \pm 5.9 a	24.9 \pm 6.5 b	**	23.2 \pm 12.8 a	24.1 \pm 12.9 a	32.7 \pm 18.4 a	37.5 \pm 16.2 a	ns ns ns	8.8 \pm 5.5 b	9.2 \pm 1.7 ab	13.6 \pm 6.5 ab	16.7 \pm 2.7 a	* ns ns
Racines (R)	27.5 \pm 15.2 a	32.3 \pm 17.9 a	ns	29.0 \pm 13.3 a	22.4 \pm 3.0 a	38.3 \pm 2.0 a	36.4 \pm 18.7 a	ns ns ns	13.6 \pm 3.2 a	13.3 \pm 2.9 a	15.2 \pm 1.8 a	13.2 \pm 4.1 a	ns ns ns
Saccharose (Sacch) <i>$\mu\text{mol/g MF}$</i>													
Feuilles (F)	73.5 \pm 16.5 a	52.6 \pm 14.0 a	ns	29.9 \pm 3.1 a	35.7 \pm 1.5 a	30.8 \pm 6.5 a	32.6 \pm 4.2 a	ns *	28.6 \pm 6.1 ab	33.1 \pm 13.5 a	17.5 \pm 4.2 b	23.8 \pm 4.3 ab	* ns ns
Tiges (Tg)	97.6 \pm 13.8 a	122 \pm 5.8 b	*	55.9 \pm 13.9 a	49.7 \pm 10.1 a	67.3 \pm 29.3 a	66.9 \pm 10.0 a	ns ns ns	31.1 \pm 4.2 ab	35.0 \pm 6.0 a	24.5 \pm 3.5 b	34.7 \pm 1.3 a	ns ** ns
Tronc (Tc)	10.6 \pm 5.5 a	23.9 \pm 6.3 b	***	22.4 \pm 2.6 ab	23.6 \pm 8.6 b	30.9 \pm 6.4 ab	36.2 \pm 2.5 a	*** ns ns	8.8 \pm 4.4 b	9.2 \pm 1.7 b	13.5 \pm 2.7 ab	16.3 \pm 2.4 a	*** ns ns
Racines (R)	25.2 \pm 10.1 a	30.6 \pm 8.8 a	ns	27.2 \pm 4.5 b	21.2 \pm 2.7 c	35.9 \pm 1.7 a	32.4 \pm 4.1 ab	*** ** ns	13.1 \pm 3.2 a	12.7 \pm 2.9 a	14.8 \pm 1.8 a	12.4 \pm 3.9 a	ns ns ns
Amidon (Amd) <i>$\mu\text{mol/g MF}$</i>													
Feuilles (F)	50.1 \pm 10.4 a	34.5 \pm 5.0 b	*	15.9 \pm 2.8 a	16.6 \pm 4.5 a	16.7 \pm 2.9 a	13.9 \pm 0.7 a	ns ns ns	22.3 \pm 7.8 a	20.5 \pm 8.2 a	18.5 \pm 6.5 a	13.6 \pm 3.9 a	ns ns ns
Tiges (Tg)	4.6 \pm 0.0 a	2.4 \pm 0.0 a	ns	42.1 \pm 12.5 a	62.6 \pm 17.1 a	50.3 \pm 25.9 a	72.7 \pm 12.0 a	ns *	126.3 \pm 23.5 a	61.9 \pm 20.8 a	76.4 \pm 25.8 a	145.0 \pm 23.5 a	ns ns **
Tronc (Tc)	18.4 \pm 1.1 a	16.5 \pm 4.6 a	ns	30.7 \pm 11.7 b	45.0 \pm 13.7 b	93.5 \pm 14.3 a	80.1 \pm 18.2 ab	*** ns ns	110.6 \pm 24.8 ab	66.1 \pm 24.4 b	134.3 \pm 5.8 a	81.3 \pm 27.5 ab	ns ** ns
Racines (R)	10.9 \pm 4.8 a	14.8 \pm 4.8 a	ns	117.2 \pm 24.2 a	109.9 \pm 12.4 a	105.4 \pm 13.7 a	50.4 \pm 31.4 b	** *	120.4 \pm 15.6 a	131.2 \pm 24.9 a	108.7 \pm 16.1 a	101.6 \pm 17.4 a	ns ns ns

CHAPITRE 2

IMPACT DU GENOTYPE DU PORTE-GREFFE SUR L'AJUSTEMENT DU METABOLISME CENTRAL D'UNE VIGNE GREFFEE EN REPONSE A LA DISPONIBILITE AZOTEE

OBJECTIFS ET HYPOTHESES DE TRAVAIL

Les résultats présentés dans le premier chapitre ont mis en évidence le rôle primordial des réserves azotées dans l'établissement de la vigueur d'une vigne greffée et l'effet du génotype du porte-greffe sur la nutrition carbonée et azotée. Dans ce chapitre, une étude du contenu métabolique des plantes prélevées dans l'expérimentation 2 nous a permis i.) de tester l'hypothèse **H4** : En réponse à une diminution de la nutrition en nitrate, les génotypes de porte-greffe les plus vigoureux adapteraient mieux leurs métabolismes C et N et pourraient ainsi maintenir leur croissance, et ii.) de mener des investigations sur les résultats obtenus sur la mobilisation des réserves (**H3**), présentés dans le chapitre 1.

STRATEGIES EXPERIMENTALES ET METHODOLOGIQUES

Une caractérisation métabolique ciblée sur quelques molécules du métabolisme primaire C et N a été effectuée pour les différents organes des deux combinaisons porte-greffe/greffon soumis aux trois niveaux d'offre en nitrate. La miniaturisation des protocoles de dosage a permis d'effectuer un grand nombre d'analyses sur les échantillons prélevés en fin de nuit au cours de l'expérimentation 2 à t0, t15 et t60. L'étude de l'évolution des réserves azotées, en particulier de la concentration des divers acides aminés, a permis de mettre en perspective les résultats issus des cartes de flux présentées dans le chapitre 1. La mise au point et la réalisation des dosages ont été effectuées en 2013 par Elodie Claverie, stagiaire de Master 2 que j'ai co-encadrée avec Philippe Vivin.

RESULTATS

Le génotype du porte-greffe influe sur la composition biochimique des différents compartiments de la plante à t0. Les plantes greffées sur 1103P contiennent plus de protéines, de nitrate et de saccharose dans les tiges et le tronc et de phosphate, d'acides aminés et d'acide malique dans les feuilles que CS/RGM alors que CS greffé sur RGM contient davantage d'amidon dans ses feuilles (tableau 2.1).

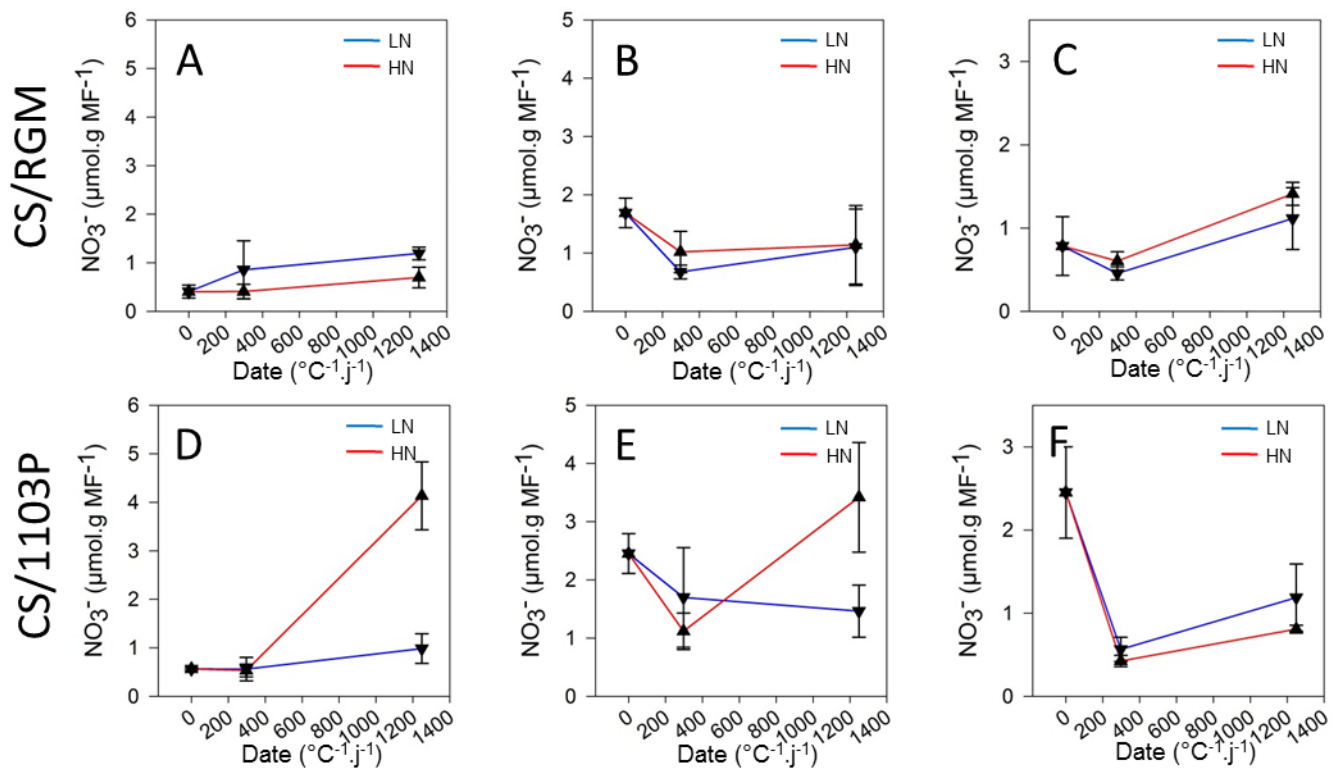


Figure 2.1 : Concentration en nitrate dans les feuilles (A, D), tiges (B, E) et racines (C, F) de CS/RGM (A,B,C) et CS/1103P (D,E,F) en fonction du temps ($^\circ\text{C}\cdot\text{jour}^{-1}$) et des traitements azotés LN et HN, moyenne \pm sd, n=5

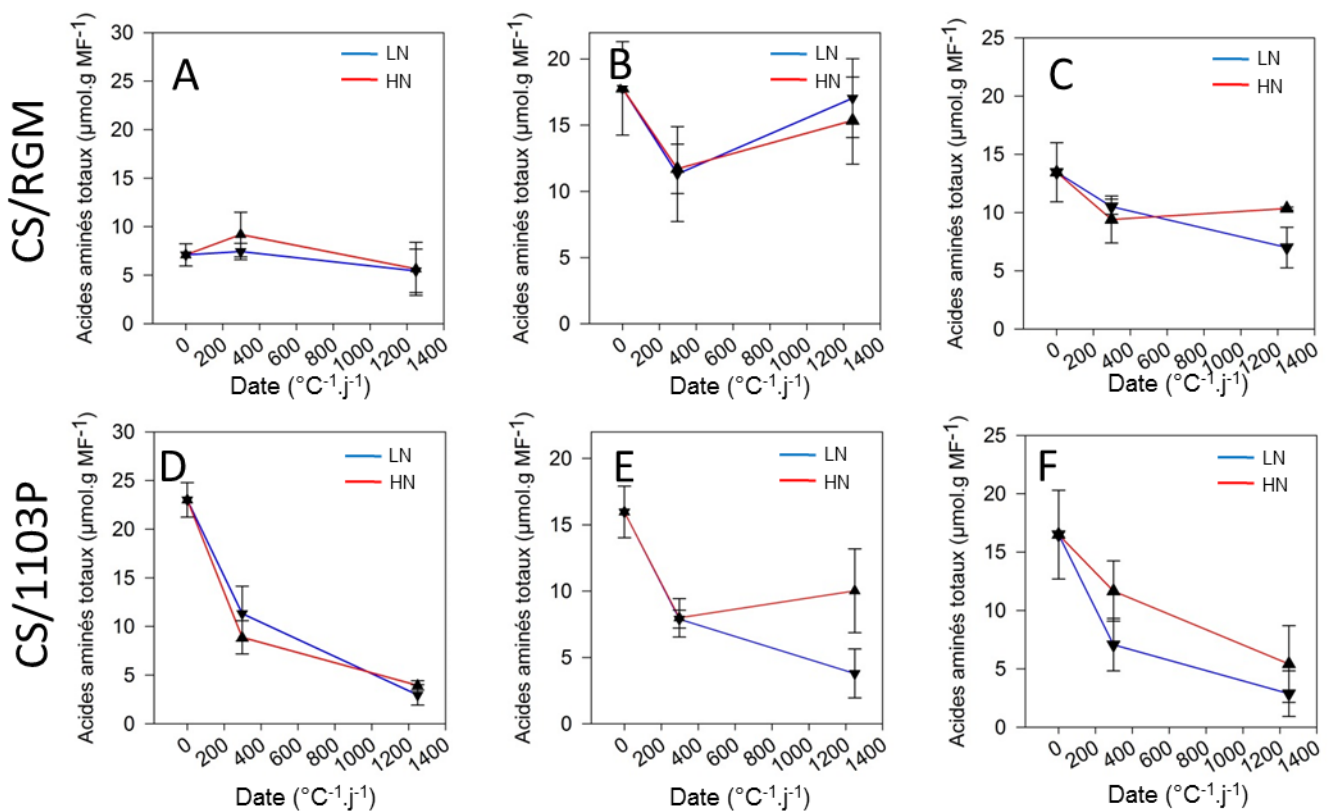
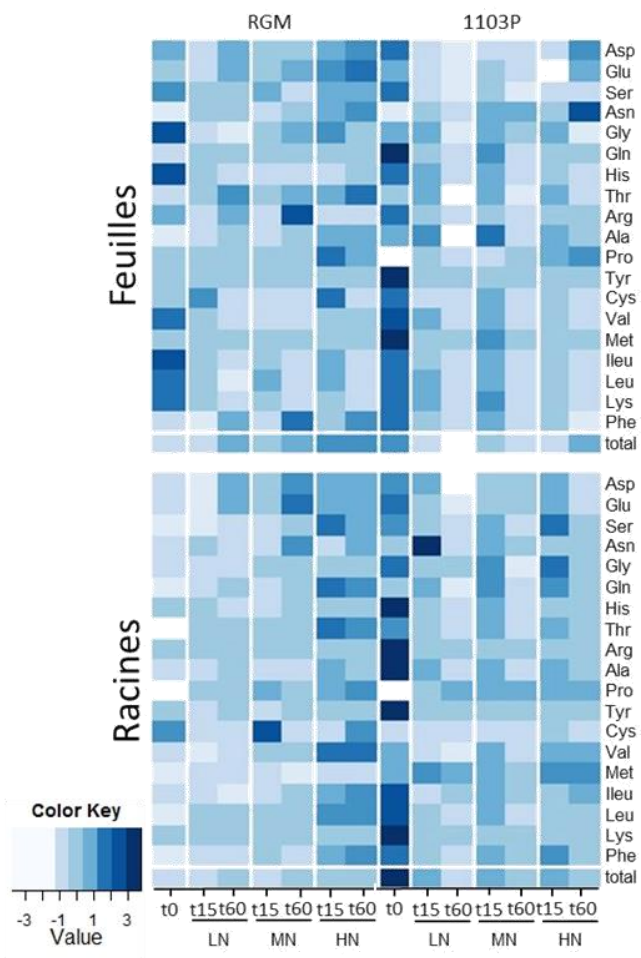


Figure 2.2 : Concentration en acides aminés dans les feuilles (A, D), tiges (B, E) et racines (C, F) de CS/RGM (A,B,C) et CS/1103P (D,E,F) en fonction du temps ($^\circ\text{C}\cdot\text{jour}^{-1}$) et des traitements azotés LN et HN, moyenne \pm sd, n=5

En réponse à la diminution de la concentration externe en nitrate, la quantité de nitrate dans les feuilles, tiges, tronc et racines n'est pas modifiée chez CS/RGM à t15 et t60 alors qu'elle est diminuée chez CS/1103P à t60 dans les feuilles et les tiges (figure 2.1). Pour cette dernière combinaison, la quantité de nitrate augmente au cours du temps dans les feuilles et les tiges, particulièrement entre t15 et t60, alors qu'elle chute entre t0 et t15 dans les racines et reste constante au cours de l'expérimentation dans les troncs. L'étude de l'évolution de la concentration en acides aminés totaux révèle que la concentration en acides aminés diminue dans tous les compartiments de la plante mais aussi que la diminution est plus forte pour les plantes greffées sur 1103P (figure 2.2). On remarque que la concentration en acides aminés dans les différents compartiments de la plante suit le même profil que le nitrate, à l'exception d'une part de la concentration en acides aminés dans les feuilles de CS/1103P, qui reste identique pour LN et HN alors que la concentration en nitrate est fortement augmentée par le traitement HN, et d'autre part de la concentration dans les racines de 1103P qui diminue sur toute la durée de l'expérimentation alors que la concentration en nitrate remonte sur la période t15-t60. L'analyse de la réponse de la concentration individuelle des différents acides aminés dans les feuilles et les racines montre qu'à t0, la quasi-totalité des acides aminés sont plus concentrés dans les plantes greffées sur 1103P (à l'exception de Gly, His, Pro dans les feuilles et Cys dans les racines) et qu'au cours de l'expérimentation, les plantes greffées sur 1103P diminuent leur concentration en acides aminés alors qu'*a contrario*, celles greffées sur RGM l'augmentent (figure 2.3). Il apparaît que Asn et Pro sont fortement accumulés au cours du temps dans les feuilles des deux combinaisons, et ce d'autant plus que la concentration en azote externe est importante. De plus, la concentration azotée contenue dans les acides aminés se révèle plus forte pour 1103P que RGM à t0 alors qu'elle est plus forte chez CS/RGM pour tous les traitements à la fin de l'expérimentation (figure 2.4). Elle augmente pour les deux traitements dans les feuilles, tiges et racines à l'exception des tiges de CS/RGM irrigués avec LN, dans lesquels la concentration reste constante au cours du temps. Chez CS/1103P, la concentration en azote contenue dans les acides aminés augmente dans un premier temps dans les feuilles puis chute fortement entre t15 et t60 alors qu'elle diminue dans les tiges pour LN et augmente fortement après t15 pour HN.

Pour les deux combinaisons, les concentrations en sucres solubles totaux et saccharose dans tous les compartiments, et la concentration en amidon dans les feuilles diminuent entre t0 et t60, alors que les concentrations en amidon dans les tiges, tronc et racines augmentent pour la même période (tableau 2.1). En réponse à la diminution de la concentration en nitrate externe,



← **Figure 2.3** : Carte de chaleur de l'évolution de la concentration de 19 acides aminés dans les feuilles et racines, en fonction du génotype du porte-greffe (RGM et 1103P), du traitement azoté (LN, MN et HN) et de la durée des traitements (t0, t15 et t60), moyenne de n=5, valeurs normalisées par compartiment.

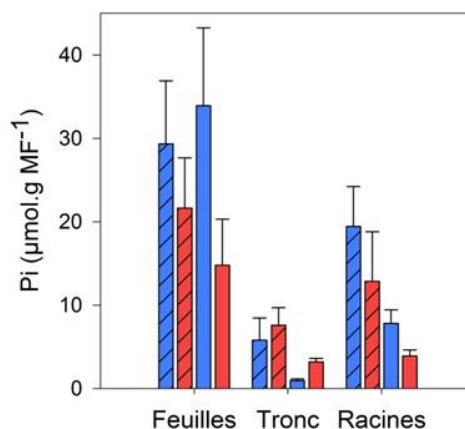


Figure 2.5 : Concentration en Pi dans les feuilles, tiges et racines de CS/RGM (hatched) et CS/1103P (solid) en fonction des traitements azotés LN et HN à t60, moyenne ± sd, n=5

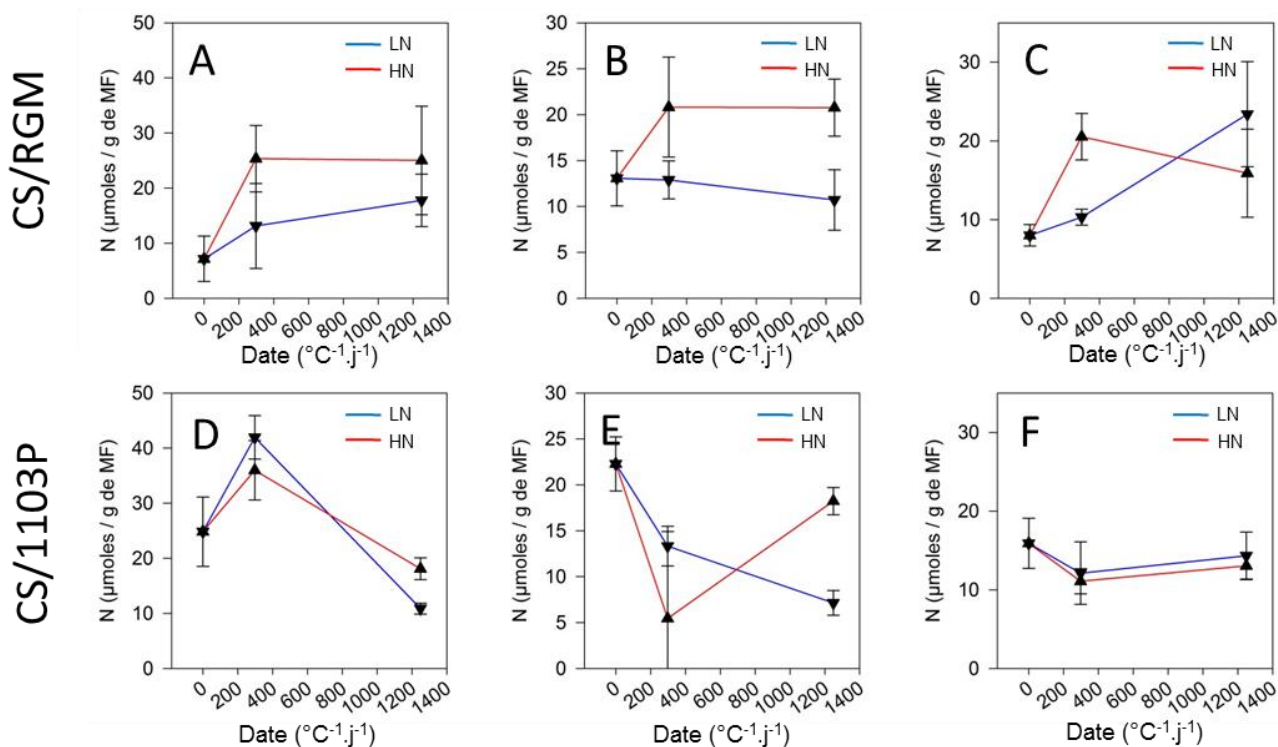


Figure 2.4 : Concentration en azote contenu dans les acides aminés dans les feuilles (A, D), tiges (B, E) et racines (C, F) de CS/RGM (A, B, C) et CS/1103P (D, E, F) en fonction du temps (°C.jour⁻¹) et des traitements azotés LN et HN, moyenne ± sd, n=5

la concentration en amidon dans les tiges augmente chez CS/RGM alors qu'elle est diminuée chez CS/1103P. Même s'ils n'altèrent pas la réponse à la disponibilité azotée, le génotype du porte-greffe influe sur la concentration en sucres solubles, saccharose et en amidon dans les différents compartiments de la plante : la concentration en sucres solubles et en amidon (à t15) est plus forte dans les troncs de CS/1103P que dans ceux de CS/RGM et *a contrario*, la concentration en amidon dans les racines à t15 est plus forte chez RGM que chez 1103P. Enfin, la concentration en saccharose est plus forte dans les troncs (t15 et t60) et les racines (à t15) de 1103P.

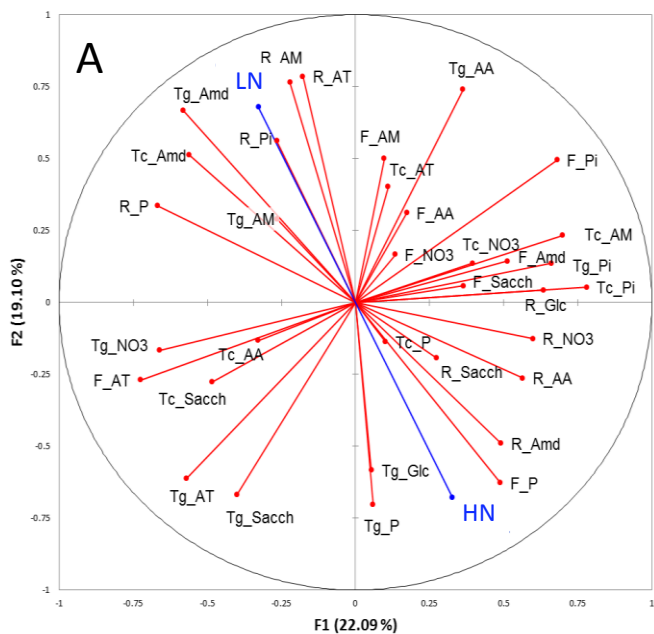
La concentration en acide malique diminue dans tous les compartiments au cours de l'expérimentation, sans aucun effet des traitements azotés, à l'exception des mesures à t60, où elle est augmentée en réponse à LN dans les deux combinaisons porte-greffe / greffon (tableau 2.1). A t60, la concentration en acide malique est plus importante dans les tiges, troncs et racines et la concentration en acide tartrique plus forte dans les feuilles des plantes greffées sur RGM.

La concentration en phosphate inorganique est aussi impactée par le génotype en particulier à t60, où elle est plus forte dans tous les organes de CS/RGM que dans ceux de CS/1103P (figure 2.5). De plus la concentration en Pi est diminuée dans les troncs des deux combinaisons en réponse à la limitation de l'offre azotée alors qu'elle augmente dans les racines et les feuilles. Cette augmentation de Pi au niveau des feuilles est d'ailleurs plus forte chez CS/1103P que chez CS/RGM.

L'étude par ACP de l'interaction entre les différents métabolites dosés à t60 met à jour que les relations entre métabolites sont modifiées par le génotype du porte-greffe (figure 2.6 A et B). Ainsi même si la concentration racinaire en acides malique et tartrique, en phosphate et en protéines sont corrélées positivement avec le traitement LN et la concentration en glucose et en protéines dans les tiges sont corrélées positivement avec HN pour les deux combinaisons, on observe des corrélations entre les traitements azotés et d'autres métabolites contrastées selon le génotype de porte-greffe. Alors que les concentrations racinaires en nitrate, saccharose et la concentration foliaire en protéines sont positivement corrélées au traitement HN chez CS/RGM, elles le sont avec LN chez CS/1103P. Au contraire, la concentration en amidon dans les tiges est positivement corrélée avec LN chez CS/RGM alors qu'elle l'est avec HN chez CS/1103P. L'établissement de réseaux de corrélation entre les différents métabolites confirme les résultats mis à jour par les ACP (figure 2.6 C et D); il apparaît que le

CS/RGM

Variables (axes F1 and F2: 41.19%)



CS/1103P

Variables (axes F1 and F2: 46.77%)

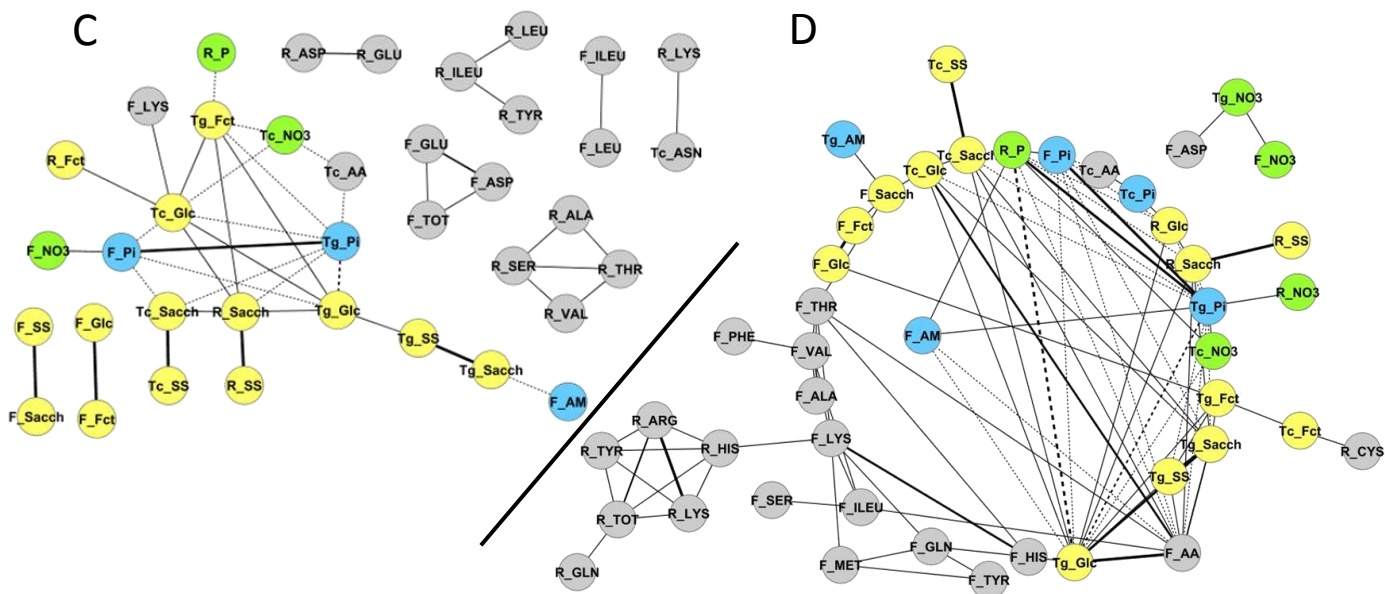
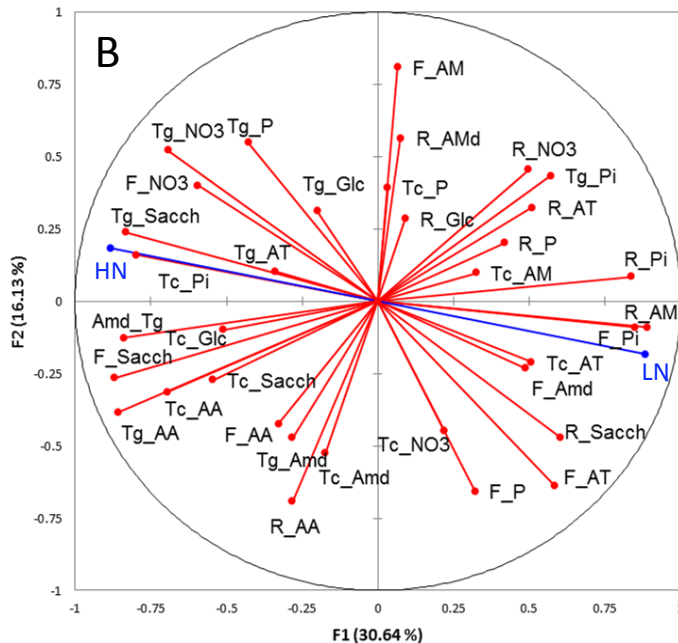


Figure 2.6 : **A** et **B** Analyse par ACP des relations entre les différents métabolites (Amd=amidon, SS=sucres solubles, Sacch=saccharose, Glc=glucose, Fct=fructose, Pi=Phosphate inorganique, P=protéines, AM=acide malique, AT=acide tartrique, AA=acides aminés totaux) dans les racines (R), tronc (Tc), tiges (Tg) et feuilles (F) à t60 chez CS/RGM(**A**) et CS/1103P (**B**). **C** et **D** Réseaux de corrélations intermétabolites chez CS/RGM (**C**) et CS/1103P (**D**), la couleur des nœuds symbolise l'origine du métabolite : vert=métabolite azoté, gris=acides-aminés, jaune=métabolite carboné, bleu=acide organique et Phosphate inorganique ; les corrélations statistiquement significatives ($p < 0,05$) sont représentées par un trait plein pour les corrélations positives, par des pointillés pour les corrélations négatives, l'épaisseur du trait étant proportionnel à la significativité ($pvalue$) de la corrélation.

réseau CS/1103P présente un nombre de nœuds de corrélations inter-métabolites beaucoup plus élevé que celui constitué avec les métabolites dosés chez CS/RGM. Les acides aminés sont principalement corrélés entre eux dans les deux combinaisons mais sont moins fortement intégrés dans le réseau métabolique chez CS/RGM.

DISCUSSION

L'analyse du contenu en métabolites a révélé que le génotype du porte-greffe a un impact sur la composition métabolique de la plante greffée et modifie sa réponse à la diminution de la disponibilité azotée. L'examen des résultats des analyses à t0 met à jour des différences entre les combinaisons porte-greffe / greffon en particulier au niveau des réserves azotées (protéines, acides aminés) plus importantes chez CS/1103P et de la concentration foliaire en amidon plus forte chez CS/RGM. La plus forte concentration en acides aminés (Gln, Tyr et Met dans les feuilles ; His, Arg, Ala, Tyr, Ileu, Leu et Lys dans les racines) chez CS/1103P à t0 révèle une assimilation du nitrate absorbé plus forte mais aussi laisse présager de réserves plus importantes dans le tronc de 1103P à l'issue même du greffage. Des investigations en ce sens devront être menées, afin de déterminer si 1103P présente des réserves azotées plus importantes que RGM. En comparaison avec les plantes greffées sur RGM, la plus forte croissance végétative des plantes de CS greffées sur 1103P décrite dans le chapitre 1 pourrait être expliquée en partie par des niveaux de réserves azotées remobilisables plus importantes que chez RGM, comme le suggèrent des études sur les arbres (Millard and Neilsen, 1989; Tromp, 1983). La plus forte concentration en amidon à t0 dans les feuilles des plantes greffées sur RGM est connue chez les plantes pour être un marqueur d'un excès d'activité photosynthétique par rapport à la demande en carbone mais aussi pour être liée à la perception d'une limitation azotée (Goldschmidt and Huber, 1992; Rufty *et al.*, 1988; Scheible *et al.*, 1997a; Stitt and Zeeman, 2012; Tschoep *et al.*, 2009). Dosé en fin de nuit, l'amidon en excès dans les feuilles peut aussi traduire une exportation nocturne des assimilats vers les puits de la plante moins importante chez CS/RGM que CS/1103P.

La concentration en nitrate dans la plante est significativement diminuée en réponse à la diminution de l'offre en nitrate du sol, chez CS/1103P alors qu'elle n'est pas affectée chez CS/RGM. L'accumulation de nitrate dans les feuilles et tiges de CS/1103P traité avec HN révèle une mise en réserve d'azote sous forme de nitrate, rapidement mobilisable, alors que CS/RGM accumule préférentiellement ses réserves azotées sous forme d'acides aminés et marginalement de protéines. La plus forte accumulation de nitrate dans les feuilles peut

résulter d'un fort flux de nitrate en direction des feuilles chez cette combinaison, en accord avec les résultats observés chez *Arabidopsis thaliana* où l'accumulation de nitrate dans les feuilles est connue pour favoriser la croissance des parties aériennes au détriment du compartiment racinaire (Scheible *et al.*, 1997b). La forte remobilisation des réserves azotées de CS/1103P pour soutenir la croissance aérienne lorsque l'offre en nitrate du sol diminue (cf. chapitre 1) s'accompagne d'une utilisation des acides aminés qui voient leur concentration diminuer à t60 dans le traitement LN par rapport à HN. Tous les acides aminés sont mis à contribution, à l'exception de Asn dans les feuilles et Pro dans les feuilles et racines, deux formes de stockage de N dont la concentration augmente au cours de l'expérimentation (Kishor *et al.*, 2005; Llácer *et al.*, 2008). Chez CS/RGM, les acides aminés sont faiblement mis à contribution en réponse à la diminution de l'offre en nitrate du sol et leur concentration à t60 n'est réduite uniquement que dans les racines. Même si la concentration en acides aminés donne une indication de l'état des réserves azotées, le calcul de la concentration en azote contenu dans les acides aminés est un indicateur plus fin du statut azoté de la plante. Chez CS/RGM, alors que la concentration en acides aminés totaux n'est pas modifiée par les traitements azotés, la concentration en N des acides aminés est augmentée dans les feuilles et les tiges par le traitement HN et augmente dans les racines pour le traitement LN. En revanche, chez CS/1103P, la forte diminution entre t0 et t60 de la concentration en azote issu des acides aminés dans les feuilles, tiges et racines confirme la mobilisation des réserves azotées chez CS/1103P pour LN alors que chez RGM, même si la concentration en acides aminés diminue légèrement, la concentration en azote issu de ces acides aminés augmente (feuilles et racines) ou stagne (tiges). Le génotype du porte-greffe modifie donc les dynamiques d'accumulation et de mobilisation des réserves alors même que le flux entrant de nitrate est équivalent pour les deux combinaisons porte-greffe / greffon (voir Chapitre 1). Le plus fort niveau de réserves azotées à t0 chez CS/1103P combiné à la forte mobilisation des réserves azotées en réponse à la diminution de la disponibilité azotée est à l'origine de la plus grande plasticité de 1103P à la disponibilité azotée, en accord avec des travaux récents sur *Arabidopsis Thaliana* (Conradie, 1992; Richard-Molard *et al.*, 2008; Zapata *et al.*, 2004). Les résultats obtenus pour les plantes greffées sur RGM sont en désaccord avec ces résultats et il semble que ce porte-greffe dépend plus de l'absorption d'azote en début de cycle pour assurer la croissance et accumule des réserves azotées en début de cycle végétatif, ce qui le rend plus plastique à la disponibilité azotée dans le milieu (voir chapitre 1). Le lien entre contrôle de la croissance, les hormones et la mobilisation des réserves semble donc être fort et des investigations doivent être menées en ce sens. Cependant, même si les hormones (Muñoz *et*

al., 1990; Nanda and Purohit, 1965; Pritchard *et al.*, 2002; Tonini *et al.*, 2010) et certains métabolites, tel le 2-oxoglutarate (Hodges, 2002) semblent impliquées dans le contrôle de la mobilisation des réserves chez les végétaux les interactions entre le contrôle de la croissance et l'établissement des réserves sont encore mal comprises (Cantón *et al.*, 2005; Chapin *et al.*, 1990). Chez la vigne, de nouvelles études dédiées à la dynamique d'accumulation et de mobilisation des réserves azotées sur un cycle végétatif complet des deux combinaisons porte-greffe / greffon couplées à des analyses hormonales, métaboliques et à une étude de l'expression de gènes candidats impliqués dans l'accumulation et la mobilisation des réserves azotées permettront non seulement d'apporter des connaissances sur le déterminisme de la vigueur conférée chez la vigne mais aussi d'utiliser le greffage comme outil d'investigation de la régulation de l'accumulation et de la mobilisation des réserves chez les plantes.

Le génotype du porte-greffe a seulement un impact sur la concentration en Phosphate inorganique dans les feuilles, tronc et racines mais module aussi sa concentration en réponse aux traitements azotés : la concentration foliaire en Pi augmente plus fortement chez CS/1103P que chez CS/RGM en réponse à la diminution de la disponibilité azotée. L'étude récente de Schreiner *et al* a révélé que la teneur en P augmentait dans les feuilles de Pinot Noir en réponse à une diminution de la disponibilité azotée, en accord avec nos observations (Schreiner *et al.*, 2013). De nombreuses études ont révélé que le génotype du porte-greffe modifie la composition minérale de la plante et que la modification de la disponibilité d'un élément minéral peut affecter l'accumulation d'autres minéraux. L'étude de l'évolution de la composition minérale de nos deux combinaisons modèles, en réponse à la modification de la disponibilité azotée est primordiale à une meilleure compréhension de l'implication directe et indirecte de la nutrition azotée dans la vigueur conférée.

De manière plus globale, l'analyse des réseaux de corrélations inter-métabolites ont mis à jour un nombre de nœuds plus important chez les plantes greffées sur 1103P, en comparaison des plantes greffées sur RGM. Ceci révèle que les plantes greffées sur 1103P coordonnent mieux leurs métabolismes C et N, ce qui expliquerait la plus forte plasticité métabolique de cette combinaison à la disponibilité azotée.

L'analyse métabolique réalisée dans cette étude donne une image à un temps t de la concentration de métabolites qui résulte à la fois de l'activité de synthèse et de dégradation de ces derniers. Le couplage de cette étude avec des mesures d'activité enzymatiques (activité de

la NR en particulier) permettrait de mieux comprendre les modifications de la signature métabolique des plantes en réponse au génotype du porte-greffe et à la disponibilité azotée.

CHAPITRE 3

IMPACT DU GENOTYPE DU PORTE-GREFFE SUR LA NUTRITION MINERALE D'UNE VIGNE GREFFEE, EN REPONSE A LA DISPONIBILITE EN AZOTE.

OBJECTIFS ET HYPOTHESES DE TRAVAIL

Cette étude vise à i.) identifier les modifications éventuelles d'accumulation des différents éléments minéraux en réponse à la diminution de la concentration en nitrate externe et ii) déterminer l'effet du porte-greffe sur ces modifications et ainsi de tester **H5**, à savoir que la composition minérale d'une vigne greffée dépendrait de l'interaction entre la nutrition azotée et le génotype du porte-greffe.

STRATEGIES EXPERIMENTALES ET METHODOLOGIQUES

La composition minérale des échantillons des compartiments feuilles, tiges et racines de l'expérimentation menée en 2012 a été analysée en point final (t60) afin de mettre en évidence les différences d'accumulation des différents minéraux dans ces compartiments à l'issue de la durée de l'expérimentation.

ARTICLE

Soumis à Plant and Soil, Octobre 2013

Rootstock genotype and nitrate supply modify mineral composition of grafted grapevines

Julien Lecourt, Sarah-Jane Cookson, Nathalie Ollat, Serge Delrot, Philippe Vivin, Virginie Lauvergeat

ABSTRACT

Background and Aims Both rootstocks and mineral nutrition, particularly nitrogen (N), are known to affect many aspects of plant development including the control of scion vigor and root:shoot ratio. In this study we investigated whether responses of grafted grapevines to N supply and differences in mineral accumulation are involved in the control of scion vigor and root:shoot ratio.

Methods *Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon was grafted on two rootstock genotypes known to confer high and low vigor. Plants were grown for 60 days under three nitrate supplies. Stem, leaf, trunk and root biomass, and the concentration of 13 macro and microelements in roots and leaves were measured.

Results The high scion vigor was associated with high concentration of minerals in the leaves. The root:shoot ratio and the concentration of some minerals in the leaves, such as phosphorus, were affected by the N supply differently in the two scion/rootstock combinations.

Conclusion Rootstock conferred vigor and control of root:shoot ratio were associated with particular shoot and root mineral accumulation patterns, and these responses were dependent on N supply. These results contribute to a better understanding of how rootstocks control scion growth in response to soil mineral content.

INTRODUCTION

Like many other species (e.g. *Prunus spp.*, *Malus spp.* and *Rosa spp.*), grapevine is widely cultivated as a grafted plant. Grapevine grafting was initially introduced in Europe to overcome the phylloxera pest, but nowadays it is also used for a variety of agronomical traits, e.g. adaptability to the soil properties and/or environmental conditions, resistance against soil pathogens and ability to control scion vegetative growth (as reviewed by (May, 1994)). In many grafted cultivated species, the vegetative growth of the scion and the mineral nutrition are strongly affected by the rootstock, e.g. the rootstock genotype influences the mineral composition of the scion in mandarin (Fallahi and Rodney, 1992), apple (Kennedy *et al.*, 1980) and oranges (Smith *et al.*, 1949). The rootstock genotype can also effect plant responses to nutrient supply e.g. nitrogen (N) (Keller *et al.*, 2001; Zerihun and Treeby, 2002), phosphorus (P) (Grant and Matthews, 1996b) and potassium (K) supplies (Ruhl, 1992). In addition to being very important to agriculture, grafting (i.e. replacing the native root system of the plant by the one of another genotype) is a powerful tool to alter the root to shoot communication and to study the reciprocal roles of the root and the shoot systems in plant nutrient homeostasis and growth control (Chen, 2006; Turnbull *et al.*, 2002).

Among all the minerals required by plants, N is the nutrient required in the highest concentration and is frequently the one that limits crop yield and quality (Marschner and Marschner, 2011). Plants differ in their preferred N supply; however nitrate absorbed via the roots is the major source of N for the vast majority of plants (Bair *et al.*, 2008; Keller and Koblet, 1995; Keller *et al.*, 2001). In grapevine, nutrient fertilization management is designed to ensure an optimal quality of the grape berries. Nitrogen, and particularly nitrate,

availability has been previously shown to be the main factor affecting grapevine physiology, productivity and grape berry quality (Jackson and Lombard, 1993; Peyrot des Gachons *et al.*, 2005).

The coordinated regulation of N and carbon metabolism is essential to plants, primarily because reductant and carbon skeletons are required for the uptake and reduction of nitrate, and in the subsequent incorporation of reduced N into organic compounds (Wang *et al.*, 2012). It is well known that root growth and architecture are modified by N supply; high shoot nitrate concentrations inhibit root growth relative to shoot growth (i.e. alters root:shoot ratio) (Andrews *et al.*, 2013; Grechi *et al.*, 2007) and local application of nitrate to N limited plants produces localized root proliferation (Drew, 1975). Shoot and root development needs to be tightly coordinated to adapt to fluctuating environmental conditions such as the availability of minerals resources (Poorter *et al.*, 2012). Superimposed upon this, in grafted plants, the rootstock and scion genotypes can alter root:shoot ratio in non-limiting conditions (Fisarakis *et al.*, 2001; Mao *et al.*, 2008; Venema *et al.*, 2008). Plants require at least 13 mineral elements in addition to N for adequate development (Marschner and Marschner, 2011). Six mineral elements, N, P, K, calcium (Ca), magnesium (Mg) and sulphur (S), are required in large amounts, and thus called macronutrients; whilst chloride (Cl), boron (B), iron (Fe), manganese (Mn), copper (Cu), zinc (Zn), nickel (Ni) and molybdenum (Mo) are required in smaller amounts, and so-called micronutrients. These elements are required in different proportions, but deficiency or excess (toxicity) in any of these elements reduces plant growth and crop yields. Some responses can be attributed uniquely to the deprivation of only one nutrient, but, in many cases, deficiency of one mineral interacts with the metabolism of other nutrients (Schachtman and Shin, 2007). Recent reviews have highlighted interactions between the minerals in the elemental composition plants (Amtmann and Armengaud, 2009; Liu *et al.*, 2009; Williams and Salt, 2009). As an example, both iron or boron deficiencies alter N metabolism and allocation in cucumber and tobacco respectively (Borlotti *et al.*, 2012; Camacho-Cristóbal and González-Fontes, 1999). Such results reveal that plant mineral homeostasis is highly regulated and that the metabolism of different minerals are interconnected, suggesting that changes in the uptake of a single mineral could affect, directly or indirectly, the uptake and accumulation of other minerals in the plant.

Despite the interactions between different minerals and the role of the rootstock in the nutrition of the scion, no study has been published to date on the combined effects of N supply and rootstock genotype on macro and micronutrient uptake and allocation in any species. In this study, we investigated the effect of three nutrient solutions differing only in

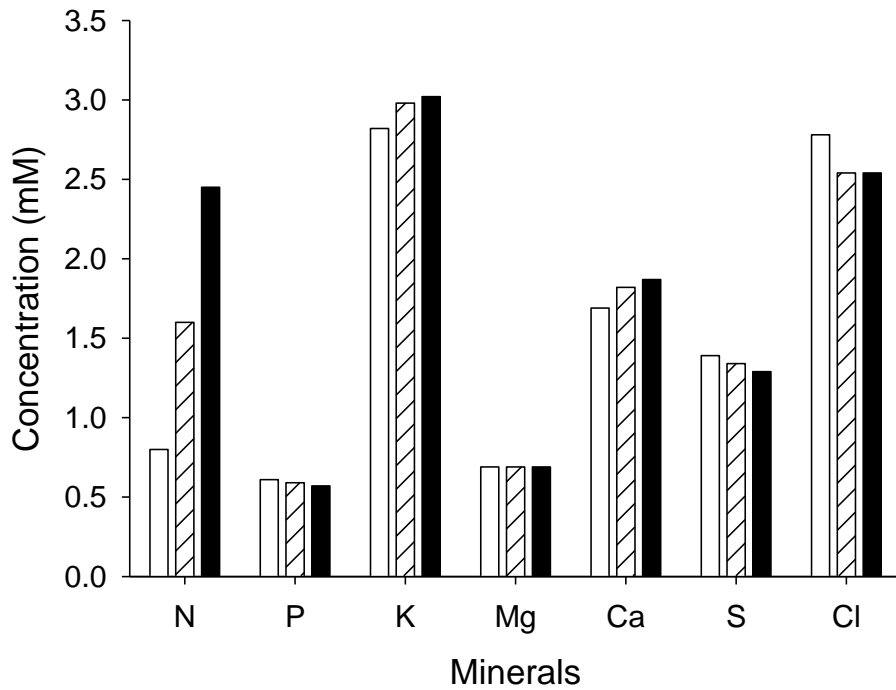


Fig. 3.1 Concentration of each macro-nutrient for the three solutions. LN (white), C (dashed), HN (black)

Table 3.1: Composition of the three nutrient solutions

Macronutrient composition (mM)	Low N	Control N	High N
KNO ₃	0.8	1.6	2.45
K ₂ HPO ₄	0.61	0.59	0
KH ₂ PO ₄	0	0	0.57
MgSO ₄	0.69	0.69	0.69
CaCl ₂	1.39	1.27	1.27
K ₂ SO ₄	0.4	0.1	0
CaSO ₄	0.3	0.55	0.6

their nitrate concentration on the mineral accumulation in the leaves and the roots of two scion/rootstock combinations. The two rootstock genotypes used were chosen based on their ability to confer vigor to the scion: a low vigor genotype (Riparia Gloire de Montpellier, RGM) and a high vigor genotype (1103 Paulsen, 1103P). In grapevine, scion vigor is frequently quantified in terms of cane pruning weight at the end of the growing season, and in this study it is defined as stem biomass. We hypothesize that rootstock induced differences in scion vigor and root:shoot ratio are partly related to differences in plant responses to mineral supply, and/or differences in mineral uptake and/or allocation within the grafted plant.

MATERIAL AND METHODS

PLANT MATERIAL

A unique scion genotype, *Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon (CS) was grafted on two rootstocks known to confer contrasted vegetative growth to the scion. *Vitis riparia* cv. Riparia Gloire de Montpellier (RGM) is known to reduce scion vigor, while the *Vitis rupestris* x *berlandieri* hybrid cv. 1103 Paulsen (1103P) increases vigor (May, 1994). One-year-old plants were cultivated in sand-filled pots in a greenhouse and irrigated with the control nutrient solution for 15 days of acclimation. At the end of the acclimation period (0 days post treatment (dpt)), five plants of each combination were harvested, dried and weighed. The rest of the plants were divided in three groups of 5 plants per combination and irrigated with three nutrient solutions varying in their nitrate concentration (0.8 mM, 1.6 mM and 2.45 mM). Sixty days after the beginning of treatments (60 dpt), leaves, stems and roots of plants from the two combinations were harvested, dried, weighed and ground.

NUTRIENT SOLUTIONS

Most of the studies in which plant N supply is altered, KNO₃ is replaced by KCl in order to decrease NO₃⁻ supply and maintain K⁺ concentration (Vidal *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2009). This method has the disadvantage that it leads to a considerable increase in Cl⁻ concentration as nitrate supply is reduced. In our study, to overcome this artifact, we adapted each compound concentration to obtain solutions varying almost only in their nitrate concentration (0.8 mM, 1.6 mM and 2.45 mM), reducing changes in other element concentrations as little as possible (Fig 3.1). Compositions of the three solutions are described in Table 3.1, and corresponding amounts of each macronutrient are represented Fig. 1. Micronutrients were supplied as 46.25 μM H₃BO₃, 9 μM MnCl₂, 1.36 μM ZnSO₄, 0.5 μM

Table 3.2 : Rootstock and treatments effects on the biomass of the two scion/rootstock combinations compartments at d0 and d60. Values presented are mean±sd, Statistical analyses for d0 t.test ($\alpha=0,05$) , for d60 ANOVA ($p>0,05=ns$, $p<0,05=*$, $p<0,01=**$, $p<0,001=***$)

Combination/ Treatment			Leaves	Stem	Roots	Total DW
d0	CS/RGM	1,6 mM	1.42 ± 0.42	0.46 ± 0.16	1.56 ± 0.44	3.46 ± 0.81
	CS/1103P	1,6 mM	1.73 ± 0.57	1.09 ± 0.37	3.29 ± 1.16	6.10 ± 1.80
<i>t.test</i>			ns	**	*	**
d60	CS/RGM	0,8 mM	2.80 ± 0.64 ^d	1.46 ± 0.61 ^d	3.89 ± 1.02 ^b	8.15 ± 1.97 ^e
		1,6 mM	4.94 ± 0.79 ^{bc}	3.13 ± 0.96 ^{cd}	6.80 ± 2.06 ^{ab}	14.86 ± 2.03 ^{cd}
		2,4 mM	6.61 ± 0.91 ^a	4.79 ± 0.74 ^{bcd}	5.11 ± 1.43 ^{ab}	16.91 ± 2.30 ^c
	CS/1103P	0,8 mM	4.38 ± 0.74 ^c	5.82 ± 2.17 ^{bc}	6.54 ± 1.08 ^b	16.74 ± 3.27 ^c
		1,6 mM	6.01 ± 0.90 ^{ab}	8.76 ± 2.80 ^{ab}	8.08 ± 2.16 ^a	22.84 ± 4.84 ^{bc}
		2,4 mM	6.59 ± 0.50 ^a	10.09 ± 3.22 ^a	9.00 ± 2.96 ^a	25.68 ± 5.83 ^a
Analysis of variance						
Rootstock (R)			**	***	**	***
Treatments (T)			***	***	*	***
RxT			ns	ns	ns	ns

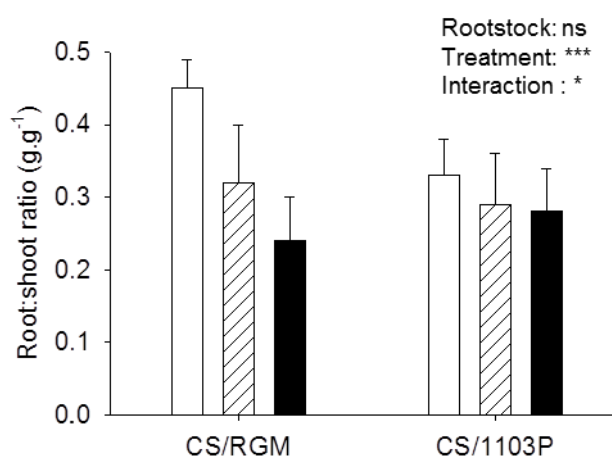


Fig. 3.2 Root:shoot ratio of the CS/RGM and CS/1103P grown under three N treatments: 0.8 (white), 1.6 (dashed) and 2.45mM (black) KNO₃- at 60 dpt. Data shown are means ± standard deviation, n = 5. Statistical analyses of rootstock (R), treatments (T) and their interaction (RxT) effects have been done using an ANOVA ($p>0,05=ns$, $p<0,05=*$, $p<0,01=**$, $p<0,001=***$).

CuSO₄, 14 nM (NH₄)₆Mo₇O₂₄, and iron supplied as 8.5 mg/L Sequestrene 138 (i.e. 31.3 μM EDDHA NaFe).

MINERAL ANALYSES

Mineral compositions of the samples have been analyzed by Eastern Analytical Laboratories (Richmond, VA, USA). Nitrogen content was determined using a Leco FP-528 instrument (LECO, St. Joseph, MI, USA). Other elements contents were determined by digesting the plant sample with Nitric acid and hydrochloric acid in a CEM Mars5 microwave digester (CEM, Matthews, NC, USA), elemental concentration was determined by reading the solutions on an ICP-OES MS 730-ES (Varian, Palo Alto, CA, USA).

STATISTICAL ANALYSIS

Significance of mineral composition results was tested by a two-way ANOVA, $p=0.05$, using the add-on Xlstat (Addinsoft, France) of Microsoft Excel (Microsoft, CA, USA).

HEATMAP

Heatmap representation was realized using the R statistics environment (R Development Core Team, 2005).

CORRELATION WHEELS

Data were analyzed with multivariate analysis methods using the R statistics environment (R Development Core Team, 2005). Pearson correlation coefficients between the concentrations of the different minerals were calculated with R and the statistical significance of the correlations was tested with a Bonferroni test (p -value <0.05). Mineral concentration correlation wheels were visualized with cytoscape version 2.8.2 as described by Dai (Dai *et al.*, 2013).

RESULTS

GRAPEVINE BIOMASS IS AFFECTED BY ROOTSTOCK GENOTYPE AND N SUPPLY

The effect of rootstock genotype (RGM and 1103P) and the nitrate supply (0.8, 1.6 and 2.45 mM) on total (excluding the trunk), root, stem and leaf biomass (Table 3.2) and root:shoot ratio (Fig. 3.2) was studied. At 0 dpt, plants grafted on 1103P had higher total, stem and root dry mass, whereas the leaf biomass was not significantly different between the two scion/rootstock combinations (Table 3.2). The root:shoot ratio at 0 dpt was also not significantly different between the two scion/rootstock combinations (0.83 and 1.17 for

Table 3.3: Mineral composition of leaves (a) and roots (b) of the two combinations (CS/RGM and CS/1103P) in response to three N treatments (0.8, 1.6 and 2.45mM KNO₃). Data shown are concentration means ± standard deviations of five replicates. Concentrations are expressed in mg/g of dry weight for macro elements and ng/g of dry weight for micro elements. Anova results are shown with ***, **, * and ns indicating significance at P <0.001, 0.01, 0.05 and no significance, respectively.

Leaves	CS/RGM			CS/1103P			Anova		
	0.8 mM	1.6 mM	2.4 mM	0.8 mM	1.6 mM	2.4 mM	R	T	RxT
Macroelements (mg/g DW)									
N	0.133 ± 0.013	0.181 ± 0.023	0.189 ± 0.012	0.128 ± 0.006	0.167 ± 0.010	0.195 ± 0.009	ns	***	ns
P	0.034 ± 0.005	0.046 ± 0.007	0.057 ± 0.010	0.067 ± 0.008	0.050 ± 0.008	0.043 ± 0.004	**	***	ns
K	0.120 ± 0.009	0.129 ± 0.020	0.137 ± 0.014	0.195 ± 0.033	0.165 ± 0.033	0.197 ± 0.059	***	ns	ns
S	0.025 ± 0.004	0.025 ± 0.007	0.023 ± 0.002	0.037 ± 0.005	0.037 ± 0.009	0.039 ± 0.003	***	ns	ns
Ca	0.101 ± 0.01	0.101 ± 0.021	0.084 ± 0.006	0.105 ± 0.009	0.099 ± 0.012	0.107 ± 0.006	ns	ns	ns
Mg	0.030 ± 0.002	0.030 ± 0.003	0.026 ± 0.002	0.040 ± 0.003	0.038 ± 0.005	0.041 ± 0.006	***	ns	ns
Na	0.003 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.001	ns	ns	ns
Microelements (ng/g DW)									
Fe	108.1 ± 11.0	98.2 ± 19.7	87.0 ± 4.3	202.0 ± 38.8	162.3 ± 23.8	144.2 ± 15.4	***	**	ns
Al	642.3 ± 69.7	530.6 ± 62.4	361.2 ± 32.6	628.5 ± 26.3	582.5 ± 65.6	529.0 ± 48.6	**	***	**
Mn	62.2 ± 15.7	63.2 ± 13.8	64.6 ± 10.1	108.8 ± 10.4	102.5 ± 11.2	118.7 ± 14.6	***	ns	ns
Cu	9.2 ± 2.2	7.0 ± 0.7	7.0 ± 1.2	10.4 ± 1.3	7.6 ± 1.1	10.0 ± 2.6	*	**	ns
Zn	25.6 ± 4.5	20.4 ± 5.2	14.0 ± 0.7	21.2 ± 3.4	22.4 ± 5.2	21.5 ± 1.3	ns	*	*
B	120.4 ± 8.2	140.6 ± 28.2	123.4 ± 14.2	252.2 ± 35.6	230.2 ± 25.5	237.6 ± 16.1	***	ns	ns
Roots	CS/RGM			CS/1103P			Anova		
	0.8 mM	1.6 mM	2.4 mM	0.8 mM	1.6 mM	2.4 mM	R	T	RxT
Macroelements (mg/g DW)									
N	0.086 ± 0.006	0.080 ± 0.013	0.096 ± 0.010	0.059 ± 0.011	0.069 ± 0.011	0.067 ± 0.014	***	ns	ns
P	0.039 ± 0.009	0.034 ± 0.009	0.032 ± 0.006	0.021 ± 0.004	0.020 ± 0.006	0.048 ± 0.005	***	ns	ns
K	0.164 ± 0.028	0.168 ± 0.040	0.193 ± 0.043	0.148 ± 0.057	0.157 ± 0.037	0.135 ± 0.027	ns	ns	ns
S	0.014 ± 0.002	0.014 ± 0.004	0.017 ± 0.005	0.014 ± 0.002	0.018 ± 0.003	0.019 ± 0.005	ns	ns	ns
Ca	0.087 ± 0.014	0.088 ± 0.016	0.095 ± 0.010	0.069 ± 0.003	0.075 ± 0.009	0.082 ± 0.012	***	ns	ns
Mg	0.019 ± 0.002	0.019 ± 0.003	0.022 ± 0.004	0.015 ± 0.002	0.018 ± 0.003	0.018 ± 0.002	*	ns	ns
Na	0.005 ± 0.002	0.006 ± 0.002	0.005 ± 0.001	0.008 ± 0.002	0.009 ± 0.002	0.009 ± 0.002	***	ns	ns
Microelements (ng/g DW)									
Fe	941.8 ± 377.3	942.7 ± 177.8	648.8 ± 116.2	570.4 ± 96.6	590.3 ± 170.8	511.5 ± 121.9	**	ns	ns
Al	394.0 ± 106.9	391.4 ± 67.2	364.3 ± 57.1	345.8 ± 100.5	443.7 ± 76.9	401.2 ± 109.1	ns	ns	ns
Mn	63.5 ± 14.5	61.0 ± 22.1	99.4 ± 27.0	33.0 ± 7.7	34.8 ± 8.6	52.0 ± 24.0	***	**	ns
Cu	19.8 ± 6.9	19.4 ± 4.8	18.4 ± 3.6	13.8 ± 0.5	16.2 ± 1.9	17.4 ± 3.9	*	ns	ns
Zn	16.5 ± 5.9	19.0 ± 6.9	19.6 ± 5.6	14.4 ± 3.3	12.8 ± 0.8	21.2 ± 8.2	ns	ns	ns
B	29.4 ± 3.1	36.8 ± 6.1	40.3 ± 3.9	24.2 ± 1.9	30.2 ± 5.9	27.8 ± 3.7	*	**	ns

CS/RGM and CS/1103P respectively). The three N treatments permitted the increase in biomass of all compartments from 0 to 60 dpt for both CS/RGM and CS/1103P (Table 2). The biomass of all compartments was significantly affected by both the rootstock genotype and the N supply at 60 dpt (Table 3.2). CS/1103P plants showed a higher biomass of each of the compartments than CS/RGM plants whatever the N treatment. In response to the high N treatment, both rootstocks increased their total, leaf, stem and root biomass (Table 2), and decreased their root:shoot ratio (Fig. 3.2). The decrease in root:shoot ratio under the high N treatment was more considerable in the combination CS/RGM than CS/1103P (Fig. 2).

ROOTSTOCK GENOTYPE AND N SUPPLY AFFECT THE ACCUMULATION OF THE MINERALS WITHIN THE GRAFTED PLANT

Mineral composition of leaves and roots of both scion/rootstock combinations was measured at 60 dpt (Table 3.3). In the roots, N, P, Ca, Mg, Fe, Mn, Cu and B concentrations were higher in CS/RGM than in CS/1103P, whereas Na concentration was higher in CS/1103P. No differences between the two combinations could be detected in S, Mg, Al and Zn concentration in the roots (Table 3.3). Only the root concentrations of Mn and B were affected by the N treatments, both increased with increasing N supply in both scion/rootstock combinations (Table 3.3).

In the leaves, P, K, S, Mg, Fe, Al, Mn, Cu and B were significantly more concentrated in CS/1103P than in CS/RGM (Table 3.3). However, no difference in N content was detected between the scion/rootstock combinations. Compared to the roots, N treatment had a strong effect on leaf mineral composition and an increase in N supply led to a strong increase in N content (Table 3.3). This increase was accompanied by the decrease in Fe and Cu in both scion/rootstock combinations, whereas the decrease in the concentrations of Al and Zn was more sensitive to N supply in CS/RGM than in CS/1103P. Interestingly, the two combinations had opposite responses to N supply increase in terms of P accumulation: P concentration decreased in CS/1103P while it increased in CS/RGM (Table 3.3).

In order to visualize differences in the general pattern of mineral concentration in the two scion/rootstock combinations in response to N supply, the data are presented in a heatmap (Fig. 3.3). The heatmap representation highlights that the rootstock genotype affected the general pattern of mineral accumulation: plants grafted upon RGM accumulated more minerals in the roots than those grafted upon 1103P and, on the contrary, CS/1103P accumulated more minerals in the leaves than CS/RGM.

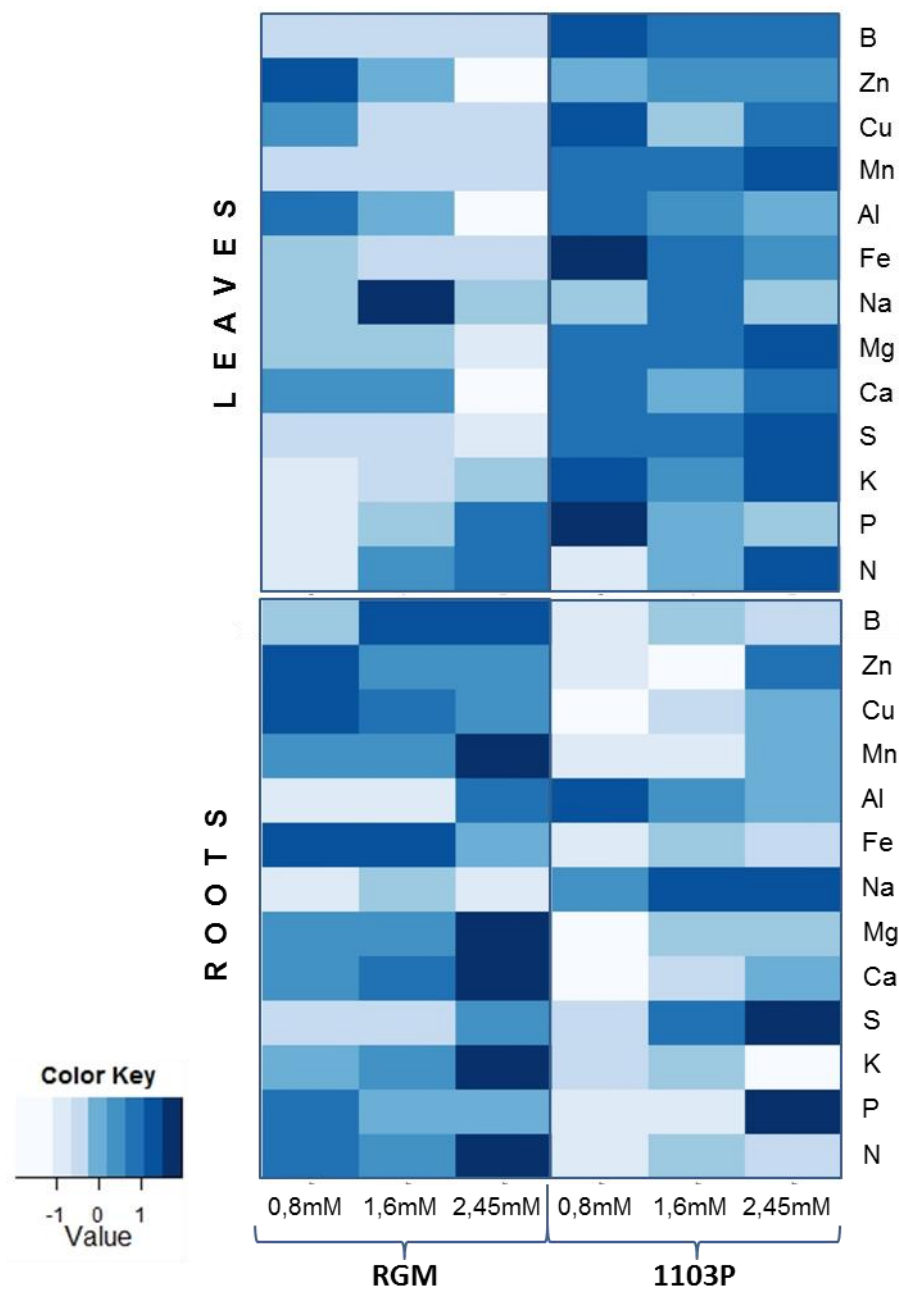


Figure 3.3: Mineral concentration in leaves (a) and roots (b) of the two combinations (CS/RGM and CS/1103P) in response to three N treatments (0.8, 1.6 and 2.45mM KNO_3). Concentrations are means of 5 replicates normalized by compartment and visualized as heat maps.

MINERAL CONTENTS SHOW DIFFERENT DEGREES OF INTER-CONNECTIVITY IN RESPONSE TO N SUPPLY IN GRAFTED GRAPEVINE

As the modification of the N supply altered the accumulation of other minerals in the plant a correlation network was constructed to visualize potential interactions for both tissue compartments and rootstock genotypes (Fig. 3.4). The rootstock genotype affected the mineral network connection patterns in the leaves and in the roots; patterns varied qualitatively (presence or absence of a mineral-mineral correlation) and quantitatively (significance of the correlation). In the root compartment, only positive correlations were found between almost all the elements in CS/RGM and CS/1103P (Fig. 3.4). In spite of the strong correlations between Na and many other elements in CS/RGM, Na concentration in the roots was not correlated with any other mineral in CS/1103P. In the leaves, several mineral concentrations were positively correlated in the two combinations. Interestingly, N concentration in the leaves was the only node that showed negative correlations; in the two scion/rootstock combinations, N concentration was negatively correlated with Al. The number of nodes in the network gives an indication of how the mineral concentrations are connected to one another. In the leaves, the number of nodes was almost the same in the two combinations (22 in CS/RGM and 23 in CS/1103P), but in the roots, plants grafted upon RGM showed an increased number of nodes (37) compared to those grafted upon 1103P (25).

DISCUSSION

The objective of this work was to gain insights into rootstock control of scion vigor and biomass allocation in grapevine. Because both rootstocks and plant N status are known to alter scion vigor and biomass allocation between the shoot and the root, we focused on the role of N supply and tissue mineral composition in rootstock-mediated growth control. In grapevine, scion vigor is generally quantified in terms of cane pruning weight at the end of the growing season, yield or the ratio between cane pruning weight and yield (Ollat *et al.*, 2003), therefore in this work we evaluated scion vigor in terms of stem biomass. In the one-year old grafted plants used in this study, the rootstocks RGM and 1103P decreased and increased scion vigor or stem biomass respectively. This is in agreement with previous reports on the effects of these rootstocks both in young grafted grapevines (Cookson *et al.*, 2012) and in mature plants in the vineyard (May, 1994). The vigor reducing effect of RGM is probably not due to graft incompatibility because CS/RGM plants are frequently used in viticulture and survive many decades in the vineyard.

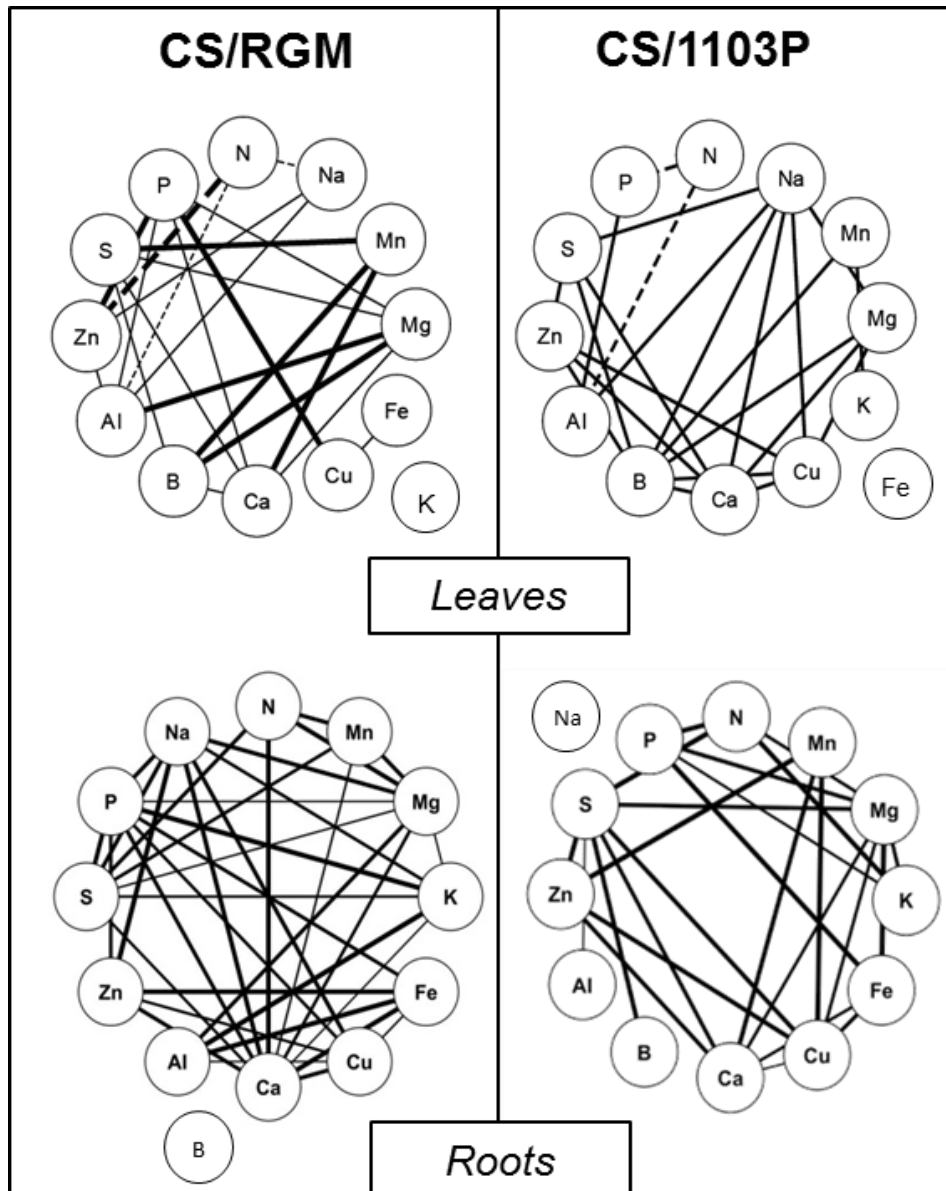


Fig. 3.4 Correlation wheels of the mineral–mineral interactions in CS/RGM and CS/1103P. Significant positive partial correlations are indicated using a solid line between two minerals, while significant negative partial correlations are represented using a dashed line. Line width indicates the significance of the correlation: thicker lines indicate higher significance.

The root:shoot ratio was higher in the combination CS/RGM than CS/1103P at 60 dpt in the low N treatment. This suggests that the control of root:shoot ratio is altered in these scion/rootstock combinations. Root:shoot ratio is known to be controlled by many environmental factors such as light, temperature, water supply and mineral nutrition (Poorter *et al.*, 2012), but mineral nutrition has the greatest impact on root:shoot ratio. An increase in root:shoot ratio is generally associated with root mineral nutrient foraging behavior under nutrient limiting conditions. In this study, root:shoot ratio increased in response to decreasing N supply in both scion/rootstock combinations. This typical response of plants to variations in N status has been previously shown in grapevine (e.g.(Grechi *et al.*, 2007; Keller and Koblet, 1995)). However, the rootstock genotype affected this response, the decrease in root:shoot ratio in response to N supply in the combination CS/RGM was more pronounced than in CS/1103P, suggesting that N status of CS/RGM was lower than that of CS/1103P for the same N supply.

The concentration of N in the leaves increased with increasing N supply and was not affected by the rootstock genotype. In contrast, increasing N supply had no effect on root N concentration, but there was a significant rootstock effect on root N concentration. In agreement with previous studies (Scheible *et al.*, 1997b), it seems that N supply alters shoot N status rather than root N status..

The N treatments had no significant effect on the concentration of macroelements (except leaf N), but affected the concentration of some microelements. The concentration of Fe and Cu in the leaves decreased with increasing N supply in both scion/rootstock combinations. N and Fe metabolisms are closely linked; Fe is a cofactor for several enzymes of the nitrate reduction pathway, such as nitrate reductase, nitrite reductase and glutamate synthase (e.g. (Borlotti *et al.*, 2012)). Furthermore, high nitrate concentrations can induce Fe deficiency potentially via increased apoplastic pH and, as a consequence, the immobilization of iron and/or lower FeIII reduction (Nikolic *et al.*, 2007; Smolders *et al.*, 1997). The effect of N on Cu nutrition has been considerably less well studied, however our data is consistent with the study of Kumar *et al.* (1990) on wheat. Increasing N supply decreased Al concentration in the leaves in both scion/rootstock combinations, but the extent of the decrease depended upon the rootstock genotype; the decrease was more important in CS/RGM. The relationship has already been observed in tea leaves (Owuor and Cheruiyot, 1989) but remains poorly documented. The decrease in leaf Zn concentration in response to an increase of N supply was only observed in CS/RGM; although this is not in agreement with published work done on monocots (Erenoglu

et al., 2011; Kutman *et al.*, 2010; Xue *et al.*, 2012), we do not have an explanation for this discrepancy.

N supply increase had virtually the same effect on root mineral concentration in the two scion/rootstock combinations studied. Only root Mn and B concentrations were affected by N treatment, both increased in response to increasing N supply in both scion/rootstock combinations. B deficiency is associated with many physiological changes including inhibition of apical and extension growth (Brown *et al.*, 2002). In non-leguminous plants, there are several reports on the possible involvement of B in N assimilation. In plants with adequate B levels, increasing B supply was associated with increased N assimilation probably due to the increase in the *de novo* synthesis of nitrate reductase or the facilitation of nitrate absorption (Ruiz *et al.*, 1998). The opposite has been observed in B deficient plants ((Camacho-Cristóbal *et al.*, 2008) and references therein). Brown *et al.* (2002) suggested that most of the changes induced by B deficiency can be explained by the role of B on membrane stability or function. However, to our knowledge, this study shows for the first time an effect of N supply on B concentration in roots. Interestingly, this effect appears different in both scion/rootstock combinations as B content is unrelated to any of the other minerals in CS/RGM roots. Mn plays an important role in many metabolic reactions, particularly in photosynthesis as it participates in the structure of photosynthetic proteins and enzymes (Millaleo *et al.*, 2010). Mn generally tends to accumulate more in the plant shoots than in the roots, as was the case in both scion/rootstock combinations studied here.

Leaf P is the only mineral that showed a contrasted accumulation pattern between the two scion/rootstock combinations: with increasing N supply, leaf P concentration increased in CS/RGM and decreased in CS/1103P. We can hypothesize that CS/1103P and CS/RGM differences in terms of response to N supply could be partly explained by their contrasted patterns of P concentration. In other words, CS/1103P could maintain growth in response to a N supply decrease thanks to an increase in P concentration in the leaves. Schreiner *et al.* (2013) have recently studied N supply effect on leaf N, P and K concentration on own-rooted grapevine (*V. vinifera* cv. Pinot Noir). The authors also noted an increase of P concentration in response to N supply decrease, in agreement with our observations on CS/1103P. However, the response of CS/RGM suggests that there is some degree of genotypic variability for this trait in grafted grapevine. N fertilization is known to affect P uptake and accumulation in other species; however this appears to depend upon the species studied, the duration of the N supply treatment and the P concentration in the nutrient solution (Schluter *et al.*, 2012; Tschoep *et al.*, 2009; Urbanczyk-Wochniak and Fernie, 2005). N deficiency alters the

expression of numerous regulators of phosphate homeostasis (Schluter *et al.*, 2012), and there are many common gene expression responses in short-term N and P deficiency treatments (Morcuende *et al.*, 2007). In *Arabidopsis*, the molecular basis of the interconnection between P and N metabolisms has been shown to involve the E3 ligase *NITROGEN LIMITATION ADAPTATION (NLA)* and the low phosphate induced microRNA mi827 (Kant *et al.*, 2011). If a similar interaction exists in grapevine, the different responses of leaf P concentration to N supply in the two scion/rootstock combinations could be related to genotypic differences in the control of *NLA* by mi827.

The correlation networks show that mineral concentrations are highly interconnected in both leaves and roots. N supply was used as a factor of environmental variation yet surprisingly N content was not strongly correlated to other minerals, particularly in the leaves. Rootstock genotype altered the correlations between the different minerals in the leaf, but number of nodes remained unchanged. Fe was not correlated with any mineral in the leaves of CS/1103P, whereas K was not correlated to any mineral in the leaves of CS/RGM. In the roots of CS/RGM there were many more correlations between the different minerals than CS/1103P and in both combinations all the correlations were positive. The higher degree of connectivity in the concentrations of minerals in the roots of CS/RGM compared to CS/1103P suggests that there is stronger common regulation of the control of the concentration of the different minerals. This then suggests that CS/RGM would be more sensitive to a perturbation in the concentrations of one mineral element than CS/1103P.

In conclusion, the increased scion vigor (stem biomass) of CS/1103P was associated with high concentrations of minerals in the leaves in comparison with CS/RGM, supporting our hypothesis. The root:shoot ratio was also affected by the rootstock genotype, CS/1103P allocated less biomass to root growth and had lower root mineral concentration than CS/RGM. This suggests that the growth of the roots and shoots of grafted grapevine was associated with tissue mineral content. The low vigor combination CS/RGM was more sensitive to N supply than the vigorous CS/1103P, suggesting the responses to mineral supply are important in rootstock conferred vigor. In addition, the high degree of connectivity in the correlation wheel of the roots of CS/RGM suggests that this genotype may also be more sensitive to the perturbation of mineral nutrition.

CHAPITRE 4

Vers un modèle mécaniste des flux azotés et carbonés au sein des parties aériennes et racinaires d'une vigne greffée.

INTRODUCTION ET OBJECTIFS

L'analyse bibliographique et les résultats présentés dans les chapitres précédents révèlent la forte coordination entre les parties racinaires et les parties aériennes de la plante et l'importance de la composante azotée dans le déterminisme de la vigueur conférée chez la vigne, au stade végétatif. Le nombre et la complexité des mécanismes physiologiques à l'origine de l'établissement de ces équilibres obligent à développer une démarche de biologie intégrative afin d'identifier et de hiérarchiser les processus majeurs liés à l'acquisition et la répartition endogène des ressources trophiques dans la plante. L'objectif de ce chapitre est de proposer le schéma d'un modèle écophysologique capable de simuler la dynamique journalière des flux C et N au sein de compartiments (feuilles, tiges, racines) d'une vigne greffée en croissance, et sa plasticité en fonction de la disponibilité en nitrate. L'hypothèse de ce modèle est que les dynamiques de N dans la plante sont modifiées par le génotype du porte-greffe, ce qui a pour conséquence de moduler l'allocation de biomasse entre les compartiments aérien et racinaire au sein de la plante greffée. Le modèle présenté dans ce chapitre a été implémenté avec le logiciel R. La démarche de modélisation a fait l'objet d'une présentation affichée lors du colloque EPSO/FESPB Plant Biology Congress Freiburg 2012 (Best Poster Award).

DESCRIPTION DU MODELE

CADRE CONCEPTUEL ET APPROCHE DE MODELISATION

Le développement d'un modèle simplifié simulant à un pas de temps journalier les relations trophiques chez la vigne greffée et plus particulièrement, la répartition des ressources carbonées et azotées au sein de deux compartiments en fonction de variables environnementales (N, PAR), a été entrepris sur la base de modèles existants (Vivin *et al.*,

2001). Le modèle proposé est de type mécaniste (source-puits), ce qui permet d'identifier parmi les processus élémentaires formalisés des paramètres et des variables génétiques liés au compartiment aérien (greffon) et racinaire (porte-greffe). L'approche 'source-puits' présente le meilleur compromis entre la facilité d'utilisation et le niveau de complexité minimal nécessaire à notre problématique, par rapport à des approches de modélisation de type 'structure-fonction' (Pallas, 2009). Les processus de contrôle et de feedback des mécanismes physiologiques d'absorption de N et de fixation de C, fondamentaux dans l'établissement des équilibres fonctionnels de la plante, sont pris en compte par des formalismes mathématiques propres, simulant ainsi un effet signalétique du statut trophique endogène de la plante sur ses activités source. Dans cette première version du modèle, la priorité a été volontairement donnée à la représentation explicite des mécanismes majeurs liés à l'acquisition et à la répartition des ressources entre partie aérienne et racinaire ainsi que leur régulation par des signaux internes; au détriment d'un certain nombre d'autres processus physiologiques importants pour la croissance et le développement d'une plante (*i.e.* organogénèse, morphologie du système racinaire, architecture 3D du couvert, transport des assimilats, gestion des réserves, coûts énergétiques,...), qu'il conviendrait éventuellement de mobiliser dans une version plus intégrée du modèle.

L'analyse bibliographique montre que le N mobile peut être considéré comme faisant partie d'un pool commun à toutes les entités de la plante. Le pool de N est alimenté par l'absorption et la remobilisation de l'azote. L'absorption d'azote est simulée grâce au formalisme développé dans le modèle GRAAL CN chez le maïs repris ensuite dans le modèle NEMA pour le blé (Bertheloot *et al.*, 2011; Drouet and Pagès, 2007). Dans ces modèles, l'absorption d'azote est modélisée grâce à des formalismes mécanistes qui simulent l'activité des deux types de systèmes de transport de nitrate, les HATS et LATS (Siddiqi *et al.*, 1990). Une adaptation du formalisme doit cependant être effectuée, l'absorption d'azote dans GRAAL CN est modulée par le diamètre racinaire, en contradiction avec des résultats obtenus chez la vigne (Volder *et al.*, 2004). L'inhibition de l'activité des transporteurs HATS et LATS par la quantité d'azote endogène présente dans le pool de N et la régulation positive exercée par les sucres solubles est simulée, en accord avec la littérature (Cárdenas-Navarro *et al.*, 1999; Gojon *et al.*, 2009; Touraine *et al.*, 2001).

Le module de simulation de la fixation de carbone est basé sur le modèle de photosynthèse proposé par Thornley (Thornley, 1976; Thornley, 1998) modifié dans le but de rendre compte de l'effet de la concentration foliaire en azote sur l'activité photosynthétique comme décrit

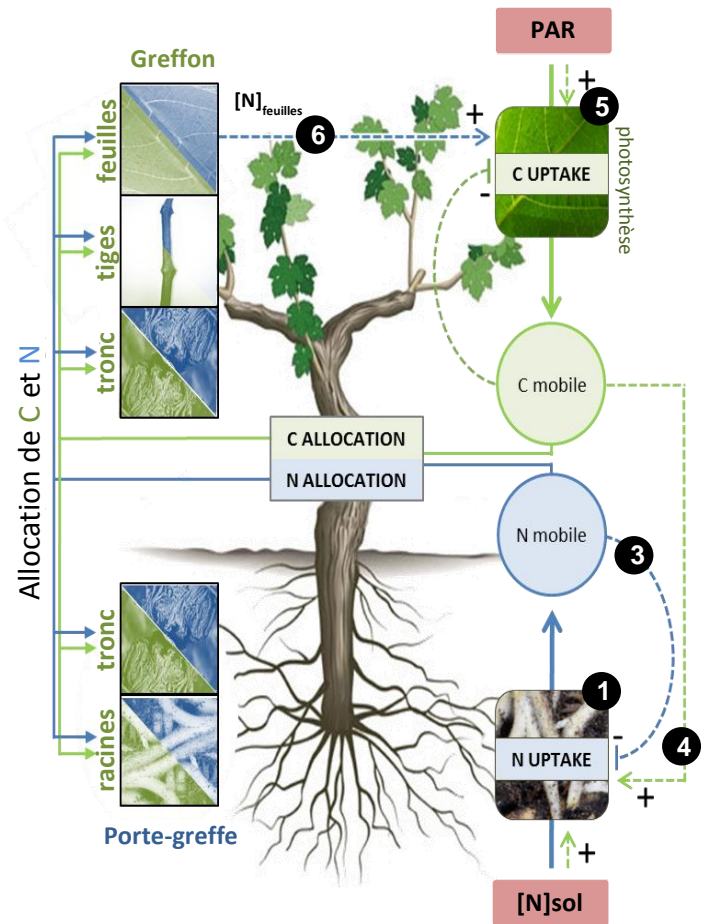


Figure 4.1: Représentation schématique du fonctionnement du modèle. Les flux de **N** et de **C** sont représentés par les traits pleins, les processus de régulation en hachuré. Les numéros correspondent aux numéros des équations présentées dans ce chapitre.

chez la vigne (Chen and Cheng, 2003). La concentration en N dans les feuilles est donc associée à l'activité de l'appareil photosynthétique qui est directement modulée par la quantité de lumière interceptée par le compartiment foliaire. Le carbone fixé par activité photosynthétique nourrit un pool commun de carbone qui est intégralement ou partiellement distribué au temps t+1 entre le compartiment aérien et racinaire, selon la demande de carbone pour la croissance au temps t.

FORMALISMES MATHÉMATIQUES

Le modèle conceptuel de fonctionnement d'une plante greffée est présenté (figure 4.1). Les différents formalismes présentés simulent l'absorption d'azote, la fixation de carbone, et la répartition entre deux compartiments racinaire et aérien.

ABSORPTION DE L'AZOTE MINÉRAL

L'acquisition d'azote U_N (gN j^{-1}) est modélisée par le produit de la vitesse d'absorption de N par unité de masse sèche racinaire U_r ($\text{g.j}^{-1}.\text{g}^{-1}$ de racine) et de la masse sèche du compartiment racinaire MS_r (g) (équation 1). U_r traduit l'activité des transporteurs haute (HATS) et faible affinité (LATS) de nitrate et suit une cinétique de type michaelienne en réponse à la concentration en azote du substrat $[N_{sol}]$ (g.l^{-1}), U_{max} est égal à la vitesse d'absorption à concentration en nitrate saturante ($\text{g.g}^{-1}.\text{s}^{-1}$), k_m et k_r sont deux constantes. Cette activité est régulée par deux fonctions : ε_c qui traduit l'effet positif des sucres solubles et ε_n l'effet négatif de l'azote circulant, sur l'absorption du nitrate du sol par les racines.

$$U_N = \varepsilon_N \cdot \varepsilon_C \cdot U_r \cdot MS_r \quad (1)$$

$$U_{r(t)} = \frac{U_{max} \cdot \Delta_t \cdot [N_{sol}]}{k_m + [N_{sol}]} + (k_r \cdot \Delta_t \cdot [N_{sol}]) \quad (2)$$

$$\varepsilon_{N(t)} = e^{-\beta_N \cdot [N_{mobile}(t)]} \quad (3)$$

$$\varepsilon_{C(t)} = e^{-\beta_C \cdot [C_{mobile}(t)]} \quad (4)$$

FIXATION DU CARBONE

La fixation de carbone par photosynthèse U_c (gC j^{-1}) est estimée selon le formalisme décrit par Thornley (1976, équation 5), avec PAR ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la quantité de photons photosynthétiquement actifs ; P_N ($\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$), l'activité de photosynthèse à lumière saturante ; α ($\mu\text{mol CO}_2 \mu\text{mol PAR}^{-1}$), l'efficacité photosynthétique ; LA (m^2), la surface

foliaire et f_c , un facteur de conversion ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ s}^{-1}$ en g C j^{-1}).

$$U_{C(t)} = \frac{P_{N(t)} \cdot \alpha \cdot PAR(t)}{P_{N(t)} + (\alpha \cdot PAR(t))} \cdot LA \cdot f_c \quad (5)$$

Des travaux ont montré que l'activité photosynthétique à lumière saturante (P_N) de la vigne était modulée par la nutrition azotée à travers la concentration foliaire en N (Chen and Cheng, 2003). Un formalisme traduisant cette régulation a été mis au point et rend compte de l'évolution de P_N en fonction de la concentration en azote selon une loi logistique, avec P_{max} l'activité photosynthétique maximale, k un paramètre et $[N_{feuille}]$ (g.g^{-1}) la concentration en azote de la feuille (équation 6).

$$P_{N(t)} = \frac{P_{max} \cdot [N_{leaf}(t)]}{k + [N_{leaf}(t)]} \quad (6)$$

L'azote absorbé et le carbone fixé (g par jour) remplissent un pool commun de N et de C mobiles. Ce pool commun non localisé, qui représente le carbone ou l'azote circulant dans la plante, alimente les différents compartiments de la plante et représente l'offre de biomasse disponible pour la croissance.

DEFINITION DE LA DEMANDE EN N ET C ET REPARTITION DE L'OFFRE

La demande journalière en N du compartiment aérien DN_{shoot} (gN j^{-1}) est une variable d'entrée du modèle obtenue à partir des jeux de données ($DN_{shoot.min}$) et modulée par l'accumulation de N dans le pool N mobile. Elle est calculée selon l'équation suivante :

$$DN_{shoot} = DN_{shoot.min} + k_{DN_{shoot}} \cdot (1 - \varepsilon_{N(t)}) \quad (7)$$

De façon similaire, la demande journalière en N pour la croissance du compartiment racinaire est stimulée par l'accumulation de C dans le pool mobile et réprimée par l'accumulation de N dans les racines. Elle est calculée selon l'équation suivante :

$$DN_{racines}(t) = DN_{racines.min} + k_{DN_{racines}} \cdot \varepsilon_C(t) \cdot \varepsilon_N(t) \quad (8)$$

La demande journalière en carbone DC_{shoot} (gC j^{-1}) est définie comme proportionnelle à la demande en N, en faisant l'hypothèse que le rapport C/N, défini pour chaque organe, ne varie pas au cours du développement :

$$DC_{shoot(t)} = DN_{shoot(t)} \cdot k_{CN_{shoot}} \quad (9)$$

$$DC_{root(t)} = DN_{root(t)} \cdot k_{CN_{root}} \quad (10)$$

L'azote et le carbone sont répartis dans les organes selon un modèle proportionnel. Si l'offre (Q_{plante}) est supérieure ou égale à la demande totale de la plante (D_{plante}), l'apport à

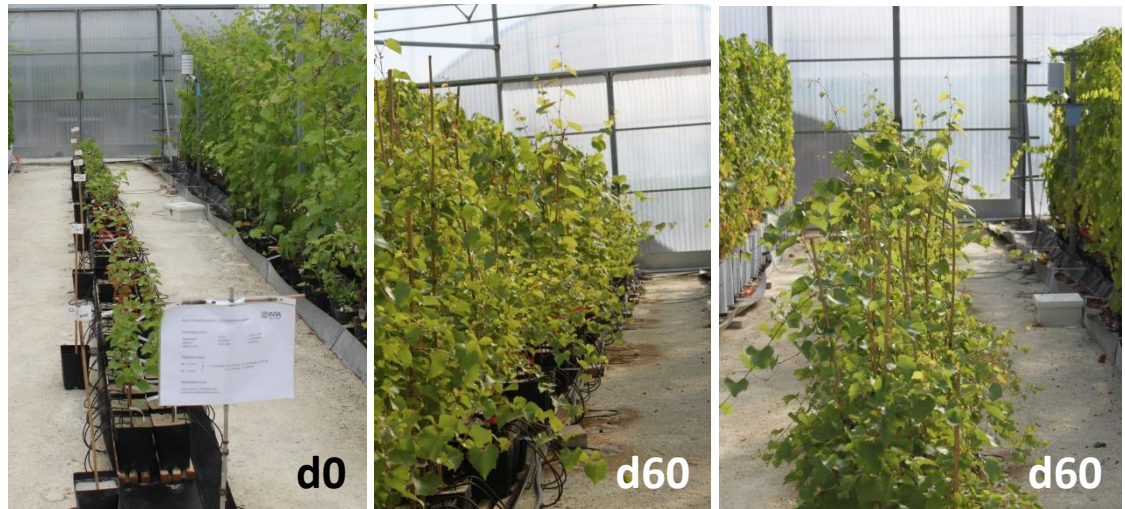


Figure 4.2 : Expérimentation menée en Aout 2013 pour la calibration du modèle, photographies à t0 et t60

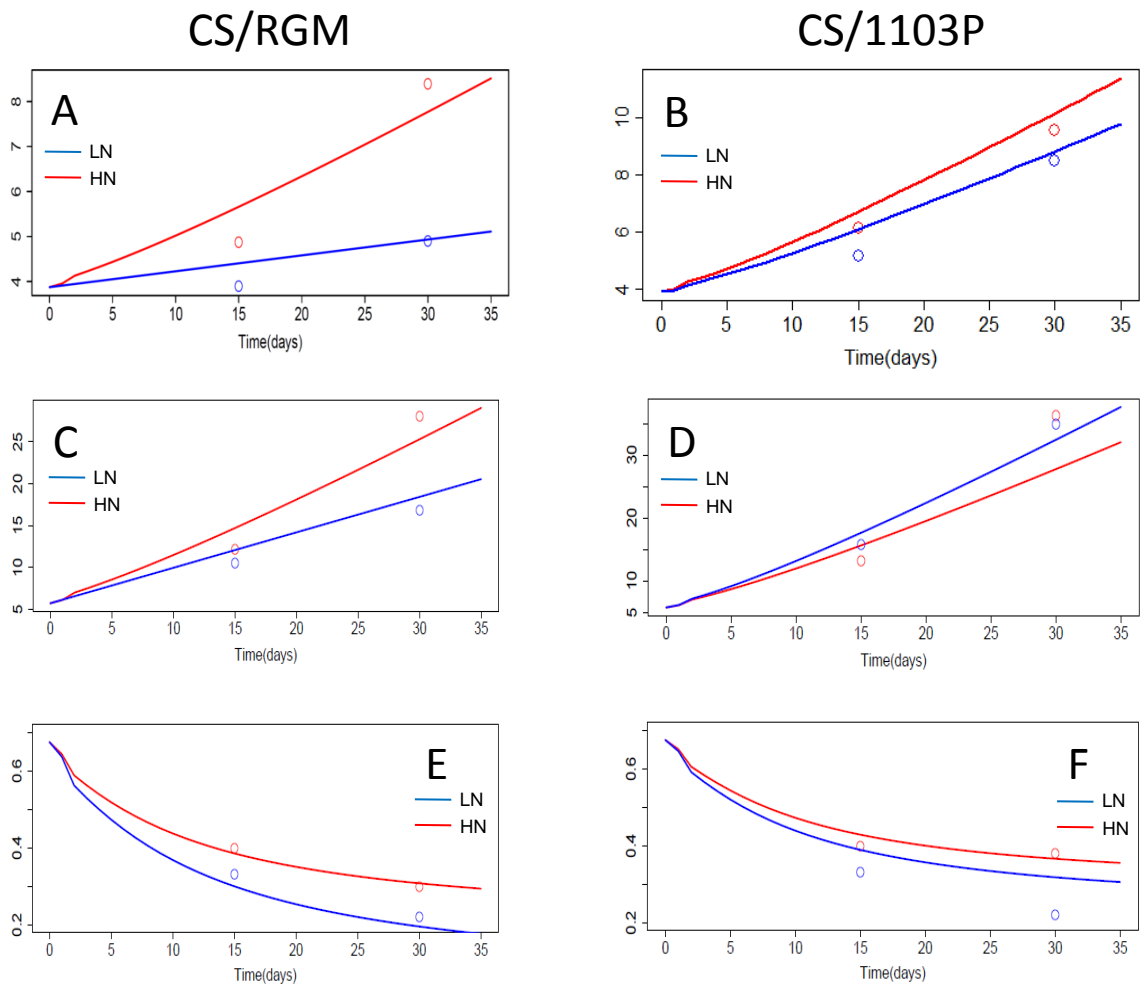


Figure 4.3 : Evolution de la biomasse (g) racinaire (A,B), des tiges feuillées (C,D) et du rapport root:shoot (E,F), chez CS/RGM (A,C,E) et CS/1103P (B,D,F) en fonction du temps et des traitements azotés LN et HN. Les valeurs observées sont représentées par les cercles, les valeurs simulées par les lignes.

chaque compartiment sera égal à sa demande, le surplus de N et de C restant dans le pool mobile. En revanche, si la demande est supérieure à l'offre, chaque compartiment recevra proportionnellement à sa demande ce que l'offre peut apporter.

$$Q_{plante_{N,C}(t)} = \text{minimum} (D_{plante_{N,C}(t)}, pool_{N,C}(t)) \quad (11)$$

$$Q_{racines_{N,C}(t)} = Q_{plante_{N,C}(t)} \times \left(\frac{D_{racines_{N,C}(t)}}{D_{plante_{N,C}(t)}} \right) \quad (12)$$

$$Q_{shoot_{N,C}(t)} = Q_{plante_{N,C}(t)} \times \left(\frac{D_{shoot_{N,C}(t)}}{D_{plante_{N,C}(t)}} \right) \quad (13)$$

PARAMETRISATION ET SORTIES DU MODELE

Les paramètres du modèle sont issus soit de la bibliographie ou soit de résultats obtenus dans nos expérimentations. La modélisation de la croissance de plantes greffées requiert l'acquisition de paramètres propres aux génotypes des porte-greffes et du greffon. Pour ce faire, il est nécessaire de mener des études portant sur la croissance et l'acquisition de N des génotypes cultivés en homogreffe. Une expérimentation a été réalisée dans ce but en 2012 : le cépage Cabernet Sauvignon et les porte-greffes RGM et 1103P ont été greffés deux à deux de telle sorte à créer toutes combinaisons possibles d'homo et hétérogreffes (soit 9 possibilités) : CS/CS, CS/RGM, CS/1103P, RGM/RGM, RGM/CS, RGM/1103P ; 1103P/1103P ; 1103P/RGM et 1103P/CS. Les plantes ont été cultivées 30 jours en pots, en plein air mais le matériel végétal a été détruit par une invasion parasitaire (Thysanoptera). Une nouvelle expérimentation a donc été lancée en 2013 s'est achevée à la fin du mois d'Aout 2013 : les 9 combinaisons utilisées dans l'expérience précédemment décrite ont été cultivées en pots pendant 60 jours en serre, divisées en 2 lots de 5 individus par combinaison et fertirrigués respectivement par les solutions LN et HN (figure 4.2). La biomasse des compartiments racines, tronc, tiges et feuilles a été mesurée et la quantité de N dans ces compartiments sera dosée. Les résultats de cette expérimentation sont en cours d'acquisition et ne permettent pas, à l'heure de la rédaction de ce manuscrit, d'être utilisés pour calibrer le modèle.

La calibration du modèle a donc été réalisée uniquement sur 2 combinaisons PG/G à partir des données obtenues lors de l'expérimentation 1 présentées dans le chapitre 1 et les paramètres qui n'ont pu être mesurés ont été estimés par des méthodes d'optimisation (tableau 4.1).

Dans cette première version simplifiée, le modèle reproduit des différences d'accumulation de la biomasse en fonction du génotype virtuel du porte-greffe (CS/RGM vs CS/1103P) et de la disponibilité azotée (HN vs LN) à partir d'un nombre relativement restreint de paramètres. Il

Tableau 4.1 : Paramètres du modèle

Symbole	Définition	Unité	Source
β_c, β_N	Coefficient pour le calcul de l'effet de Npool sur absorption de N	Sans dimension	Drouet et Pages, 2007
kr	Cste Michaelienne pour le calcul de l'activité HATS	g.m^{-3}	Drouet et Pages, 2007
km	Cste Michaelienne pour le calcul de l'activité LATS	$\text{g.m}^{-3}.\text{°C.j}^{-1}$	Drouet et Pages, 2007
Umax	Maximum théorique d'acquisition de N à [Nexterne] saturant	$\text{g.m}^{-3}.\text{°C.j}^{-1}$	Estimé
DNracines.min	Demande minimum en N du compartiment racinaire	g	Estimé
kDNracines	Coefficient pour le calcul de l'effet de Npool la demande racinaire en N	Sans dimension	Estimé
Pmax	Maximum théorique d'acquisition de C à PAR saturant	$\text{g.m}^{-3}.\text{°C.j}^{-1}$	Chen et Cheng, 2003
α	Efficiencie de photosynthèse	g.j^{-1}	Drouet et Pages, 2007
k	Coefficient pour le calcul de l'effet de N aérien sur la photosynthèse	Sans dimension	Chen et Cheng, 2003
DNshoot.min	Demande minimum en N du compartimentaérien	g	Estimé
kDNshoot	Coefficient pour le calcul de l'effet de Npool la demande aérienne en N	Sans dimension	Estimé

permet aussi de rendre compte de la plasticité de l'allocation de biomasse entre les compartiments aérien et racinaire en fonction de la disponibilité en nitrate exogène. Les premières analyses de sensibilité sur les paramètres du modèle ont révélé que dans le modèle, les différences de croissance végétative conférées par le porte-greffe sont très peu dépendantes des paramètres impliqués dans les fonctions d'acquisition du N par les racines mais sont plus sensibles aux paramètres impliqués dans les processus de régulation de l'absorption azotée et de son allocation.

CONCLUSIONS - PERSPECTIVES

Le travail de modélisation entrepris au cours de la thèse a permis de poser les bases d'un modèle mécaniste de répartition des flux de C et N au sein d'une vigne greffée. La version du modèle présentée dans ce chapitre est axée sur la gestion du N absorbé et sur la répartition de N et C contenu dans les pools communs, en réponse à la disponibilité azotée et l'intensité lumineuse. Au regard des résultats expérimentaux, l'implémentation d'un module « réserves » est essentiel à une modélisation plus réaliste des flux de N au sein de la plante en s'inspirant des formalismes de mobilisation et remplissage des réserves utilisés dans de nombreux modèles (Génard *et al.*, 1998; Jones *et al.*, 1974; Lattanzi *et al.*, 2005). Le travail de modélisation a été bloqué par l'absence de données propres à chacun des géotypes utilisés dans nos expérimentations (CS, RGM, 1103P). En effet, l'utilisation de paramètres propres à chacun des partenaires (porte-greffe ou greffon) sont nécessaires à la modélisation de la croissance d'une plante greffée. L'obtention de données sur l'accumulation de N et de biomasse chez les différentes homogreffes en réponse à la disponibilité azotée permettra de calculer la demande en N et C des compartiments aérien et racinaire, sur laquelle repose le modèle. Ainsi la paramétrisation du modèle à partir des données en cours d'acquisition pour l'expérimentation conduite pendant l'été 2013, permettra de paramétrer le modèle avec des valeurs propres aux géotypes utilisés et ainsi de remplacer les valeurs estimées ou issues de la littérature mais aussi d'estimer les paramètres des formalismes simulant la régulation de l'allocation et l'acquisition de C et N plus précisément. A plus long terme, la discrétisation de chacun des compartiments à l'échelle du phytomère est une perspective intéressante pour l'étude du lien entre la structure et la fonction de chacun des compartiments.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Ce travail de thèse a été réalisé au sein de l'équipe « interactions porte-greffe / greffon » de l'UMR Ecophysiologie et Génomique Fonctionnelle de la Vigne. Les travaux de l'équipe visent à mieux comprendre les mécanismes physiologiques qui déterminent la croissance d'une vigne greffée et l'un des objectifs est d'identifier et de modéliser les processus à l'origine de l'accumulation et de l'allocation de la biomasse au sein d'une vigne greffée en réponse à l'environnement (stress hydrique, minéral). Cette thèse est partie intégrante d'un projet cofinancé par le Conseil Interprofessionnel des Vins de Bordeaux (CIVB) et le département Environnement Agronomie de l'INRA qui vise à i.) Etudier les signaux endogènes échangés entre les parties aériennes et racinaires d'une vigne greffée en réponse à la disponibilité externe en azote (hormones, métabolites, petits-ARNs) ; ii.) Caractériser les flux de C et N au sein d'une plante greffée, en réponse à la disponibilité azotée et iii.) Conceptualiser un modèle mécaniste rendant compte de la plasticité de la plante greffée vis à vis des contraintes environnementales (disponibilité en N, en particulier). Même si l'ensemble de ces points a été étudié en collaboration avec des chercheurs de l'unité (P. Vivin, S. Cookson, V. Lauvergeat), le travail de thèse s'est focalisé sur les points ii. et iii. du projet.

L'objectif de thèse, à savoir de déterminer **l'implication de l'azote et plus particulièrement du nitrate dans le déterminisme de la vigueur conférée par le porte-greffe au greffon**, est un sujet d'étude intéressant à la fois pour la communauté scientifique et pour la filière vitivinicole qui fait face au double challenge de l'adaptation de la viticulture aux contraintes climatiques et écologiques futures. La double particularité de la vigne, plante perenne greffée, complexifie l'étude de sa physiologie mais se révèle en même temps être une opportunité d'utiliser ces particularismes comme autant d'atouts dans le cadre des recherches portant sur la communication entre les compartiments aériens et racinaires des végétaux.

Le travail entrepris dans la thèse est original dans la communauté scientifique « vigne » et a pu s'inspirer de nombreux travaux déjà réalisés chez d'autres espèces, tant au niveau des expérimentations de marquage que du travail de modélisation. L'utilisation du marquage isotopique au ^{15}N nitrate pour mesurer à la fois les flux de N et l'absorption chez deux combinaisons porte-greffe / greffon, en réponse à la disponibilité azotée et la formalisation d'un modèle mécaniste simulant ces flux sont des premières dans la communauté vigne.

L'étude des flux de N au sein de la plante à l'aide de la technique du marquage isotopique a révélé la faible implication de l'absorption d'azote dans le contrôle direct de la vigueur conférée par le porte-greffe. Elle a en revanche mis en évidence la forte implication des réserves azotées (acides aminés) et de la composante NRE de la NUE dans l'établissement des différentiels de croissance entre les porte-greffes. Les différences de croissance aérienne induites par les deux génotypes de porte-greffe sont liées d'une part à leur niveau en réserves azotées, à leur capacité à les mobiliser mais aussi d'autre part à leur schéma d'allocation de N et de C au sein de la plante. Ces différences ont été discutées dans les chapitres 1 et 2. De plus, il apparaît que le génotype du porte-greffe a un impact sur l'absorption des différents éléments minéraux et sur les interactions qui existent entre ces éléments minéraux. Ces différences modifient la nutrition du greffon et donc, sa croissance (chapitre 3). Ces résultats sont d'un intérêt majeur dans la recherche d'une gestion optimale de la fertilisation de la vigne greffée mais aussi dans la compréhension du rôle de l'azote dans la coordination du porte-greffe et du greffon.

L'étude de l'accumulation de carbone (chapitre 1) a mis en avant des différences dans le bilan carbone en réponse à la disponibilité azotée. Ce bilan, défavorable à RGM lorsque la concentration en azote externe est diminuée, peut avoir deux explications : une augmentation de la respiration et/ou une diminution de l'activité de photosynthèse pour CS lorsque greffé sur RGM. Ainsi, une étude de l'activité photosynthétique apporterait des indices de perturbation dans la gestion du métabolisme carboné par le génotype du porte-greffe. Au cours de cette thèse, des mesures d'échanges gazeux à l'aide d'un analyseur d'échanges gazeux de type Walz GFS 3000 ont été réalisées. Dans nos conditions expérimentales (en serre, sur une plage de temps de mesure de plusieurs heures), nous avons constaté une forte variabilité biologique dans les mesures effectuées, rendant impossible toute interprétation des résultats obtenus. Nous avons donc mené en 2013, en collaboration avec l'UMR LEG de l'INRA de Dijon, une expérimentation basée sur un double marquage $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ des deux combinaisons modèles soumises une gamme de disponibilité azotée. A l'issue des analyses isotopiques (en cours de réalisation au sein de l'UMR EVA de Caen), cette expérimentation apportera des informations sur la réponse de l'activité photosynthétique et de l'allocation de N et de C au sein des deux combinaisons porte-greffe / greffon, en réponse à la disponibilité azotée.

L'analyse des modifications du transcriptome, en réponse au génotype du porte-greffe et à la disponibilité azotée apporterait des indices pour une meilleure compréhension du jeu de

données obtenu, en particulier concernant l'analyse métabolique et permettrait d'obtenir une description intégrée des mécanismes impliqués dans la réponse à la disponibilité en nitrate dans les racines de deux combinaisons porte-greffe/greffon et d'identifier des gènes présentant une expression différentielle entre les deux génotypes de porte-greffe, en fonction de la disponibilité en nitrate externe. Une étude comparative des transcriptomes des échantillons racinaires prélevés chez les deux combinaisons lors de l'expérimentation 2 par microarrays a été entreprise. Les échantillons ont été récoltés à « court terme » (15 jours) et « long terme » (60 jours) après le début des traitements et sont en cours d'analyse.

Les résultats obtenus suggèrent une forte implication des hormones dans le contrôle de l'allocation de N et de la gestion des réserves au sein de la plante greffée. En collaboration avec le laboratoire de L. Deluc (Université de l'Etat de l'Oregon, USA), le profilage hormonal des échantillons racinaires et foliaires des deux combinaisons porte-greffe / greffon issus de l'expérimentation 2 a été initié et les premières analyses sont en cours de réalisation. Ce profilage procurera d'intéressantes informations sur le déterminisme de la vigueur conférée par le porte-greffe au greffon mais aussi plus largement, d'étudier l'implication des hormones dans la gestion des réserves chez les végétaux. Liée aux résultats issus des résultats des analyses transcriptomiques et métaboliques, l'analyse hormonale des échantillons permettra de mettre à jour les processus de régulation de la croissance et des métabolismes C et N en réponse à la disponibilité externe en nitrate.

L'étude métabolique (chapitre 2) et l'étude des flux (chapitre 1) ont mis en évidence l'importance des réserves présentes au début de l'expérimentation dans l'établissement de la vigueur du greffon. L'étude du contenu en réserves azotées, particulièrement en acides aminés sur une gamme de porte-greffes différant dans la vigueur qu'ils confèrent au greffon permettrait de généraliser ou non cette observation. De plus, l'étude des dynamiques d'accumulation des acides aminés au cours du cycle végétatif apporterait de précieuses informations sur les stratégies développées par les deux porte-greffes vis-à-vis de la contrainte azotée et de la reprise de croissance au printemps. Les différences de concentration en acides aminés entre CS/1103P et CS/RGM à t₀ suggèrent qu'il existe une variabilité génétique liée à la mise en réserve de composés azotés en fin de cycle végétatif. L'étude de la remobilisation des réserves en fin de cycle et de la localisation des réserves au sein des deux combinaisons permettrait de mieux comprendre l'impact du génotype du porte-greffe sur ces processus, d'un intérêt majeur au vignoble, les réserves constituées à l'automne représentant plus de 40%

de l'azote utilisé pour la croissance l'année suivante (Bates *et al.*, 2002; Schreiner *et al.*, 2006; Wermelinger, 1991).

Au cours de cette thèse, les expérimentations ont été réalisées sur deux combinaisons porte-greffe / greffon, représentées par de jeunes plantes non productives, fertirriguées et cultivées en pots avec du sable comme substrat. Face à ces limites certes nécessaires, il serait intéressant de réaliser des expérimentations supplémentaires :

- Les expérimentations ayant été menées avec deux combinaisons modèles, il sera intéressant, à l'issue de l'analyse des résultats hormonaux, transcriptomiques et de double marquage $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$, de réaliser des expérimentations supplémentaires sur d'autres combinaisons, en modifiant à la fois le génotype du porte-greffe mais aussi du greffon afin de vérifier la généralité des résultats obtenus.
- L'utilisation de jeunes plantes non productives pose la question de l'impact de la grappe de raisin sur les équilibres de croissance entre les organes végétatifs. Puits majeur pour l'azote et le carbone (Conradie, 1980), la grappe modifie nécessairement l'allocation de C et N au sein de la plante et influe potentiellement sur l'importance relative de l'absorption et la mobilisation des réserves de la plante greffée. Une étude des flux de N en réponse à la disponibilité azotée sur les deux combinaisons étudiées dans cette thèse mais menée avec des plantes fructifères permettra d'étudier cette question.
- La culture en pot couplée à la fertirrigation entraîne une sous-estimation de l'importance de la prospection racinaire dans la captation de la ressource. Le phénotypage de l'architecture racinaire en réponse au génotype du porte-greffe et à la disponibilité azotée est primordiale dans la compréhension du déterminisme de la gestion de la disponibilité azotée et de la NUE (Xu *et al.*, 2012). L'utilisation de dispositifs en rhizotron permettant un suivi de la dynamique de croissance racinaire dans différentes situations de disponibilité en azote, pourrait être envisagée. Les phénotypes de développement racinaire analysés dans ce type de système contraint, sont généralement représentatifs de l'architecture 3D racinaire (De Smet *et al.*, 2012).
- A terme, la vérification des résultats obtenus sur des plantes cultivées en plein champ permettrait de faire le lien entre les expérimentations réalisées en conditions contrôlées et les conditions rencontrées au vignoble et d'envisager d'utiliser les connaissances accumulées pour identifier des marqueurs de sélection du matériel végétal.

L'analyse bibliographique et les résultats obtenus dans cette thèse montrent combien le phénomène de la vigueur conférée est un processus complexe. L'étude de la coordination et la communication entre les deux génomes composant la plante greffée permettront d'identifier les processus clés du déterminisme de la vigueur conférée et plus largement de l'établissement des équilibres root:shoot chez les végétaux. L'intégration de ces processus dans un modèle écophysologique prenant en compte les relations entre les compartiments aérien et racinaire, les effets de l'environnement et la dimension génétique constituera un outil capital pour prévoir le comportement d'une association porte-greffe / greffon dans un environnement donné. Les premières bases de ce modèle ont été posées lors de cette thèse et la paramétrisation du modèle à l'aide des données acquises lors de l'expérimentation menée avec des homogreffes de CS, RGM et 1103P permettra d'introduire une composante génétique dans le modèle. Cette paramétrisation permettra de savoir si l'on peut prévoir le comportement de l'association de deux génotypes à partir de leurs caractéristiques respectives. Autrement dit, est-il possible de simuler le phénotype d'une plante greffée grâce aux paramètres aériens du greffon et racinaires du porte greffe, ou chaque association de deux génomes entraîne en réalité la création « d'un troisième génotype », avec son comportement propre en réponse à l'environnement. Jusqu'à présent, de nombreuses expérimentations de terrain sont nécessaires pour appréhender ce type de problématique. Sans remplacer totalement l'expérimentation au vignoble, la modélisation est un outil potentiel de décision et d'interprétation des essais sur les porte-greffes.

BIBLIOGRAPHIE

- Agren G, Ingestad I.** 1987. Root:shoot ratio as a balance between nitrogen productivity and photosynthesis. *Plant, Cell and Environment* **10**, 579-586.
- Amtmann A, Armengaud P.** 2009. Effects of N, P, K and S on metabolism: new knowledge gained from multi-level analysis. *Current Opinion in Plant Biology* **12**, 275-283.
- Andrews M, Raven JA, Lea PJ.** 2013. Do plants need nitrate? The mechanisms by which nitrogen form affects plants. *Annals of Applied Biology* **163**, 174-199.
- Bair K, Davenport J, Stevens R.** 2008. Release of available nitrogen after incorporation of a legume cover crop in Concord grape. *Hortscience* **43**, 875-880.
- Bates TR, Dunst RM, Joy P.** 2002. Seasonal dry matter, starch, and nutrient distribution in 'Concord' grapevine roots. *Hortscience* **37**, 313-316.
- Bavaresco L, Fregoni M, Frascini P.** 1991. Investigations on iron uptake and reduction by excised roots of different grapevine rootstocks and a *V. vinifera* cultivar. *Plant and Soil* **130**, 109-113.
- Baxter IR, Vitek O, Lahner B, Muthukumar B, Borghi M, Morrissey J, Guerinot ML, Salt DE.** 2008. The leaf ionome as a multivariable system to detect a plant's physiological status. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **105**, 12081-12086.
- Bell SJ, Henschke PA.** 2005. Implications of nitrogen nutrition for grapes, fermentation and wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **11**, 242-295.
- Bell SJ, Robson A.** 1999. Effect of nitrogen fertilization on growth, canopy density, and yield of *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon. *American Journal of Enology and Viticulture* **50**, 351-358.
- Bertheloot J, Cournede PH, Andrieu B.** 2011. NEMA, a functional-structural model of nitrogen economy within wheat culms after flowering. I. Model description. *Annals of Botany* **108**, 1085-1096.
- Borgognone D, Colla G, Roupheal Y, Cardarelli M, Rea E, Schwarz D.** 2013. Effect of nitrogen form and nutrient solution pH on growth and mineral composition of self-grafted and grafted tomatoes. *Scientia Horticulturae* **149**, 61-69.
- Borlotti A, Vigani G, Graziano Z.** 2012. Iron deficiency affects nitrogen metabolism in cucumber (*Cucumis sativus* L.) plants. *Bmc Plant Biology* **12**:189.
- Bouche N, Fromm H.** 2004. GABA in plants: just a metabolite? *Trends in Plant Science* **9**, 110-115.
- Bouman B, Van Laar H.** 2006. Description and evaluation of the rice growth model ORYZA2000 under nitrogen-limited conditions. *Agricultural Systems* **87**, 249-273.
- Brisson N, Mary B, Ripoche D, Jeuffroy MH, Ruget F, Nicoullaud B, Gate P, Devienne-Barret F, Antonioletti R, Durr C.** 1998. STICS: a generic model for the simulation of crops and their water and nitrogen balances. I. Theory and parameterization applied to wheat and corn. *Agronomie* **18**, 311-346.
- Brown P, Bellaloui N, Wimmer M, Bassil E, Ruiz J, Hu H, Pfeffer H, Dannel F, Römheld V.** 2002. Boron in plant biology. *Plant Biology* **4**, 205-223.
- Camacho-Cristóbal JJ, González-Fontes A.** 1999. Boron deficiency causes a drastic decrease in nitrate content and nitrate reductase activity, and increases the content of carbohydrates in leaves from tobacco plants. *Planta* **209**, 528-536.
- Camacho-Cristóbal JJ, Rexach J, González-Fontes A.** 2008. Boron in plants: deficiency and toxicity. *Journal of Integrative Plant Biology* **50**, 1247-1255.
- Candolfi-Vasconcelos M, Kummer M, Keller M, Easier P, Koblet W.** 1996. Nitrogen response of *Vitis vinifera* Muller Thurgau grafted on 6 different rootstocks: canopy characteristics and leaf gas exchange. *proceedings of the 21st annual meeting of the American Society for Enology and Viticulture: Symposium on Cool Climate Viticulture and Enology, Rochester, NY*, 32-36.
- Cantón FR, Suárez MF, Cánovas FM.** 2005. Molecular aspects of nitrogen mobilization and recycling in trees. *Photosynthesis Research* **83**, 265-278.

- Carboneau A.** 1985. The Early Selection of Grapevine Rootstocks for Resistance to Drought Conditions. *Am. J. Enol. Vitic.* **36**.
- Cárdenas-Navarro R, Adamowicz S, Gojon A, Robin P.** 1999. Modelling nitrate influx in young tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plants. *Journal of Experimental Botany* **50**, 625-635.
- Castangs L, Marchive C, Meyer C, Krapp A.** 2010. Nitrogen signalling in Arabidopsis: how to obtain insights into a complex signalling network. *Journal of Experimental Botany* **62**, 1391-1397.
- Champagnol F.** 1984. *Elements of the physiology of the vine and of general viticulture*: F. Champagnol.
- Chapin FS, Schulze ED, Mooney HA.** 1990. The ecology and economics of storage in plants. *Annual review of ecology and systematics* **21**, 423-447.
- Chardon F, Barthelemy J, Daniel-Vedele F, Masclaux-Daubresse C.** 2010. Natural variation of nitrate uptake and nitrogen use efficiency in Arabidopsis thaliana cultivated with limiting and ample nitrogen supply. *Journal of Experimental Botany* **61**, 2293-2302.
- Chen A.** 2006. An Improved Grafting Technique for Mature Arabidopsis Plants Demonstrates Long-Distance Shoot-to-Root Transport of Phytochelatins in Arabidopsis. *Plant Physiology* **141**, 108-120.
- Chen LS, Cheng LL.** 2003. Carbon assimilation and carbohydrate metabolism of 'Concord' grape (*Vitis labrusca* L.) leaves in response to nitrogen supply (vol 128, pg 754, 2003). *Journal of the American Society for Horticultural Science* **128**, 787-787.
- Choné X.** 2001. Contribution à l'étude des terroirs de Bordeaux : Etude des déficits hydriques modérés, de l'alimentation en azote et de leurs effets sur le potentiel aromatique des raisins de *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon blanc., Université de Bordeaux II, Bordeaux, 188.
- Christensen LP, Bianchi ML, Peacock WL, Hirschfeld DJ.** 1994. Effect of nitrogen fertilizer timing and rate on inorganic nitrogen status, fruit composition, and yield of grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture* **45**, 377-387.
- Christou M, Avramides EJ, Jones DL.** 2006. Dissolved organic nitrogen dynamics in a Mediterranean vineyard soil. *Soil Biology and Biochemistry* **38**, 2265-2277.
- Columella.** 1st century BC. *De Re Rustica*. Vol. Tome 1 Livre 4.
- Conradie WJ.** 1980. Seasonal uptake of nutrients by Chenin Blanc in sand culture. I. Nitrogen. *South African Journal for Enology and Viticulture* **1**, 59-65.
- Conradie WJ.** 1992. Partitioning of nitrogen in grapevines during autumn and the utilisation of nitrogen reserves during the following growing season. *South African Journal of Enology and Viticulture* **13**, 45-51.
- Conradie WJ.** 2001a. Timing of nitrogen fertilisation and the effect of poultry manure on the performance of grapevines on sandy soil. I. Soil analysis, grape yield and vegetative growth. *South African Journal for Enology and Viticulture* **22**, 53-59.
- Conradie WJ.** 2001b. Timing of nitrogen fertilisation and the effect of poultry manure on the performance of grapevines on sandy soil. II. Leaf analysis, juice analysis and wine quality. *South African Journal for Enology and Viticulture* **22**, 60-68.
- Conseil Interprofessionnel des Vins de Bordeaux.** 2010. Memento économique du vin de Bordeaux. **6**.
- Cook A, Lider L.** 1964. Mineral composition of blooming time grape petiole in relation to rootstock and scion variety behavior. In: Science ASfH, ed. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science*: The Society.
- Cookson SJ, Hevin C, Donnart M, Ollat N.** 2012. Grapevine rootstock effects on scion biomass are not associated with large modifications of primary shoot growth under nonlimiting conditions in the first year of growth. *Functional Plant Biology* **39**, 650-660.
- Coruzzi G, Bush DR.** 2001. Nitrogen and carbon nutrient and metabolite signaling in plants. *Plant Physiology* **125**, 61-64.
- Coruzzi GM, Zhou L.** 2001. Carbon and nitrogen sensing and signaling in plants: emerging 'matrix effects'. *Current Opinion in Plant Biology* **4**, 247-253.

- Dai ZW, Leon C, Feil R, Lunn JE, Delrot S, Gomes E.** 2013. Metabolic profiling reveals coordinated switches in primary carbohydrate metabolism in grape berry (*Vitis vinifera* L.), a non-climacteric fleshy fruit. *Journal of Experimental Botany* **64**, 1345-1355.
- De Smet I, White PJ, Bengough AG, Dupuy L, Parizot B, Casimiro I, Heidstra R, Laskowski M, Lepetit M, Hochholdinger F.** 2012. Analyzing lateral root development: how to move forward. *The Plant Cell Online* **24**, 15-20.
- Delas J.** 1992. Criteria used for rootstock selection in France. *Rootstock Seminar: a worldwide perspective: Reno, Nevada, 24 June 1992: proceedings: American Society for Enology and Viticulture, ASEV*, 1-14.
- Delas J.** 2000. *La fertilisation de la vigne: Féret Bordeaux,, France.*
- Delgado R, Martín P, del Álamo M, González MR.** 2004. Changes in the phenolic composition of grape berries during ripening in relation to vineyard nitrogen and potassium fertilisation rates. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **84**, 623-630.
- Diaz C, Lemaître T, Christ A, Azzopardi M, Kato Y, Sato F, Morot-Gaudry J-F, Le Dily F, Masclaux-Daubresse C.** 2008. Nitrogen recycling and remobilization are differentially controlled by leaf senescence and development stage in Arabidopsis under low nitrogen nutrition. *Plant Physiology* **147**, 1437-1449.
- Dodd I, Tan L, He J.** 2003. Do increases in xylem sap pH and/or ABA concentration mediate stomatal closure following nitrate deprivation? *Journal of Experimental Botany* **54**, 1281-1288.
- Doddema H, Telkamp G.** 1979. Uptake of nitrate by mutants of Arabidopsis thaliana, disturbed in uptake or reduction of nitrate. *Physiologia Plantarum* **45**, 332-338.
- Drew M.** 1975. Comparison of the effects of a localised supply of phosphate, nitrate, ammonium and potassium on the growth of the seminal root system, and the shoot, in barley. *New Phytologist* **75**, 479-490.
- Drouet J-L, Pagès L.** 2007. GRAAL-CN: A model of GRowth, Architecture and ALlocation for Carbon and Nitrogen dynamics within whole plants formalised at the organ level. *Ecological Modelling* **206**, 231-249.
- Drouet JL, Pagès L.** 2003. GRAAL: a model of GRowth, Architecture and carbon ALlocation during the vegetative phase of the whole maize plant. *Ecological Modelling* **165**, 147-173.
- Duchêne E, Huard F, Dumas V, Schneider C, Merdinoglu D.** 2010. The challenge of adapting grapevine varieties to climate change. *Climate Research* **41**, 193.
- Düring H.** 1994. Photosynthesis of Ungrafted and Grafted Grapevines: Effects of Rootstock Genotype and Plant Age. *Am. J. Enol. Vitic.* **45**.
- Dutilleul C, Lelarge C, Prioul J-L, De Paepe R, Foyer CH, Noctor G.** 2005. Mitochondria-driven changes in leaf NAD status exert a crucial influence on the control of nitrate assimilation and the integration of carbon and nitrogen metabolism. *Plant Physiology* **139**, 64-78.
- Emery NRJ, Longnecker NE, Atkins CA.** 1998. Branch development in *Lupinus angustifolius* L. II. Relationship with endogenous ABA, IAA and cytokinins in axillary and main stem buds. *Journal of Experimental Botany* **49**, 555-562.
- Epstein E.** 1953. Mechanism of ion absorption by roots. *Nature* **171**, 83-84.
- Epstein E.** 1966. Dual pattern of ion absorption by plant cells and by plants. *Nature* **212**, 1324-1327.
- Epstein E, Rains D, Elzam O.** 1963. Resolution of dual mechanisms of potassium absorption by barley roots. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **49**, 684.
- Erenoglu EB, Kutman UB, Ceylan Y, Yildiz B, Cakmak I.** 2011. Improved nitrogen nutrition enhances root uptake, root-to-shoot translocation and remobilization of zinc (65Zn) in wheat. *New Phytologist* **189**, 438-448.
- Evans GC.** 1972. *The quantitative analysis of plant growth:* Univ of California Press.
- Evans JR.** 1989. Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves of C-3 plants. *Oecologia* **78**, 9-19.
- Ezzahouani A, Williams LE.** 1995. The influence of rootstock on leaf water potential, yield, and berry composition of Ruby Seedless grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture* **46**, 559-563.

- Fallahi E, Rodney DR.** 1992. Tree Size, Yield, Fruit Quality, and Leaf Mineral Nutrient Concentration of 'Fairchild' Mandarin on Six Rootstock. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **117**, 28-31.
- Ferrari G.** 2002. Influence of must nitrogen composition on wine and spirit quality and relation with aromatic composition and defects-A review. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin* **36**, 1-10.
- Ferree D, Cahoon G, Ellis M, Scurlock D, Johns G.** 1996. Influence of eight rootstocks on the performance of 'White Riesling' and 'Cabernet Franc' over five years. *Fruit varieties journal* **50**.
- Fisarakis I, Chartzoulakis K, Stavrakas D.** 2001. Response of Sultana vines (*V. vinifera* L.) on six rootstocks to NaCl salinity exposure and recovery. *Agricultural water management* **51**, 13-27.
- Fournier C, Andrieu B.** 1998. A 3D architectural and process-based model of maize development. *Annals of Botany* **81**, 233-250.
- Fournier C, Andrieu B.** 1999. ADEL-maize: an L-system based model for the integration of growth processes from the organ to the canopy. Application to regulation of morphogenesis by light availability. *Agronomie* **19**, 313-327.
- Fukazawa J, Sakai T, Ishida S, Yamaguchi I, Kamiya Y, Takahashi Y.** 2000. Repression of shoot growth, a bZIP transcriptional activator, regulates cell elongation by controlling the level of gibberellins. *The Plant Cell Online* **12**, 901-915.
- Gabrielle B, Denoroy P, Gosse G, Justes E, Andersen MN.** 1998. Development and evaluation of a CERES-type model for winter oilseed rape. *Field Crops Research* **57**, 95-111.
- Galet P.** 1998. *Grape varieties and rootstock varieties*. Chaintre, France.: Oenoplurimedia.
- Gallais A, Hirel B.** 2004. An approach to the genetics of nitrogen use efficiency in maize. *Journal of Experimental Botany* **55**, 295-306.
- Gao Y-P, Motosugi H, Sugiura A.** 1992. Rootstock effects on growth and flowering in young apple trees grown with ammonium and nitrate nitrogen. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **117**, 446-452.
- Gawel RR, Ewart AJW, Ciriaco R.** 2000. Effect of root stock on must and wine composition and the sensory properties of Cabernet Sauvignon grown at Langhorne Creek, South Australia.
- GCL Développement Durable.** 2010. Etat, perspectives et enjeux du marché des engrais. In: Pêche MdlAdlAedl, ed.
- Geiger M, Haake V, Ludewig F, Sonnewald U, Stitt M.** 1999. The nitrate and ammonium nitrate supply have a major influence on the response of photosynthesis, carbon metabolism, nitrogen metabolism and growth to elevated carbon dioxide in tobacco. *Plant Cell and Environment* **22**, 1177-1199.
- Génard M, Pagès L, Kervella J.** 1998. A carbon balance model of peach tree growth and development for studying the pruning response. *Tree Physiology* **18**, 351-362.
- Gibberd MR, Walker RR, Condon AG.** 2003. Whole-plant transpiration efficiency of Sultana grapevine grown under saline conditions is increased through the use of a Cl⁻-excluding rootstock. *Functional Plant Biology* **30**, 643-652.
- Glass AD, Britto DT, Kaiser BN, Kinghorn JR, Kronzucker HJ, Kumar A, Okamoto M, Rawat S, Siddiqi M, Unkles SE.** 2002. The regulation of nitrate and ammonium transport systems in plants. *Journal of Experimental Botany* **53**, 855-864.
- Glass ADM, Siddiqi MY, Ruth TJ, Rufty TW.** 1990. Studies of the uptake of nitrate in barley .2. Energetics. *Plant Physiology* **93**, 1585-1589.
- Gojon A, Nacry P, Davidian J-C.** 2009. Root uptake regulation: a central process for NPS homeostasis in plants. *Current Opinion in Plant Biology* **12**, 328-338.
- Goldschmidt EE, Huber SC.** 1992. Regulation of photosynthesis by end-product accumulation in leaves of plants storing starch, sucrose, and hexose sugars. *Plant Physiology* **99**, 1443-1448.
- Goutouly J.** 2011. L'azote chez la vigne : dynamique des besoins, de l'assimilation, du stockage et de la redistribution vers les fruits. In: IFV, ed. *Dynamiques de l'azote*. Toulouse.

- Grant RS, Matthews MA.** 1996a. The influence of phosphorus availability and rootstock on root system characteristics, phosphorus uptake, phosphorus partitioning, and growth efficiency. *American Journal of Enology and Viticulture* **47**, 403-409.
- Grant RS, Matthews MA.** 1996b. The influence of phosphorus availability, scion, and rootstock on grapevine shoot growth, leaf area, and petiole phosphorus concentration. *American Journal of Enology and Viticulture* **47**, 217-224.
- Grechi I, Vivin P, Hilbert G, Milin S, Robert T, Gaudillère JP.** 2007. Effect of light and nitrogen supply on internal C:N balance and control of root-to-shoot biomass allocation in grapevine. *Environmental and Experimental Botany* **59**, 139-149.
- Gregerson RG, Miller SS, Twary SN, Gantt JS, Vance CP.** 1993. Molecular characterization of NADH-dependent glutamate synthase from alfalfa nodules. *The Plant Cell Online* **5**, 215-226.
- Gregory PJ, Atkinson CJ, Bengough AG, Else MA, Fernandez-Fernandez F, Harrison RJ, Schmidt S.** 2013. Contributions of roots and rootstocks to sustainable, intensified crop production. *Journal of Experimental Botany*.
- Guingo E, Hébert Y, Charcosset A.** 1998. Genetic analysis of root traits in maize. *Agronomie* **18**, 225-235.
- Guo S, Zhou Y, Shen Q, Zhang F.** 2007. Effect of Ammonium and Nitrate Nutrition On Some Physiological Processes in Higher Plants - Growth, Photosynthesis, Photorespiration, and Water Relations. *Plant Biology* **9**, 21-29.
- Hall A, Jones G.** 2009. Effect of potential atmospheric warming on temperature-based indices describing Australian winegrape growing conditions. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **15**, 97-119.
- Han Y, Wang Y, Jiang HAO, Wang M, Korpelainen H, Li C.** 2013. Reciprocal grafting separates the roles of the root and shoot in sex-related drought responses in *Populus cathayana* males and females. *Plant, Cell & Environment* **36**, 356-364.
- Hayakawa T, Yamaya T, Kamachi K, Ojima K.** 1992. Purification, characterization, and immunological properties of NADH-dependent glutamate synthase from rice cell cultures. *Plant Physiology* **98**, 1317-1322.
- Hellmann H, Funck D, Rentsch D, Frommer WB.** 2000. Hypersensitivity of an Arabidopsis sugar signaling mutant toward exogenous proline application. *Plant Physiology* **122**, 357-368.
- Hermans C, Hammond JP, White PJ, Verbruggen N.** 2006. How do plants respond to nutrient shortage by biomass allocation? *Trends in Plant Science* **11**, 610-617.
- Hilbert G, Soyer J, Molot C, Giraudon J, Milin S, Gaudillere J.** 2003. Effects of nitrogen supply on must quality and anthocyanin accumulation in berries of cv. Merlot. *Vitis* **42**, 69-76.
- Hirel B, Le Gouis J, Ney B, Gallais A.** 2007. The challenge of improving nitrogen use efficiency in crop plants: towards a more central role for genetic variability and quantitative genetics within integrated approaches. *Journal of Experimental Botany* **58**, 2369-2387.
- Hodge A.** 2009. Root decisions. *Plant, Cell & Environment* **32**, 628-640.
- Hodges M.** 2002. Enzyme redundancy and the importance of 2-oxoglutarate in plant ammonium assimilation. *Journal of Experimental Botany* **53**, 905-916.
- Howell GS, Rom RC, Carlson RF.** 1987. *Vitis rootstocks in : Rootstocks for fruit crops*: John Wiley & Sons.
- Iaconoa F, Buccellaa A, Peterlungerb E.** 1998. Water stress and rootstock influence on leaf gas exchange of grafted and ungrafted grapevines. *Scientia Horticulturae* **75**, 27-39.
- Jackson D, Lombard P.** 1993. Environmental and management practices affecting grape composition and wine quality. A review. *American Journal of Enology and Viticulture* **44**, 409-430.
- Jamieson PD, Semenov MA, Brooking IR, Francis GS.** 1998. Sirius: a mechanistic model of wheat response to environmental variation. *European Journal of Agronomy* **8**, 161-179.
- Jeuffroy M, Ney B, Ourry A.** 2002. Integrated physiological and agronomic modelling of N capture and use within the plant. *Journal of Experimental Botany* **53**, 809-823.
- Jones J, Hesketh J, Kamprath E, Bowen H.** 1974. Development of a nitrogen balance for cotton growth models: a first approximation. *Crop Science* **14**, 541-546.

- Jones TH, Cullis BR, Clingeleffer PR, Rühl EH.** 2009. Effects of novel hybrid and traditional rootstocks on vigour and yield components of Shiraz grapevines. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **15**, 284-292.
- Jordan M-O, Wendler R, Millard P.** 2012. Autumnal N storage determines the spring growth, N uptake and N internal cycling of young peach trees. *Trees* **26**, 393-404.
- Jourdan C, Rey H.** 1997. Modelling and simulation of the architecture and development of the oil-palm (*Elaeis guineensis* Jacq) root system .1. The model. *Plant and Soil* **190**, 217-233.
- Kant S, Peng M, Rothstein SJ.** 2011. Genetic regulation by NLA and microRNA827 for maintaining nitrate-dependent phosphate homeostasis in Arabidopsis. *Plos Genetics* **7**, e1002021.
- Keller M.** 2010. *The science of grapevines: anatomy and physiology*: Academic Press/Elsevier.
- Keller M, Arnink KJ, Hrazdina G.** 1998. Interaction of nitrogen availability during bloom and light intensity during veraison. I. Effects on grapevine growth, fruit development, and ripening. *American Journal of Enology and Viticulture* **49**, 333-340.
- Keller M, Koblet W.** 1995. Dry matter and leaf area partitioning, bud fertility and second season growth of *Vitis vinifera* L.: Responses to nitrogen supply and limiting irradiance. *Vitis* **34**, 77-83.
- Keller M, Kummer M, Vasconcelos MC.** 2001. Soil nitrogen utilisation for growth and gas exchange by grapevines in response to nitrogen supply and rootstock. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **7**, 2-11.
- Kennedy A, Rowe R, Samuelson T.** 1980. The effects of apple rootstock genotypes on mineral content of scion leaves. *Euphytica*, 477-482.
- Kishor PK, Sangam S, Amrutha R, Laxmi PS, Naidu K, Rao K, Rao S, Reddy K, Theriappan P, Sreenivasulu N.** 2005. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. *Curr Sci* **88**, 424-438.
- Kliwer WM, Dokoozlian NK.** 2005. Leaf Area/Crop Weight Ratios of Grapevines: Influence on Fruit Composition and Wine Quality. *Am. J. Enol. Vitic.* **56**.
- Koblet W, Candolfi-Vasconcelos MC, Zweifel W, Howell GS.** 1994. Influence of leaf removal, rootstock, and training system on yield and fruit composition of Pinot noir grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture* **45**, 181-187.
- Kraiser T, Gras DE, Gutierrez AG, Gonzalez B, Gutierrez RA.** 2011. A holistic view of nitrogen acquisition in plants. *Journal of Experimental Botany* **62**, 1455-1466.
- Kubota N, Li X, Yasui K.** 1993. Effects of rootstocks on sugar, organic acid, amino acid, and anthocyanin contents in berries of potted. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* **62**.
- Kumar V, Yadav D, Yadav D.** 1990. Effects of nitrogen sources and copper levels on yield, nitrogen and copper contents of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant and Soil* **126**, 79-83.
- Kutman UB, Yildiz B, Cakmak I.** 2010. Effect of nitrogen on uptake, remobilization and partitioning of zinc and iron throughout the development of durum wheat. *Plant and Soil* **342**, 149-164.
- Lacointe A.** 2000. Carbon allocation among tree organs: A review of basic processes and representation in functional-structural tree models. *Annals of Forest Science* **57**, 521-533.
- Lalonde S, Wipf D, Frommer WB.** 2004. Transport mechanisms for organic forms of carbon and nitrogen between source and sink. *Annu. Rev. Plant Biol.* **55**, 341-372.
- Laperche A, Brancourt-Hulmel M, Heumez E, Gardet O, Hanocq E, Devienne-Barret F, Le Gouis J.** 2007. Using genotypex nitrogen interaction variables to evaluate the QTL involved in wheat tolerance to nitrogen constraints. *Theoretical and Applied Genetics* **115**, 399-415.
- Lattanzi FA, Schnyder H, Thornton B.** 2005. The sources of carbon and nitrogen supplying leaf growth. Assessment of the role of stores with compartmental models. *Plant Physiology* **137**, 383-395.
- Lawlor DW.** 2002. Carbon and nitrogen assimilation in relation to yield: mechanisms are the key to understanding production systems. *Journal of Experimental Botany* **53**, 773-787.
- Lea-Cox J, Syvertsen J.** 2001. Springtime 15Nitrogen Uptake, Partitioning, and Leaching Losses from Young Bearing Citrus Trees of Differing Nitrogen Status. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* **126**, 242-251.
- Lea P, Blackwell R, Chen F, Hecht U.** 1990. Enzymes of ammonia assimilation. *Methods in plant biochemistry* **3**, 257-276.

- Lea PJ, Ireland RJ.** 1999. *Nitrogen metabolism in higher plants*: New York: Marcel Dekker, Inc.
- Lejay L, Tillard P, Lepetit M, Olive FD, Filleur S, Daniel-Vedele F, Gojon A.** 1999. Molecular and functional regulation of two NO₃⁻ uptake systems by N- and C-status of Arabidopsis plants. *Plant Journal* **18**, 509-519.
- Lemaire G, Millard P.** 1999. An ecophysiological approach to modelling resource fluxes in competing plants. *Journal of Experimental Botany* **50**, 15-28.
- Lemaître T, Gaufichon L, Boutet-Mercey S, Christ A, Masclaux-Daubresse C.** 2008. Enzymatic and metabolic diagnostic of nitrogen deficiency in Arabidopsis thaliana Wassileskija accession. *Plant and Cell Physiology* **49**, 1056-1065.
- Li H, Li M, Luo J, Cao X, Qu L, Gai Y, Jiang X, Liu T, Bai H, Janz D, Polle A, Peng C, Luo Z-B.** 2012. N-fertilization has different effects on the growth, carbon and nitrogen physiology, and wood properties of slow- and fast-growing Populus species. *Journal of Experimental Botany* **63**, 6173-6185.
- Li Y, Hagen G, Guilfoyle TJ.** 1992. Altered morphology in transgenic tobacco plants that overproduce cytokinins in specific tissues and organs. *Developmental biology* **153**, 386-395.
- Lipe W, Perry R.** 1988. Effects of rootstocks on wine grape scion vigor, yield, and juice quality. *Hortscience* **23**, 317-321.
- Liu KH, Tsay YF.** 2003. Switching between the two action modes of the dual-affinity nitrate transporter CHL1 by phosphorylation. *The EMBO journal* **22**, 1005-1013.
- Liu TY, Chang CY, Chiou TJ.** 2009. The long-distance signaling of mineral macronutrients. *Current Opinion in Plant Biology* **12**, 312-319.
- Llácer JL, Fita I, Rubio V.** 2008. Arginine and nitrogen storage. *Current opinion in structural biology* **18**, 673-681.
- Loqué D, Tillard P, Gojon A, Lepetit M.** 2003. Gene expression of the NO₃⁻-transporter NRT1. 1 and the nitrate reductase NIA1 is repressed in Arabidopsis roots by NO₂⁻, the product of NO₃⁻-reduction. *Plant Physiology* **132**, 958-967.
- Louarn G, Lecoœur J, Lebon E.** 2008. A three-dimensional statistical reconstruction model of grapevine (Vitis vinifera) simulating canopy structure variability within and between cultivar/training system pairs. *Annals of Botany* **101**, 1167-1184.
- Loulakakis K, Morot-Gaudry J, Velanis C, Skopelitis D, Moschou P, Hirel B, Roubelakis-Angelakis K.** 2009. Advancements in nitrogen metabolism in grapevine. *Grapevine Molecular Physiology & Biotechnology*, 161-205.
- Loulakakis K, Roubelakis-Angelakis K.** 2001. Nitrogen assimilation in grapevine. *Molecular Biology & Biotechnology of the Grapevine*: Springer, 59-85.
- Main G, Morris J, Striegler K.** 2002. Rootstock Effects on Chardonnay Productivity, Fruit, and Wine Composition. *Am. J. Enol. Vitic.* **53**.
- Malagoli P.** 2004. Modeling Nitrogen Uptake in Oilseed Rape cv Capitol during a Growth Cycle Using Influx Kinetics of Root Nitrate Transport Systems and Field Experimental Data. *Plant Physiology* **134**, 388-400.
- Mao Z, Shen X, Guo L, Hu Y, Zhang X, Shu H.** 2008. Fertility Level Affects Apple Rootstock Structure and Root: Shoot Ratio. *IX International Symposium on Integrating Canopy, Rootstock and Environmental Physiology in Orchard Systems* **903**, 909-913.
- Marschner H, Kirkby E, Cakmak I.** 1996. Effect of mineral nutritional status on shoot-root partitioning of photoassimilates and cycling of mineral nutrients. *Journal of Experimental Botany* **47**, 1255-1263.
- Marschner H, Marschner P.** 2011. *Marschner's mineral nutrition of higher plants*: Elsevier.
- Martin P, Delgado R, González M, Gallegos J.** 2003. Colour of "tempranillo" grapes as affected by different nitrogen and potassium fertilization rates. *I International Symposium on Grapevine Growing, Commerce and Research* **652**, 153-160.
- Martre P, Jamieson PD, Semenov MA, Zyskowski RF, Porter JR, Triboni E.** 2006. Modelling protein content and composition in relation to crop nitrogen dynamics for wheat. *European Journal of Agronomy* **25**, 138-154.

- Masclaux-Daubresse C, Daniel-Vedele F, Dechorgnat J, Chardon F, Gaufichon L, Suzuki A.** 2010. Nitrogen uptake, assimilation and remobilization in plants: challenges for sustainable and productive agriculture. *Annals of Botany* **105**, 1141-1157.
- May P.** 1994. *Using grapevine rootstocks: the Australian perspective.*: Winetitles.
- McCarthy M, Cirami R.** 1990. The effect of rootstocks on the performance of Chardonnay from a nematode-infested Barossa Valley vineyard. *American Journal of Enology and Viticulture* **41**, 126-130.
- McConnaughay KDM, Coleman JS.** 1999. Biomass Allocation in Plants: Ontogeny or Optimality? A Test along Three Resource Gradients. *Ecology* **80**, 2581-2593.
- Meuriot F, Decau ML, Morvan-Bertrand A, Prud'Homme MP, Gastal F, Simon JC, Volenec JJ, Avice JC.** 2005. Contribution of initial C and N reserves in *Medicago sativa* recovering from defoliation: impact of cutting height and residual leaf area. *Functional Plant Biology* **32**, 321-334.
- Millaleo R, Reyes-Díaz M, Ivanov A, Mora M, Alberdi M.** 2010. Manganese as essential and toxic element for plants: transport, accumulation and resistance mechanisms. *Journal of soil science and plant nutrition* **10**, 470-481.
- Millard P, Neilsen G.** 1989. The influence of nitrogen supply on the uptake and remobilization of stored N for the seasonal growth of apple trees. *Annals of Botany* **63**, 301-309.
- Morcuende R, Bari R, Gibon Y, Zheng W, Pant BD, Bläsing O, Usadel B, Czechowski T, Udvardi MK, Stitt M.** 2007. Genome-wide reprogramming of metabolism and regulatory networks of *Arabidopsis* in response to phosphorus. *Plant, Cell & Environment* **30**, 85-112.
- Mpelasoka BS, Schachtman DP, Treeby MT, Thomas MR.** 2003. A review of potassium nutrition in grapevines with special emphasis on berry accumulation. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **9**, 154-168.
- Mundy D.** 2008. A review of the direct and indirect effects of nitrogen on botrytis bunch rot in wine grapes. *New Zealand Plant Protection* **61**, 306-310.
- Muñoz JL, Martin L, Nicolas G, Villalobos N.** 1990. Influence of Endogenous Cytokinins on Reverse Mobilization in Cotyledons of *Cicer arietinum* L. Reproduction of Endogenous Levels of Total Cytokinins, Zeatin, Zeatin Riboside, and Their Corresponding Glucosides. *Plant Physiology* **93**, 1011-1016.
- Nacry P, Bouguyon E, Gojon A.** 2013. Nitrogen acquisition by roots: physiological and developmental mechanisms ensuring plant adaptation to a fluctuating resource. *Plant and Soil* **370**, 1-29.
- Nagarajah S.** 1987. Effects of soil texture on the rooting patterns of Thompson Seedless vines on own roots and on Ramsey rootstock in irrigated vineyards. *American Journal of Enology and Viticulture* **38**, 54-59.
- Nanda K, Purohit A.** 1965. Effect of gibberellin on mobilization of reserve food and its co-relation with extension growth. *Planta* **66**, 121-125.
- Nikolic M, Cesco S, Roemheld V, Varanini Z, Pinton R.** 2007. Short-term interactions between nitrate and iron nutrition in cucumber. *Functional Plant Biology* **34**, 402-408.
- Nunes-Nesi A, Fernie AR, Stitt M.** 2010. Metabolic and Signaling Aspects Underpinning the Regulation of Plant Carbon Nitrogen Interactions. *Molecular Plant* **3**, 973-996.
- Okamoto M, Vidmar JJ, Glass AD.** 2003. Regulation of NRT1 and NRT2 gene families of *Arabidopsis thaliana*: responses to nitrate provision. *Plant and Cell Physiology* **44**, 304-317.
- Ollat N, Tandonnet JP, Lafontaine M, Schultz HR.** 2003. Short and long term effects of three rootstocks on cabernet sauvignon vine behaviour and wine quality. In: Ruhl EH, Schmid J, eds. *Proceedings of the Workshop on Rootstocks' Performance in Phylloxera Infested Vineyards*, 95-99.
- Orsel M, Filleur S, Fraisier V, Daniel-Vedele F.** 2002a. Nitrate transport in plants: which gene and which control? *Journal of Experimental Botany* **53**, 825-833.
- Orsel M, Krapp A, Daniel-Vedele F.** 2002b. Analysis of the NRT2 nitrate transporter family in *Arabidopsis*. Structure and gene expression. *Plant Physiology* **129**, 886-896.
- Ough C, Lider L, Cook J.** 1968. Rootstock-scion interactions concerning wine making. I. Juice composition changes and effects on fermentation rate with St. George and 99-R rootstocks at two nitrogen fertilizer levels. *American Journal of Enology and Viticulture* **19**, 213-227.

- Owuor PO, Cheruiyot DKA.** 1989. Effects of nitrogen fertilizers on the aluminum contents of mature tea leaf and extractable aluminum in the soil. *Plant and Soil* **119**, 342-345.
- Padgett-Johnson M, Williams L, Walker MA.** 2000. The influence of *Vitis riparia* rootstock on water relations and gas exchange of *Vitis vinifera* cv. Carignane scion under non-irrigated conditions. *American Journal of Enology and Viticulture* **51**, 137-143.
- Pagès L, Jordan M-O, Picard D.** 1989. A simulation model of the three-dimensional architecture of the maize root system. *Plant and Soil* **119**, 147-154.
- Pallas B.** 2009. Modélisation dynamique des interactions plante-environnement. Application à l'étude des interactions entre les relations sources-puits et les processus de développement chez la vigne, Ecole Centrale Paris.
- Pallas B, Christophe A, Cournède PH, Lecoeur J.** 2009. Using a mathematical model to evaluate the trophic and non-trophic determinants of axis development in grapevine. *Functional Plant Biology* **36**, 156-170.
- Pallas B, Loi C, Christophe A, Cournède PH, Lecoeur J.** 2011. Comparison of three approaches to model grapevine organogenesis in conditions of fluctuating temperature, solar radiation and soil water content. *Annals of Botany* **107**, 729-745.
- Paul MJ, Pellny TK.** 2003. Carbon metabolite feedback regulation of leaf photosynthesis and development. *Journal of Experimental Botany* **54**, 539-547.
- Perttunen J, Sievanen R, Nikinmaa E.** 1998. LIGNUM: a model combining the structure and the functioning of trees. *Ecological Modelling* **108**, 189-198.
- Peyrot des Gachons C, Van Leeuwen C, Tominaga T, Soyer JP, Gaudillère JP, Dubourdieu D.** 2005. Influence of water and nitrogen deficit on fruit ripening and aroma potential of *Vitis vinifera* L cv Sauvignon blanc in field conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **85**, 73-85.
- Poorter H, Niklas KJ, Reich PB, Oleksyn J, Poot P, Mommer L.** 2012. Biomass allocation to leaves, stems and roots: meta-analyses of interspecific variation and environmental control. *New Phytologist* **193**, 30-50.
- Pritchard SL, Charlton WL, Baker A, Graham IA.** 2002. Germination and storage reserve mobilization are regulated independently in *Arabidopsis*. *The Plant Journal* **31**, 639-647.
- R Development Core Team.** 2005. R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.*
- Reynolds AG, Wardle DA.** 2001. Rootstocks impact vine performance and fruit composition of grapes in British Columbia. *HortTechnology* **11**, 419-427.
- Richard-Molard C, Krapp A, Brun F, Ney B, Daniel-Vedele F, Chaillou S.** 2008. Plant response to nitrate starvation is determined by N storage capacity matched by nitrate uptake capacity in two *Arabidopsis* genotypes. *Journal of Experimental Botany* **59**, 779-791.
- Rodriguez-Lovelie B, Gaudillere JP.** 2002. Carbon and nitrogen partitioning in either fruiting or non-fruiting grapevines: effects of nitrogen limitation before and after veraison. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **8**, 86-94.
- Rossdeutsch L.** 2012. Rôle du porte-greffe dans la réponse de la Vigne à la contrainte azotée - Aspects moléculaires, Université de Bordeaux Segalen.
- Roubelakis-Angelakis KA, Kliewer WM.** 1992. Nitrogen metabolism in grapevine. *Horticultural Reviews* **14**, 407-452.
- Rufty TW, Huber SC, Volk RJ.** 1988. Alterations in leaf carbohydrate metabolism in response to nitrogen stress. *Plant Physiology* **88**, 725-730.
- Ruhl E, Fuda A, Treeby M.** 1992. Effect of potassium, magnesium and nitrogen supply on grape juice composition of Riesling, Chardonnay and Cabernet Sauvignon vines. *Animal Production Science* **32**, 645-649.
- Ruhl EH.** 1992. Effect of K-supply and relative-humidity on ion uptake and distribution on 2 grapevine rootstock varieties. *Vitis* **31**, 23-33.
- Ruiz J, Baghour M, Bretones G, Belakbir A, Romero L.** 1998. Nitrogen metabolism in tobacco plants (*Nicotiana tabacum* L.): role of boron as a possible regulatory factor. *International journal of plant sciences*, 121-126.

- Sakakibara H, Takei K, Hirose N.** 2006. Interactions between nitrogen and cytokinin in the regulation of metabolism and development. *Trends in Plant Science* **11**, 440-448.
- Sampaio.** 2007. Using Rootstocks to Manipulate Vine Physiological Performance and Mediate Changes in Fruit and Wine Composition, Oregon State University.
- Schachtman DP, Shin R.** 2007. Nutrient Sensing and Signaling: NPKS. *Annual Review of Plant Biology* **58**, 47-69.
- Scheible WR, GonzalezFontes A, Lauerer M, MullerRober B, Caboche M, Stitt M.** 1997a. Nitrate acts as a signal to induce organic acid metabolism and repress starch metabolism in tobacco. *Plant Cell* **9**, 783-798.
- Scheible WR, Lauerer M, Schulze ED, Caboche M, Stitt M.** 1997b. Accumulation of nitrate in the shoot acts as a signal to regulate shoot-root allocation in tobacco. *Plant Journal* **11**, 671-691.
- Schiltz S, Munier-Jolain N, Jeudy C, Burstin J, Salon C.** 2005. Dynamics of exogenous nitrogen partitioning and nitrogen remobilization from vegetative organs in pea revealed by N-15 in vivo labeling throughout seed filling. *Plant Physiology* **137**, 1463-1473.
- Schluter U, Mascher M, Colmsee C, Scholz U, Brautigam A, Fahnenstich H, Sonnewald U.** 2012. Maize source leaf adaptation to nitrogen deficiency affects not only nitrogen and carbon metabolism but also control of phosphate homeostasis. *Plant Physiology* **160**, 1384-1406.
- Schreiner RP, Lee J, Skinkis PA.** 2013. N, P, and K Supply to Pinot noir grapevines: Impact on vine nutrient status, growth, physiology, and yield. *American Journal of Enology and Viticulture* **64**, 26-38.
- Schreiner RP, Scagel CF, Baham J.** 2006. Nutrient uptake and distribution in a mature 'Pinot noir' vineyard. *Hortscience* **41**, 336-345.
- Sechley KA.** 1992. Compartmentation of Nitrogen assimilation in Higher Plants. In: press A, ed. *Compartmentation of Nitrogen assimilation in Higher Plants*, Vol. 134, 85-163.
- Segura R, Ameline A.** 2009. Elaboration d'un dispositif d'arrosage automatique type goutte à goutte pour comparer deux solutions nutritives. *Cahiers Techniques de l'Inra* **66**, 13-20.
- Shiple B, Meziane D.** 2002. The balanced-growth hypothesis and the allometry of leaf and root biomass allocation. *Functional Ecology* **16**, 326-331.
- Siddiqi MY, Glass ADM, Ruth TJ, Rufty TW.** 1990. Studies of the uptake of nitrate in barley .1. Kinetics of NO₃- influx. *Plant Physiology* **93**, 1426-1432.
- Signora L, De Smet I, Foyer CH, Zhang H.** 2001. ABA plays a central role in mediating the regulatory effects of nitrate on root branching in Arabidopsis. *The Plant Journal* **28**, 655-662.
- Smart DR, Schwass E, Lakso A, Morano L.** 2006. Grapevine rooting patterns: A comprehensive analysis and a review. *American Journal of Enology and Viticulture* **57**, 89-104.
- Smith JP.** 2004. Investigations into the mechanisms underlying grapevine rootstock effects on scion vigour and yield *PhD Thesis, Charles Stuart University, Wagga Wagga, NSW, Australia*, 196.
- Smith PF, Reuther W, Specht AW.** 1949. The influence of rootstock on the mineral composition of valencia orange leaves. *Plant Physiology* **24**, 455-461.
- Smolders A, Hendriks R, Campschreur H, Roelofs J.** 1997. Nitrate induced iron deficiency chlorosis in *Juncus acutiflorus*. *Plant and Soil* **196**, 37-45.
- Soar CJ, Dry PR, Loveys BR.** 2006. Scion photosynthesis and leaf gas exchange in *Vitis vinifera* L. cv. Shiraz: Mediation of rootstock effects via xylem sap ABA. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **12**, 82-96.
- Southey J, Archer E.** 1988. The effect of rootstock cultivar on grapevine root distribution and density. *The grapevine root and its environment*, 57.
- Stefanelli D, Goodwin I, Jones R.** 2010. Minimal nitrogen and water use in horticulture: Effects on quality and content of selected nutrients. *Food Research International* **43**, 1833-1843.
- Stitt M.** 1999. Nitrate regulation of metabolism and growth. *Current Opinion in Plant Biology* **2**, 178-186.
- Stitt M, Zeeman SC.** 2012. Starch turnover: pathways, regulation and role in growth. *Current Opinion in Plant Biology* **15**, 282-292.
- Stockert CM, Bisson LF, Adams DO, Smart DR.** 2013. Nitrogen Status and Fermentation Dynamics for Merlot on Two Rootstocks. *American Journal of Enology and Viticulture* **64**, 195-202.

- Sulpice R, Pyl E-T, Ishihara H, Trenkamp S, Steinfath M, Witucka-Wall H, Gibon Y, Usadel B, Poree F, Piques MC.** 2009. Starch as a major integrator in the regulation of plant growth. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **106**, 10348-10353.
- Suzuki A, Knaff DB.** 2005. Glutamate synthase: structural, mechanistic and regulatory properties, and role in the amino acid metabolism. *Photosynthesis Research* **83**, 191-217.
- Suzuki A, Vidal J, Gadal P.** 1982. Glutamate synthase isoforms in rice immunological studies of enzymes in green leaf, etiolated leaf, and root tissues. *Plant Physiology* **70**, 827-832.
- Tabourel-Tayot F, Gastal F.** 1998. MecaNiCAL, a supply-demand model of carbon and nitrogen partitioning applied to defoliated grass 1. Model description and analysis. *European Journal of Agronomy* **9**, 223-241.
- Takei K, Takahashi T, Sugiyama T, Yamaya T, Sakakibara H.** 2002. Multiple routes communicating nitrogen availability from roots to shoots: a signal transduction pathway mediated by cytokinin. *Journal of Experimental Botany* **53**, 971-977.
- Tandonnet JP, Cookson SJ, Vivin P, Ollat N.** 2010. Scion genotype controls biomass allocation and root development in grafted grapevine. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **16**, 290-300.
- Tangolar S, Ergenoglu F.** 1989. The effects of different rootstocks on the levels of mineral elements in the leaves and the carbohydrate contents of the canes of some early maturing grape cultivars. *Doga, Turk Tarim ve Ormancilik Dergisi* **13**, 1267-1283.
- Tardieu F, Parent B, Simonneau T.** 2010. Control of leaf growth by abscisic acid: hydraulic or non-hydraulic processes? *Plant, Cell & Environment* **33**, 636-647.
- Thornley JH.** 1976. *Mathematical models in plant physiology*: Academic Press (Inc.) London, Ltd.
- Thornley JHM.** 1998. Dynamic model of leaf photosynthesis with acclimation to light and nitrogen. *Annals of Botany* **81**, 421-430.
- Tillard P, Passama L, Gojon A.** 1998. Are phloem amino acids involved in the shoot to root control of NO₃- uptake in *Ricinus communis* plants? *Journal of Experimental Botany* **49**, 1371-1379.
- Tonini PP, Purgatto E, Buckeridge MS.** 2010. Effects of abscisic acid, ethylene and sugars on the mobilization of storage proteins and carbohydrates in seeds of the tropical tree *Sesbania virgata* (Leguminosae). *Annals of Botany* **106**, 607-616.
- Touraine B, Daniel-Vedele F, Forde BG.** 2001. Nitrate uptake and its regulation. *Plant nitrogen*: Springer, 1-36.
- Treeby M, Holzapfel B, Pickering G, Friedrich C.** 1998. Vineyard nitrogen supply and Shiraz grape and wine quality. *XXV International Horticultural Congress, Part 2: Mineral Nutrition and Grape and Wine Quality* **512**, 77-92.
- Tromp J.** 1983. Nutrient reserves in roots of fruit trees, in particular carbohydrates and nitrogen. *Tree root systems and their mycorrhizas*: Springer, 401-413.
- Tsay YF, Chiu CC, Tsai CB, Ho CH, Hsu PK.** 2007. Nitrate transporters and peptide transporters. *FEBS letters* **581**, 2290-2300.
- Tschoep H, Gibon Y, Carillo P, Armengaud P, Szczowka M, Nunes-Nesi A, Fernie AR, Koehl K, Stitt M.** 2009. Adjustment of growth and central metabolism to a mild but sustained nitrogen-limitation in *Arabidopsis*. *Plant, Cell & Environment* **32**, 300-318.
- Turnbull C, Booker JP, Leyser OH.** 2002. Micrografting techniques for testing long-distance signalling in *Arabidopsis*. *The Plant Journal* **32**, 255-262.
- Urbanczyk-Wochniak E, Fernie AR.** 2005. Metabolic profiling reveals altered nitrogen nutrient regimes have diverse effects on the metabolism of hydroponically-grown tomato (*Solanum lycopersicum*) plants. *Journal of Experimental Botany* **56**, 309-321.
- Venema JH, Dijk BE, Bax JM, van Hasselt PR, Elzenga JTM.** 2008. Grafting tomato (*Solanum lycopersicum*) onto the rootstock of a high-altitude accession of *Solanum habrochaites* improves suboptimal-temperature tolerance. *Environmental and Experimental Botany* **63**, 359-367.
- Vidal EA, Araus V, Lu C, Parry G, Green PJ, Coruzzi GM, Gutierrez RA.** 2010. Nitrate-responsive miR393/AFB3 regulatory module controls root system architecture in *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **107**, 4477-4482.

- Vivin P, Castelan M, Gaudillère J.** 2001. A source/sink model to simulate seasonal allocation of carbon in grapevine. *VI International Symposium on Computer Modelling in Fruit Research and Orchard Management* **584**, 43-56.
- Volder A, Smart DR, Bloom AJ, Eissenstat DM.** 2004. Rapid decline in nitrate uptake and respiration with age in fine lateral roots of grape: implications for root efficiency and competitive effectiveness. *New Phytologist* **165**, 493-502.
- von Wirén N, Gazzarrini S, Gojont A, Frommer WB.** 2000. The molecular physiology of ammonium uptake and retrieval. *Current Opinion in Plant Biology* **3**, 254-261.
- Walker R, Clingeleffer P, Kerridge G, Rühl E, Nicholas P, Blackmore D.** 1998. Effects of the rootstock Ramsey (*Vitis champini*) on ion and organic acid composition of grapes and wine, and on wine spectral characteristics. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **4**, 100-110.
- Wang R, Xing X, Wang Y, Tran A, Crawford NM.** 2009. A genetic screen for nitrate regulatory mutants captures the nitrate transporter gene NRT1.1. *Plant Physiology* **151**, 472-478.
- Wang YY, Hsu PK, Tsay YF.** 2012. Uptake, allocation and signaling of nitrate. *Trends in Plant Science* **17**, 458-467.
- Watts S, Rodriguez J, Evans SE, Davies W.** 1981. Root and shoot growth of plants treated with abscisic acid. *Annals of Botany* **47**, 595-602.
- Webb L, Whetton P, Barlow E.** 2007. Modelled impact of future climate change on the phenology of winegrapes in Australia. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **13**, 165-175.
- Wermelinger B.** 1991. Nitrogen dynamics in grapevine physiology and modelling. *International Symposium of Nitrogen in Grape and Wine*. Seattle, USA, 23-31.
- Werner T, Motyka V, Strnad M, Schmülling T.** 2001. Regulation of plant growth by cytokinin. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **98**, 10487-10492.
- Wilkinson S, Bacon MA, Davies WJ.** 2007. Nitrate signalling to stomata and growing leaves: interactions with soil drying, ABA, and xylem sap pH in maize. *Journal of Experimental Botany* **58**, 1705-1716.
- Williams L, Salt DE.** 2009. The plant ionome coming into focus. *Current Opinion in Plant Biology* **12**, 247-249.
- Wooldridge J, Louw PJE, Conradie WJ.** 2010. Effects of Rootstock on Grapevine Performance, Petiole and Must Composition, and Overall Wine Score of *Vitis vinifera* cv. Chardonnay and Pinot noir. *South African Journal of Enology and Viticulture* **31**, 45-48.
- Xin J, Huang B, Yang J, Yang Z, Yuan J, Mu Y.** 2013. Role of roots in cadmium accumulation of two water spinach cultivars: reciprocal grafting and histochemical experiments. *Plant and Soil* **366**, 425-432.
- Xu G, Fan X, Miller AJ.** 2012. Plant Nitrogen Assimilation and Use Efficiency. *Annual Review of Plant Biology* **63**, 153-182.
- Xue Y-F, Yue S-C, Zhang Y-Q, Cui Z-L, Chen X-P, Yang F-C, Cakmak I, McGrath SP, Zhang F-S, Zou C-Q.** 2012. Grain and shoot zinc accumulation in winter wheat affected by nitrogen management. *Plant and Soil* **361**, 153-163.
- Yang T, Davies PJ, Reid JB.** 1996. Genetic Dissection of the Relative Roles of Auxin and Gibberellin in the Regulation of Stem Elongation in Intact Light-Crown Peas. *Plant Physiology* **11**, 1029-1034.
- Zapata C, Deleens E, Chaillou S, Magne C.** 2004. Partitioning and mobilization of starch and N reserves in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Journal of Plant Physiology* **161**, 1031-1040.
- Zerihun A, Treeby MT.** 2002. Biomass distribution and nitrate assimilation in response to N supply for *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon on five *Vitis* rootstock genotypes. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **8**, 157-162.
- Zhang X, Walker RR, Stevens RM, Prior LD.** 2002. Yield-salinity relationships of different grapevine (*Vitis vinifera* L.) scion-rootstock combinations. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **8**, 150-156.

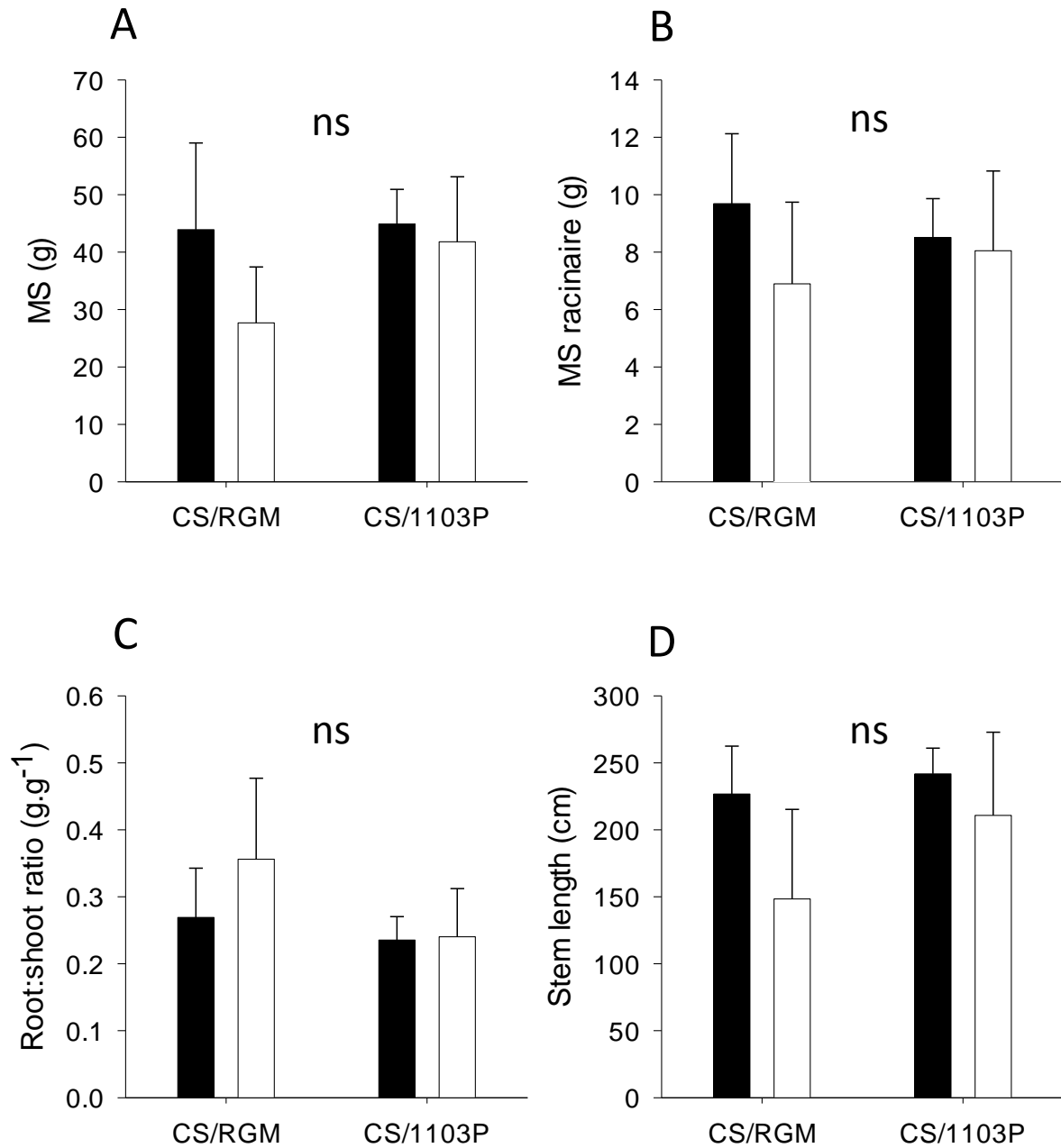


Figure annexe 1 : **A.** Biomasse sèche (g), **B.** Biomasse sèche racinaire, **C.** rapport root:shoot ($g \cdot g^{-1}$), **D.** longueur de tige en réponse à 30 jours de traitements azotés HN (noir) et 75/25 (blanc), moyennes \pm sd, n=5, ANOVA ($p > 0.05$ = ns, $p < 0.05$ = *, $p < 0.01$ = **, $p < 0.001$ = ***)

ANNEXES

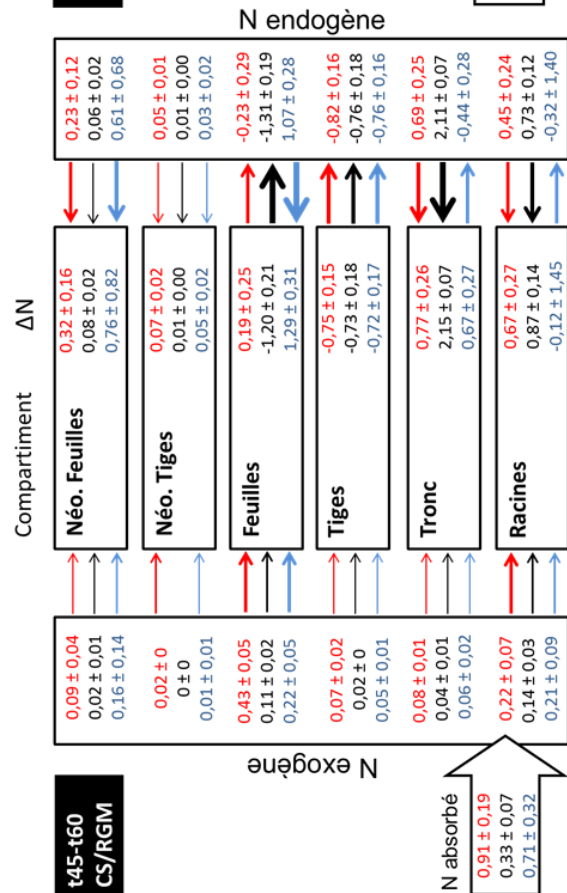
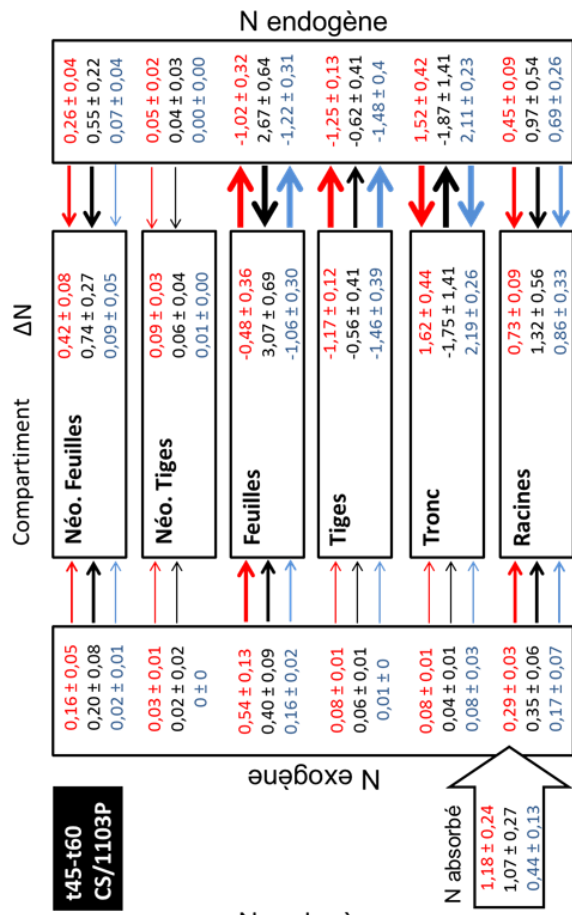
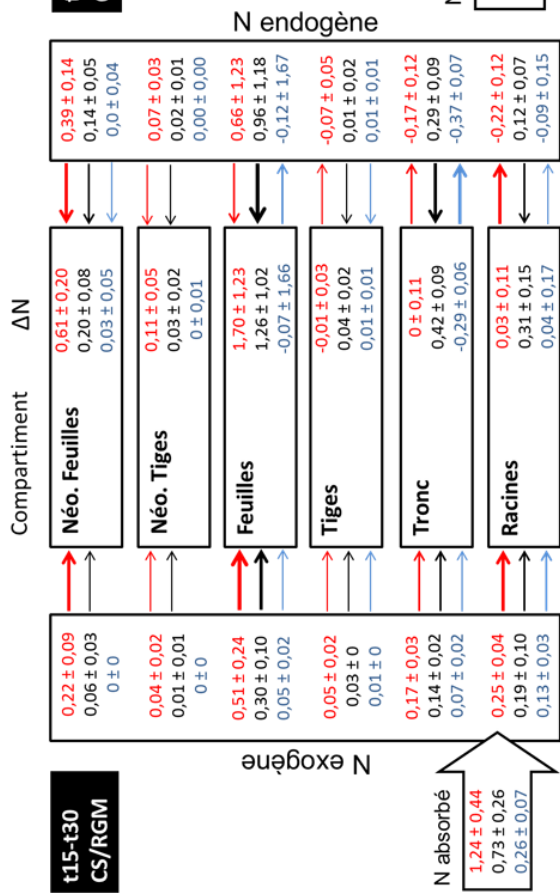
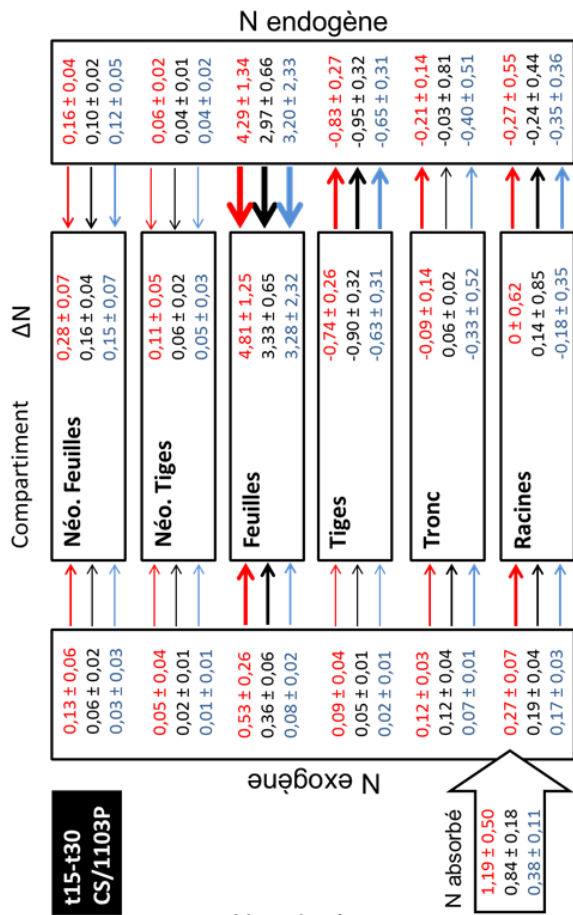
ANNEXE 1 :

IMPACT DE LA SOURCE AZOTEE, AMMONIUM ET NITRATE, SUR LA CROISSANCE DE CS/RGM ET CS/1103P

L'objectif de cette expérimentation était de vérifier que l'alimentation en N exclusivement apporté sous forme de nitrate ne favorisait pas l'un des génotypes de porte-greffe et ne biaise ainsi les résultats obtenus lors des deux expérimentations de marquage. En effet, il est connu que divers processus physiologiques tels que la photosynthèse, la croissance et la photorespiration sont modifiés en réponse à la forme d'azote apportée à la plante (ammonium, nitrate) et à leur proportion respective (Guo *et al.*, 2007). De plus, il a été montré chez la tomate (Borgognone *et al.*, 2013) et le pommier (Gao *et al.*, 1992) que le génotype du porte-greffe a un impact sur cette réponse.

L'étude de la croissance des deux combinaisons CS/1103P et CS/RGM en réponse à la solution HN (2,45mM N, 100% nitrate) utilisée dans cette thèse et la solution classiquement utilisée au laboratoire pour la culture de la vigne (2,45mM N, 75% nitrate / 25% ammonium) a été menée afin d'étudier l'effet de la proportion respective de nitrate et d'ammonium dans la solution nutritive sur la vigueur conférée par le porte-greffe. Cinq plantes par combinaison ont été cultivées et irriguées pendant 30 jours avec les 2 solutions nutritives HN et 75/25 puis récoltées. La masse sèche des racines, tronc, tiges et feuilles a été mesurée à l'issue de l'expérimentation.

A l'issue de l'expérimentation, la masse sèche des plantes, leur masse racinaire, le rapport root:shoot et la longueur des tiges n'étaient statistiquement pas modifiés par les traitements (HN et 75/25) et le génotype du porte-greffe. L'apport d'azote dans les solutions exclusivement sous forme de nitrate n'est donc pas problématique dans notre étude.



ANNEXE 2

Allocation de l'azote d'origine exogène (flèches de gauche) et la distribution de l'azote endogène remobilisé (flèches de droite), bilan de la quantité de N dans chacun des compartiments pendant les périodes t15-t30 et t45-t60 pour les deux combinaisons porte-greffe / greffon (CS/RGM et CS/1103P) et pour les trois traitements azotés (LN →, MN →, HN→). Les flux d'azote sont exprimés en mg de N par g de plante ; moyennes ± sd, n=5, l'épaisseur des flèches est proportionnelle aux flux de N

COMMUNICATIONS ORALES ET ECRITES

COMMUNICATIONS ORALES

J. LECOURT, S.J. COOKSON, V. LAUVERGEAT, N. OLLAT AND P. VIVIN: The mineral composition of grafted grapevines depends on rootstock genotype and nitrogen supply, VIth International Symposium on Phylloxera, Rootstock perspectives, Bordeaux, France

J. LECOURT, S.J. COOKSON, V. LAUVERGEAT, N. OLLAT, S. DELROT AND P. VIVIN : The role of N signalling in rootstock conferred vigour: a modelling approach, IX International Symposium on Grapevine Physiology and Biotechnology, La Serena, Chile

POSTERS

E. CLAVERIE, J. LECOURT, S.J. COOKSON, V. LAUVERGEAT, P. VIVIN : Rootstock genotype and nitrate supply modify grapevine tissues metabolic content, VIth International Symposium on Phylloxera, Rootstock perspectives, Bordeaux, France

J. LECOURT, S.J. COOKSON, V. LAUVERGEAT, N. OLLAT AND P. VIVIN : Nitrogen regulation of biomass allocation in grafted grapevine: a modelling approach, EPSO-FESPB Plant Biology Congress, Freiburg, Germany

J. LECOURT, S.J. COOKSON, V. LAUVERGEAT, N. OLLAT AND P. VIVIN : Nitrogen involvement in Genotypic determinism of rootstock conferred vigor, Health and Life Sciences Doctoral School congress, Arcachon, France

RESUME

Les recherches sur les interactions porte-greffe/greffon chez la vigne en relation avec l'environnement perdurent depuis plusieurs décennies, mais les mécanismes physiologiques sous-jacents de la vigueur conférée sont toujours incompris. Ce manque de connaissance constitue un frein dans le développement des porte-greffes existants pour contrôler la vigueur et la productivité, ou dans la recherche de nouveaux génotypes de porte-greffe mieux adaptés aux conditions futures de production.

L'objectif de ce travail est de comprendre par une approche de biologie intégrative couplant expérimentation et modélisation comment le porte-greffe interagit spécifiquement avec son greffon (et vice versa) pour modifier dès les premières étapes du greffage, les caractéristiques physiologiques de la plante entière afin de coordonner le développement et la croissance des parties aériennes avec celle des parties racinaires. L'azote étant considéré comme un élément-clé de contrôle de la croissance et de l'allocation de la biomasse au sein d'une plante, un accent particulier est porté sur le rôle de la nutrition azotée dans le contrôle trophique de la croissance du couple porte-greffe/greffon. Un travail expérimental en serre a été mené pour caractériser par marquage isotopique les flux d'azote (^{15}N) et de carbone à l'échelle de la plante entière au sein de deux combinaisons de porte-greffe/greffon au stade végétatif : l'une conférant une forte vigueur (CS/1103P), l'autre une faible vigueur (CS/RGM), en réponse à une variation de la disponibilité externe en nitrate. Cette étude sur le couplage entre fonctions d'acquisition et d'utilisation des ressources azotées et carbonées a été complétée par un phénotypage dynamique de la croissance aérienne, de la répartition de biomasse entre les organes et de la composition biochimique et minérale des principaux organes de la plante. Nous avons ainsi pu appréhender les signaux de communication entre la partie aérienne et la partie racinaire de la vigne greffée, ce qui a abouti à l'élaboration d'un modèle conceptuel simplifié du fonctionnement de la vigne greffée. Une première version d'un modèle mécaniste basé sur un formalisme source-puits prenant en compte l'acquisition et l'allocation de C et N au sein de deux compartiments aérien et racinaire, ainsi que leur plasticité vis-à-vis de la disponibilité exogène et endogène en ressources a été élaborée. A terme, le modèle devrait permettre d'identifier des paramètres génétiques clé au niveau racinaire explicitant les différences de croissance et vigueur conférée observées selon les combinaisons porte-greffe/greffon.